

*На правах рукописи*

**АБДУЛКЕРИМОВА СЕВИНДЖ ЛОГМАН КЫЗЫ**

**ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И  
ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЫБ В НАЧАЛЬНЫЕ  
СРОКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЫРОЙ НЕФТИ**

2411.01 – Физиология человека и животных

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора философии по биологии

**БАКУ – 2015**

Диссертация выполнена в лаборатории «Экотоксикология»  
Института Физиологии им.А.И.Караева НАН Азербайджана.

**Научные руководители:**

Доктор наук по биологии

Доктор наук по биологии

**Э.К.РУСТАМОВ**

**У.Ф.ГАШИМОВА**

**Официальные оппоненты:**

Доктор наук по биологии, профессор

Доктор философии по биологии, доцент

**Р.В. ГАДЖИЕВ**

**А.М.РАШИДОВА**

**Ведущая организация:**

Азербайджанский Государственный Педагогический Университет,  
кафедра «Физиология человека и животных»

Защита состоится « 26 » \_\_11\_\_ 2015 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета Д 01.051 по присуждению ученой степени доктора наук и доктора философии при Институте Физиологии им.А.И.Караева НАН Азербайджана по адресу: AZ 1100, г.Баку, ул.Шариф-заде, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института Физиологии им. А.И.Караева НАН Азербайджана.

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 г.

**Ученый секретарь**

Диссертационного Совета Д 01.051

Доктор философии по биологии

**Е.О.Байрамова**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** Увеличивающееся антропогенное загрязнение природных вод различными токсикантами, связанное с индустриализацией всех сфер деятельности человека, и его влияние на жизнеспособность водных организмов является одним из основных проблем современной экологии и физиологии (Goncalves et al., 2008, Fontainhas-Fernandes et al., 2008, Shen et al., 2012, Butchiram et al., 2013). Сырая нефть и её производные занимают ведущее место среди источников мировой энергетики (Kennedy et al., 2006, Önen et al., 2011). Расширяющаяся из года в год нефтедобыча повышает вероятность больших выбросов её в окружающую среду. Следует отметить, что при залповых выбросах нефти в результате аварийных ситуаций происходит превышение предельно допустимой концентрации нефти в 100 и более раз (Кармазин, 2010). Это приводит к серьёзным нарушениям многих функциональных систем водных организмов (Akorhwarho, 2011).

Каспийское море отличается большим числом нефтяных месторождений, играющих заметную роль в мировой индустрии. Каждая нефть в зависимости от химического состава и соотношения основных её фракций оказывает различное влияние на водные организмы, вызывая изменения в их поведенческих реакциях, на целом ряде физиологических и биохимических показателей. Следует отметить, что степень тяжести патологических изменений в органах и тканях у рыб определяется, прежде всего, токсичностью углеводородов, входящий в компонентный состав того или иного вида нефти (Ugwu et al., 2011 Самедова, 2002).

В связи с вышесказанным особое значение придаётся экотоксикологическим исследованиям по влиянию нефти и нефтепродуктов на водные организмы. В исследовательских работах многих авторов, посвящённых как острым, так и хроническим воздействиям сырой нефти и её производных, рассматривались различные критерии оценки загрязнения водной среды по изменению поведенческих, гематологических и гистологических показателей (Matsumoto et al., 2006, Hashim et al., 2010, Hedayati et al., 2012). Вместе с тем, начальные сроки воздействия сырой нефти на разные функциональные параметры рыб мало изучены, а имеющиеся данные носят отрывочный характер. Обнаружение первых симптомов интоксикации очень важно для принятия своевременных мер до

появления необратимых изменений в аквасистеме и остановки деградации среды.

Данное исследование посвящается комплексному исследованию физиологического состояния рыб в начальные сроки воздействия сырой нефти с использованием поведенческих, гематологических и гистологических биомаркеров. При этом поведенческие реакции рыб были выбраны как наиболее чувствительные и ранние индикаторы стресса (Shwetha et al., 2009, Clotfelter et al., 2004), показатели крови, как чутко реагирующие на изменения среды и отражающие патофизиологическое состояние организма (Jee et al., 2006). В качестве морфологических биомаркеров, позволяющих выявить нарушения на тканевом уровне, были выбраны изменения ткани жабр, печени и мышц. В работе проводится сравнительный анализ физиологического состояния рыб в начальные сроки воздействия сырой нефти с двух месторождений Каспийского моря «Азери» и «Нефтяные Камни», а также рассматривается динамика образования морфофункциональных изменений в зависимости от вида и концентрации сырой нефти.

**Цель и задачи исследования.** Целью работы было изучение морфофизиологических изменений в организме сазана с первых часов воздействия сырой нефти с двух месторождений Каспийского моря «Азери» и «Нефтяные Камни» и анализ развития поведенческих, гематологических и гистологических изменений в зависимости от вида нефти и её концентрации. Для осуществления данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Проследить динамику поведенческих реакций сазана при воздействии сырой нефти с месторождений Азери и Нефтяные Камни.
2. Исследовать динамику гематологических показателей сазана при воздействии сырой нефти с месторождений Азери и Нефтяные Камни.
3. Изучить гистологические изменения в ткани жабр, печени и мышц сазана при воздействии сырой нефти с месторождений Азери и Нефтяные Камни.
4. В сравнительном аспекте в зависимости от вида и концентрации сырой нефти дать оценку выявленным изменениям на всех изучаемых уровнях биомаркерной системы сазана.

**Научная новизна.** Настоящая работа является комплексным исследованием, изучающим динамику морфофункционального состояния рыб в начальные сроки воздействия сырой нефти с двух месторождений (м/р) Каспийского моря: Нефтяные Камни и Азери. Впервые в сравнительном аспекте прослеживается динамика направленности поведенческих актов, состава крови и оценивается состояние ткани жабр, печени и мышц сазана с первых часов воздействия двух видов сырой нефти. В работе показано, что с первых часов воздействия сырая нефть вызывает изменение двигательных и дыхательных реакций рыб. Под воздействием сырой нефти у рыб наблюдаются беспокойные хаотичные движения, броски, поверхностное плавание, заглатывание воздуха, потеря равновесия и нарушение пищевой поведенческой реакции. Изучение количественного состава крови сазана показало, что в зависимости от воздействующего вида нефти динамика направленности сдвигов в показателях крови может иметь как сходный, так и различный характер. Было показано, что при воздействии сырой нефти с м/р Азери значение содержания гемоглобина, величины гематокрита и количества эритроцитов, повышаясь в первый час экспозиции, начиная с третьего часа до конца экспозиции снижается, при воздействии же сырой нефти с м/р Нефтяные Камни указанные показатели крови повышаются до конца четвёртых суток. Значения среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH) и средней концентрации гемоглобина в эритроците (MCHC) при воздействии обоих видов нефти по сравнению с контрольными значениями снижаются, а значения среднего объёма эритроцитов (MCV), количества лейкоцитов и показателей скорости оседания эритроцитов (СОЭ) повышаются. Сравнительный анализ гистологических сдвигов, обнаруженных при изучении трёх наиболее чувствительных к загрязнению тканей (ткани жабр, печени и мышечной ткани), показал, что в ткани жабр и мышечной ткани нарушения начинали проявляться уже с первого часа, в то время как в ткани печени первые изменения отмечались с начала вторых суток воздействия обоих видов сырой нефти. В ткани жабр и мышечной ткани на третьи и четвёртые сутки экспозиции были обнаружены необратимые патологические изменения, тогда как все нарушения в ткани печени, обнаруженные в течение четырёх суток нефтяного загрязнения, были защитно-приспособительного характера. В ходе экспериментов было выявлено, что относительная тяжесть гистопатологических изменений в данных

тканях возрастала с увеличением концентрации сырой нефти. Было установлено также, что по сравнению с нефтью с м/р Азери нефть с м/р Нефтяные Камни в исследованных тканях вызывала более глубокие гистопатологические сдвиги.

**Научная и практическая значимость.** В настоящей работе рассматривается динамика выявления поведенческих и морфофункциональных изменений в организме сазана в зависимости от вида, концентрации и длительности воздействия сырой нефти с первых часов контакта рыбы с загрязнителем. Полученные в проведённом исследовании данные могут быть использованы при диагностировании степени отравления рыб вследствие различных разливов нефти и нефтепродуктов, а также при оценке качества водной среды. Полученные в ходе поведенческих, гематологических и гистологических исследований данные, представляют интерес для сравнительного физиологического исследования, могут служить репрезентативными показателями при изучении последствий нефтяного загрязнения на организм рыб. Кроме того, полученные данные по воздействию сырой нефти могут быть использованы при проведении различных мониторинговых программ по воздействию поллютантов на ихтиофауну, на семинарах в учебных заведениях, а также могут быть включены в учебники по гистологии и экологии.

***Основные положения, выносимые на защиту:***

1. Сырая нефть в начальные сроки воздействия вызывает нарушения в двигательных, дыхательных и пищевых поведенческих реакциях сазана.
2. В зависимости от вида нефти динамика значений показателей крови может иметь как схожий, так и различный характер.
3. По сравнению с тканью печени, ткани жабр и мышц сазана более чувствительны к нефтяному загрязнению.
4. Нефть с месторождения Нефтяные Камни по сравнению с нефтью с месторождения Азери, вызывает более серьёзные изменения на тканевом уровне организма рыб.
5. Нарушения, обнаруженные в поведенческих реакциях и в показателях крови, а также степень тяжести патологических изменений, выявленных в тканях жабр, печени и мышц сазана, зависит как от вида, так и от концентрации и длительности воздействия сырой нефти.

***Апробации работы.*** Материалы, представленные в диссертации, были доложены на VII Международном Междисциплинарном

Конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Крым, Украина, 3-13 июня 2011 года); на III съезде физиологов СНГ (Ялта, Украина 1-6 октября 2011 года); на Всероссийской научной конференции с международным участием «Животные: экология, биология и охрана» (Саранск, 29 ноября 2012 года), на научном семинаре Института физиологии им. А.И.Караева, (Баку, 2013), на Международной Научно-практической конференции «Стресс и развитие», (Баку, 2013), на III Международной Междисциплинарной Конференции «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций» (Лимассол (Кипр), 1-8 октября 2013 года), на III Национальном Конгрессе Общества физиологов Грузии им. Бериташвили (Тбилиси, 26-28 сентября 2013 года), на Интернациональном форуме молодых учёных, посвящённым 90-летию Гейдара Алиева (Баку, 20-25 мая 2013 года), на III Республиканской инновативной ярмарке идей молодых учёных (Баку, 16-20 сентября 2013 года).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, из которых 10 статей, 7 тезисов.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация написана по традиционной схеме и состоит из введения, литературного обзора, материала и методов исследования, результатов исследований, обсуждения, заключения и выводов. Диссертация изложена на 153 страницах, включает 19 рисунков, 4 таблицы и 12 диаграмм. Список цитируемой литературы включает 222 источника.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование проводилось на 199 особях 6-ти месячного сазана. Молодь сазана привозилась из Хыллинского рыбоводного завода (г. Нефтечала). Вес тела рыб составлял  $37,8 \pm 1,72$  г, а длина –  $12,6 \pm 0,57$  см. Для перевозки, рыбы были погружены в аэрируемые ёмкости, и доставлены в аквариальную Института Физиологии. В аквариальной рыбы для адаптации к новым условиям обитания в течение 2-х недель находились в аэрируемых больших ваннах с чистой отстоянной водопроводной водой. После периода адаптации рыбы были переведены в малые аэрируемые ванны, размерами (90x45x40)см и объёмом воды в 40 литров. Для изучения поведенческих реакций в каждую ванну помещалось по 5 рыб. Одна ванна была отведена под контрольную группу, остальные под экспериментальные группы. Контрольные особи содержались в ванне с чистой отстоянной водой.

В одну группу ванн, отведённых для экспериментальных групп, добавлялась сырая нефть с м/р Азери, в другую группу - с м/р Нефтяные Камни. Использовались две концентрации сырой нефти в воде: 100 и 500 мг/л. Отслеживание поведенческих реакций проводилось в 1ч, 3ч, 6ч, 24ч, 48ч, 72ч и 96ч воздействия сырой нефти. После изучения поведенческих реакций сазана, аналогичным образом ванны были подготовлены для гематологического и гистологического исследования. Для этого в каждую ванну было положено по 12 экспериментальных рыб. Взятие материала для проведения гематологического и гистологического анализа осуществлялось также в 1ч, 3ч, 6ч, 24ч, 48ч, 72ч и 96ч воздействия сырой нефти. В указанные промежутки времени материал для гематологического и гистологического анализа брали у 6-ти особей.

Отслеживание поведенческих реакций сазана проводилось визуально в течение 10 минут по стандартной методике (Al-Kahem, 1995). Прослеживалась динамика двигательной активности рыб (число двигательных актов), движений хвостового плавника, частоты дыхания (дыхательных движений жаберной крышки в течение минуты) и реакция рыб на пищевые стимулы. Также велась регистрация беспокойного хаотичного движения рыб, бросков, кашля и зеваний, поверхностного плавания, заглатывания воздуха и потери равновесия у рыб.

Анализ крови сазана проводился по общепринятой методике (Svobodova et al, 1991). Для проведения гематологических анализов у исследуемых рыб кровь бралась из хвостовой вены, путём отсечения хвостового стебля. Производилось определение содержания гемоглобина, количества эритроцитов, гематокритной величины, эритроцитарных показателей MCH, MCV, MCHC, количества лейкоцитов и СОЭ.

Для гистологического исследования материал брали из ткани жабр, печени и мышц. Для проведения гистологического исследования использовался классический метод обработки материала и окрашивание производилось гематоксилин-эозином (Ромейс, 1953).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Как показали результаты данного исследования воздействие двух различных видов сырой нефти оказывает разное влияние на двигательную активность рыб. Повышаясь в малой концентрации или снижаясь в более высокой концентрации в первые сутки воздействия



сырой нефти с м/р Азери двигательная активность рыб к 96-му часу экспозиции принимает близкие к контролю значения (рис. 1, 2). При воздействии же сырой нефти с м/р Нефтяные Камни при концентрации 100 мг/л значения данного показателя снижаются, а при высокой концентрации данного вида нефти наблюдается даже обездвижимость рыб к концу экспозиции (рис.3, 4). Угнетение двигательной активности сазана, возможно связано с токсическим действием ароматических углеводородов, доминирующих в составе сырой нефти с м/р Нефтяные Камни. Так, согласно литературным данным, ароматические углеводороды снижают интенсивность двигательной активности у рыб (Goncalves et al., 2008).

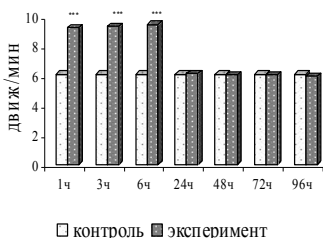


Рис.1. Динамика двигательной активности сазана при воздействии сырой нефти с м/р Азери (100 мг/л), \*\*\* $p < 0,001$ .

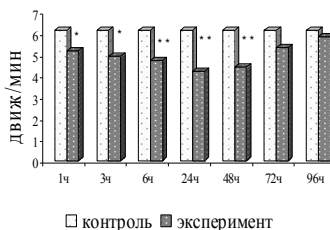


Рис.2. Динамика двигательной активности сазана при воздействии сырой нефти с м/р Азери (500 мг/л), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$

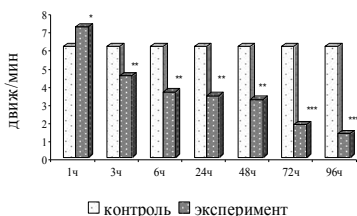


Рис.3. Динамика двигательной активности сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни (100 мг/л), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

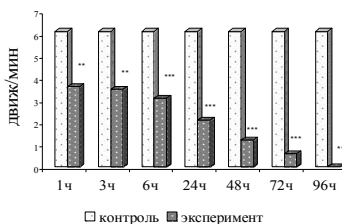


Рис.4. Динамика двигательной активности сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни (500 мг/л), \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

Как показали результаты исследования при воздействии сырой нефти с м/р Азери наблюдается сначала повышение значений движения хвостового плавника, которые, затем снижаются, хотя и остаются высокими (при 100 мг/л) или приближёнными к контрольным (при 500 мг/л) (рис.5, 6). При воздействии же нефти с м/р Нефтяные Камни значение движений хвостового плавника к 96-му часу экспозиции достоверно снижается ( $p < 0,05$ , при 100 мг/л,  $p < 0,001$ ,

при 500 мг/л) (рис. 7, 8). Увеличение движений хвостового плавника может быть связано с возбудимостью нервной системы вследствие токсического действия окружающей среды (Al-Kahem, 1995). Снижение же интенсивности движений хвостового плавника может быть связано с угнетением общей интенсивности двигательной активности.

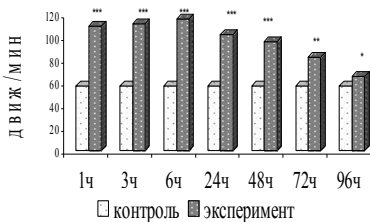


Рис.5. Динамика движений хвостового плавника сазана при воздействии сырой нефти с м/р Азери (100 мг/л), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$

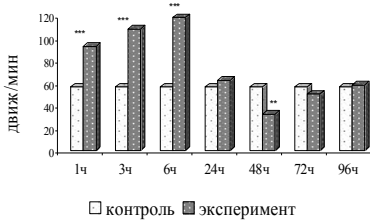


Рис.6. Динамика движений хвостового плавника сазана при воздействии сырой нефти с м/р Азери (500 мг/л), \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

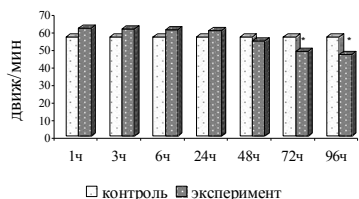


Рис.7. Динамика движений хвостового плавника сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни (100 мг/л), \* $p < 0,05$ .

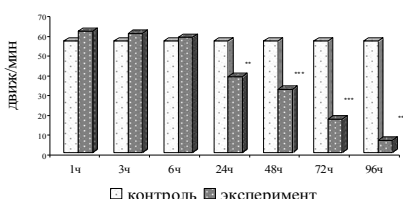


Рис.8. Динамика движений хвостового плавника сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни (500 мг/л), \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

При воздействии сырой нефти с м/р Азери в концентрации 100 и 500 мг/л вначале наблюдается увеличение частоты дыхания, которое, начиная со вторых суток экспозиции, сменяется снижением, но к 96-му часу воздействия нефти малой концентрации значение данного показателя приближается к контролю (рис.9), а при высокой концентрации к 96-ти часовой экспозиции регистрируются минимальные значения данного показателя (рис.10). При воздействии нефти с м/р Нефтяные Камни наблюдается схожая тенденция в динамике частоты дыхания, но к 96-му часу экспозиции наблюдается большее снижение значений данного показателя ( $p < 0,01$ ) (рис. 11, 12). Увеличение частоты дыхания направлено на поддержание увеличивающейся физической активности в неблагоприятных условиях среды (Ganeshwade et al., 2006). Редукция темпа дыхания

также может свидетельствовать об утомлении рыбы в попытках избегания токсической среды, а может быть направлено на сохранение энергии в организме (Basaling et al., 2011).

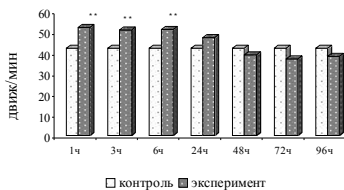


Рис.9. Динамика частоты дыхания сазана при воздействии сырой нефти с м/р Азери (100 мг/л), \*\* $p < 0,01$ .

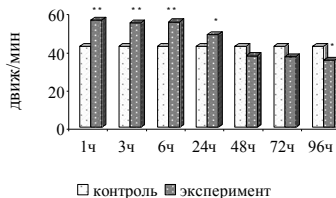


Рис.10. Динамика частоты дыхания сазана при воздействии сырой нефти с м/р Азери (500 мг/л), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

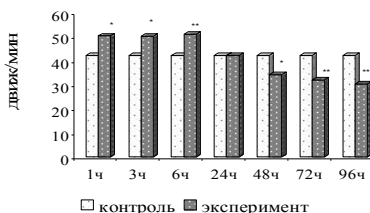


Рис.11. Динамика частоты дыхания сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни (100 мг/л), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

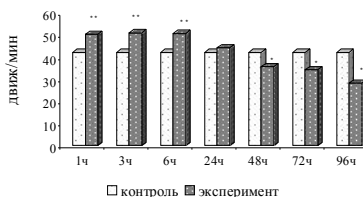


Рис.12. Динамика частоты дыхания сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни (500 мг/л), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

В ходе работы изучалась также ответная реакция рыб на пищевые стимулы в загрязнённой среде. В данном исследовании рыбы не реагировали на присутствие в воде корма при экспозиции в сырой нефти с м/р Азери высокой концентрации и в сырой нефти с м/р Нефтяные Камни низкой концентрации только на четвёртые сутки эксперимента и в сырой нефти с м/р Нефтяные Камни в высокой концентрации на третьи и четвёртые сутки экспозиции. Нарушение пищевой реакции может быть связано с общей интоксикацией организма под воздействием токсических компонентов сырой нефти (Claireaux et al., 2007).

Под воздействием сырой нефти у рыб наблюдались броски, беспокойные хаотичные движения, акты кашля и зевания, поверхностное плавание, заглатывание воздуха и потеря равновесия. Броски и беспокойные хаотичные движения у рыб отмечались в первые часы воздействия обеих концентраций сырой нефти как с м/р Азери, так и с м/р Нефтяные Камни. Такие акты поведения рассматриваются в исследованиях как попытка рыб избежать

загрязнителя. Реакция избегания поллютанта одна из форм фенотипической адаптации, которая направлена на выживание популяции (Ural et al., 2006). Рефлективный кашель появляется у рыб в ответ на загрязнение окружающей среды и направлен на очищение жаберного аппарата от раздражителей с целью улучшения диффузии газов в жабрах (Kane et al., 2005, Ganeshwade et al., 2006). Увеличение числа актов зевания происходит вследствие недостаточного снабжения организма кислородом. Это происходит в результате ослабления газообмена, вследствие накопления слизи на жабрах или нарушений в дыхательной системе (Al Kahem, 1995). Поверхностное плавание, то есть нахождение рыб в поверхностном слое воды, где превалирует содержание кислорода, и заглатывание воздуха вероятно, связано с нехваткой кислорода в организме рыб (Prashanth et al., 2011). Потеря равновесия у сазана отмечалась на третьи сутки воздействия высокой концентрации сырой нефти как с м/р Азери, так и с м/р Нефтяные Камни. Потеря равновесия связана с нарушениями в мозжечке и в других областях головного мозга, отвечающими за сохранение координации (Prashanth et al., 2011).

Второе направление исследования было посвящено изучению динамики гематологических показателей при экспозиции сазана в двух видах сырой нефти. Как было показано в главе «Результаты исследований» с первого часа воздействия сырой нефти с м/р Азери при концентрации 100 и 500 мг/л наблюдается некоторое увеличение значений концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и величины гематокрита. С третьего часа воздействия сырой нефти наблюдается снижение значений данных показателей. При экспозиции же рыб в нефти с м/р Нефтяные Камни как при концентрации 100 мг/л, так и при 500 мг/л с начала вторых суток до конца экспозиции наблюдается закономерное повышение значений концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и величины гематокрита.

Снижение концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и гематокритной величины связано с чувствительностью клеток эритроидного ряда к цитотоксическому эффекту, производимому производными бензола (Sunmonu et al., 2008). Авторы считают, что при этом происходит подавление процесса эритропоэза под воздействием данных углеводородов. Изменение значений величины гематокрита, коррелируется с изменением активности рыбы и стрессовым фактором окружающей среды (Obemeata, 2012).

Увеличение содержания в крови гемоглобина, что наблюдалось в данном исследовании в крови у сазана при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни, по мнению ряда авторов, это физиологический ответ рыб на нехватку кислорода в воде под влиянием нефтепродуктов (Obasohan et al., 2007, Ugwu et al., 2011). Как считает ряд исследователей, увеличение количества эритроцитов крови первоначально происходит в результате активации катехоламинов, стимулирующих селезёнку к выбросу добавочной порции депонированной крови, впоследствии же это увеличение происходит в результате эритропоэза, вследствие ответной реакции гормона эритропоэтина, продуцируемым почками (Randall, 1982, Alkindi et al., 1996, Savari et al., 2011).

В данном исследовании при воздействии нефти с м/р Азери как при концентрации 100 мг/л, так и при концентрации 500 мг/л, так и при воздействии нефти с м/р Нефтяные Камни при обеих концентрациях наблюдалось достоверное снижение значений МСН и МСНС, а значения МСV достоверно увеличивались. Снижение значений МСН и МСНС говорит о гипохромности эритроцитов, то есть острая экспозиция в сырой нефти вызывает снижение содержания и концентрации гемоглобина в самих эритроцитах (Zutshi et al., 2010). Увеличение значений МСV, наблюдаемое также при воздействии обоих видов нефти, говорит об увеличении объёма эритроцитов. Показатель МСV отражает увеличение выработки и выброса ретикулоцитов, которые больше в размерах, но содержат меньше гемоглобина по сравнению со зрелыми эритроцитами (Haschek et al., 2010).

При воздействии обоих видов нефти наблюдается повышение количества лейкоцитов, начиная с 48-ми часов экспозиции до конца эксперимента (96 ч). Увеличение количества лейкоцитов это иммунологическая попытка рыб мобилизовать все защитные механизмы организма против бактериальной инфекции в повреждённых тканях (Ugvu et al., 2006, Ajani et al., 2007).

Значение СОЭ при воздействии нефти с м/р Азери при концентрации 100 мг/л достоверно увеличивается, начиная с 72-х часов экспозиции, а при более её высокой концентрации достоверное увеличение СОЭ наблюдается, начиная с 24-го часа экспозиции. При воздействии же нефти с м/р Нефтяные Камни при концентрации 100 мг/л достоверное увеличение СОЭ наблюдается с 48-го часа экспозиции, а при воздействии высокой концентрации данного вида

нефти увеличение данного показателя отмечается с 24-го часа экспозиции. Максимальные значения СОЭ отмечаются к 96-ти часам экспозиции. Скорость оседания эритроцитов непосредственно зависит от физиологического состояния организма. Это тест крови на присутствие в организме воспалительных процессов. Увеличение СОЭ, вероятно, связано с изменением формы или количества эритроцитов под токсическим действием нефтяных углеводородов. Это также может быть связано с отклонениями в уровне белков плазмы, таких как альбумины и глобулины (Лебедев и Понякина, 1990, Akinrotimi et al., 2012).

Третьим направлением исследования было гистологическое изучение наиболее чувствительных тканей (ткани жабр, печени и мышц) при экспозиции сазана в двух видах сырой нефти. Как показали результаты данного исследования, изменения в ткани жабр сазана отмечаются с первого часа воздействия сырой нефти. Как при воздействии сырой нефти с м/р Азери, так и с м/р Нефтяные Камни в первые и вторые сутки экспозиции в ткани жабр изменения были пролиферативного и воспалительного характера, такие как отторжение дыхательного эпителия, гиперплазия первичных и вторичных ламелл, утолщение апикальных частей вторичных ламелл, отёки, гипертрофия эпителиальных клеток, соединение концов и полное срастание вторичных ламелл.

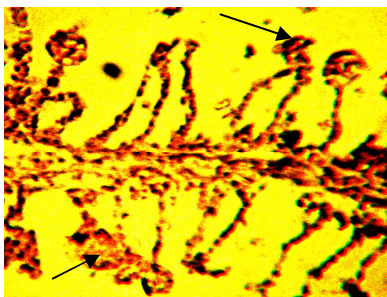


Рис. 13. Телеангиэктазии (x 625) .

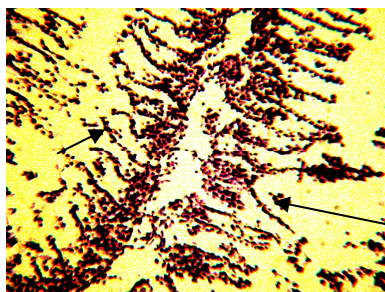


Рис. 14. Отшелушивание, истончение, искривление вторичных ламелл (x 312,5).

Далее, с увеличением времени воздействия, на третьи и четвёртые сутки экспозиции наблюдались циркуляторные и структурные изменения ткани жабр. Из циркуляторных изменений были обнаружены заполнение межламеллярного пространства форменными элементами крови, телеангиэктазии (рис. 13), аневризмы, а из структурных – утончение и укорочение ламелл, отшелушивание

эпителиальных клеток, искривление, дезорганизация и разрыв вторичных ламелл, некротические изменения (рис.14).

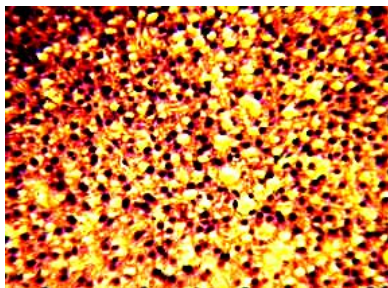


Рис.15. Незначительная вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов (x625).

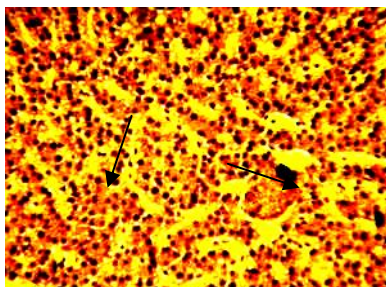


Рис.16. Макрофаг с выпадением гемосидерина и расширение синусоидов (x625).

Как показали результаты проведённого исследования в ткани печени под воздействием обоих видов нефти при обеих концентрациях изменения отмечались, начиная со вторых суток экспозиции, и большинство изменений были пролиферативного и воспалительного характера: полиморфизм гепатоцитов и их ядер, снижение базофилии, вакуолизация гепатоцитов (рис. 15), наличие макрофагов. Также были отмечены и циркуляторные сдвиги, такие как нарушение микроциркуляции, скопление форменных элементов крови в сосудах печени, расширение синусоидов (рис.16). В более высоких концентрациях сырой нефти к концу экспозиции были обнаружены пикнотические ядра и единичные некротические клетки.

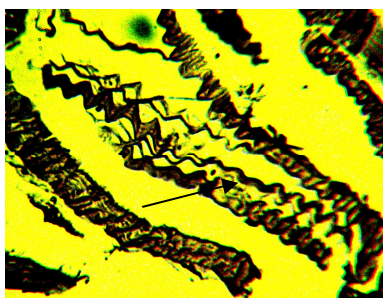


Рис.17. Разволокнение и извилистый ход миофибрилл (x 312,5).

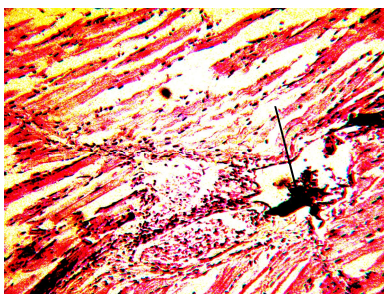


Рис.18. Кровоизлияния в мышечной ткани и наличие гемосидерина (x 312,5).

Результаты исследования по воздействию сырой нефти на мышечную ткань сазана показали, что как при экспозиции в сырой

нефти с м/р Азери, так и с м/р Нефтяные Камни в данной ткани сдвиги были отмечены уже с первых часов воздействия. В первые сутки экспозиции в мышечной ткани были выявлены извилистый ход миофибрилл, отрыв сарколеммы, расщепление, расслоение мышечного волокна (рис.17). По мере увеличения времени воздействия сырой нефти наблюдаются циркуляторные (кровоизлияния, выпадение гемосидерина, проникновение форменных элементов крови под сарколемму) (рис.18). Также были и структурные изменения мышечной ткани, такие как разрывы, истончение миофибрилл, лизис и некротические фокусы.

Следует отметить, что с увеличением концентрации сырой нефти выраженность патологических изменений во всех трёх исследованных тканях возрастала. Сравнение степени воздействия нефти с разных месторождений на исследуемые ткани сазана показало, что экспозиция в нефти с м/р Нефтяные Камни выявила более серьёзные нарушения во всех трёх исследуемых тканях. Возможно, это связано с преобладанием ароматических углеводородов и с содержанием фенолов в нефти с м/р Нефтяные Камни (Самедова, 2002).

Основываясь на вышесказанном можно сделать вывод, что негативное влияние сырой нефти на организм рыб начинается с самых начальных часов воздействия. Это проявляется в изменении поведенческих реакций рыб, их гематологических показателей и в сдвигах на тканевом уровне. Хотя данные нарушения не вызывают летального исхода у самих особей, тем не менее они могут вызвать генетические нарушения, что может отразиться на развитии молоди. В зависимости от вида сырой нефти изменения в организме рыб могут иметь более или менее выраженный характер, но в целом все они могут отразиться на состоянии популяции рыб.

### **Выводы**

1. Установлено, что с первых часов воздействия сырая нефть вызывает нарушения в двигательных и дыхательных реакциях сазана. Под воздействием сырой нефти как с м/р Азери, так и с м/р Нефтяные Камни у рыб отмечаются беспокойные хаотичные движения, броски, акты кашля и зевания, поверхностное плавание, заглатывание воздуха, потеря равновесия и нарушение ответной реакции на пищевые стимулы.
2. Выявлено, что с первого часа воздействия сырой нефти как с м/р Азери, так и с м/р Нефтяные Камни наблюдается повышение



значений концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и величины гематокрита. Если начиная с третьего часа воздействия сырой нефти с м/р Азери, значение данных показателей снижается до конца экспозиции, то при воздействии сырой нефти с м/р Нефтяные Камни до конца экспозиции значения указанных показателей крови повышаются.

3. Установлено, что как при воздействии сырой нефти с м/р Азери, так и при воздействии сырой нефти Нефтяные Камни наблюдается снижение значений показателей МСН, МСНС и увеличение МСV, и отмечается повышение количества лейкоцитов и значений СОЭ.
4. Показано, что, из трёх изученных тканей сазана наибольшую чувствительность к нефтяному загрязнению показали ткань жабр и мышц, в которых гистологические сдвиги отмечались, начиная с первого часа экспозиции, и к концу экспозиции были отмечены необратимые реакции данных тканей. Первые изменения в ткани печени были отмечены на вторые сутки воздействия сырой нефти и гистологические сдвиги в данной ткани имели защитно-приспособительный характер.
5. По сравнению с нефтью с м/р Азери, нефть с м/р Нефтяные Камни оказывает более сильное токсическое влияние на организм рыб, что проявляется на тканевом уровне в образовании более серьёзных гистологических сдвигов в ткани жабр, печени и мышц сазана.
6. Сдвиги, обнаруженные в поведенческих реакциях и в показателях крови сазана, а также степень тяжести патологических изменений, выявленных в ткани жабр, печени и мышц находится в зависимости от вида, длительности воздействия и концентрации сырой нефти.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации.**

1. Абдулкеримова С.Л. Изменение показателей гемоглобина и величины двигательной активности молоди сазана под влиянием сырой нефти. // *İnsan və biosfer (MaB, YUNESKO) Azərbaycan Milli komitəsinin əsərləri*. Bakı, 2010, c. 6, s.218-224.
2. Абдулкеримова С.Л., Рустамов Э.К. Изменение гематологических показателей сазанов под воздействием сырой нефти с месторождения «Азери» // *Azərbaycan Zoologlar cəmiyyətinin əsərləri*, Bakı, 2011, c.3, s. 320-329.

3. Абдулкеримова С.Л., Рустамов Э.К., Рагимова Н.Г. Воздействие сырой нефти с месторождения «Азери» на некоторые гематологические показатели молоди сазанов / Научные труды III Съезда физиологов СНГ, Ялта, 2011, с. 288.
4. Абдулкеримова С.Л., Рустамов Э.К., Микаилова С.И. Изменение гематологических показателей рыб под влиянием нефтяного загрязнения с месторождения «Нефтяные Камни» / Седьмой Международный Междисциплинарный Конгресс Нейронаука для медицины и психологии. Судак, Крым, Украина, 2011, с.39-40.
5. Абдулкеримова С.Л., Рустамов Э.К. Динамика изменения показателей крови сазанов под воздействием сырой нефти с месторождения «Нефтяные Камни» // İnsan və biosfer (MaB, YUNESKO) Azərbaycan Milli komitəsinin əsərləri. Bakı, 2012, c.8, s.237-244.
6. Абдулкеримова С.Л. Гистопатологические изменения печени сазана, вызванные воздействием сырой нефти с месторождения «Азери» // АМЕА-нын А.İ Qarayev adına Fiziologiya institutunun və Azərbaycan Fizioloqlar Cəmiyyətinin elmi əsərlərinin külliyatı. Fiziologiya və biokimyayın problemləri XXX cild, Bakı-2012, səh. 153-156.
7. Абдулкеримова С.Л. Р.Ю.Касимов, Э.К. Рустамов, С.И.Микаилова. Гистопатологические изменения печеночной ткани сазана под воздействием сырой нефти с месторождения «Нефтяные Камни» // Zoologiya institutunun əsərləri, 2012, c.30, №2, s.99-103.
8. Абдулкеримова С.Л. Гистопатологические изменения жаберной ткани рыб под воздействием сырой нефти «Азери» // Всероссийская научная конференция «Животные: экология, биология и охрана», Саранск, 2012, с.3-5.
9. Т.М.Агаев, Абдулкеримова С.Л. Э.К.Рустамов. Морфологические изменения жаберной ткани сазана (*Cyprinus carpio l.*) в ранние сроки воздействия сырой нефти // Azərbaycan Elmlər Akademiyasının məruzələri, 2012, c.LXVIII, №6, c.108-113.
10. Абдулкеримова С.Л. Влияние сырой нефти с месторождения «Нефтяные Камни» на мышечную ткань сазана / “Gənc alimlərin III Respublika İnnovativ İdeya Yarmarkası”nın materialları, 2013, s.65.

11. Абдулкеримова С.Л., Ахундов А.Г., Рагимова Н.Г. Печёночная ткань рыб, как один из основных индикаторов токсичности водной среды / Heydər Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş “Stress və İnkışaf” Beynəlxalq elmi-praktik konfrans, 2013, s.13-16.
12. Абдулкеримова С.Л., Э.К. Рустамов, Р.Ю.Касимов. Гистопатология мышечной ткани сазана на ранних этапах воздействия сырой нефти с месторождения «Нефтяные Камни» // Известия НАН Грузии, биомедицинская серия, 2013, т. 39, №3-4, с.83-88.
13. Sevinj Abdulkerimova. Muscle tissue of fish as indicators of oil pollution. / Abstracts collection on new challenges European area: International Baku Forum of young scientists, 2013, p.206-207.
14. Абдулкеримова С.Л. Оценка гистологических сдвигов мышечной ткани сазана на начальных этапах воздействия сырой нефти с месторождения «Азери». // Gənc alimlərin əsərləri, 2013, №8, 168-171.
15. Абдулкеримова С.Л. Изменение поведенческих реакций сазана при воздействии сырой нефти с месторождения «Нефтяные Камни» / Третий Национальный Конгресс физиологов Грузии, посвящённый И.Бериташвили, Тбилиси, 2013, с. 116-117.
16. Абдулкеримова С.Л. Влияние сырой нефти на морфо-функциональное состояние печёночной ткани сазана / Третья Международная междисциплинарная конференция «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций», Лимассол (Кипр), 2013, с. 11-12.
17. Абдулкеримова С.Л. Влияние сырой нефти на жаберную ткань сазана: ранние этапы воздействия // Вестник Московского Государственного Университета, серия «Естественные науки», 2014, №2, с. 6-10.

**Xam neftin təsirinin başlanğıc müddətində baliqlarda morfofizioloji və davranış göstəricilərinin dəyişiklikləri**

*Xülasə*

İşdə Xəzər dənizinin 100 və 500 mq/l qatılıqda iki - Azəri və Neft Daşları yataqları xam neftlərinin ilk təsir saatlarında və sutkalarında çəki balığı misalında (*Cyprinus carpio L.*) baliqların morfofunktional vəziyyəti tədqiq olunmuşdur. Göstərilmişdir ki, xam neft təsirin ilk saatlarından çəki baliğının davranış reaksiyalarında, qanın tərkibində, həmçinin qəlsəmə, qaraciyər və əzələ toxumalarında dəyişikliklər əmələ gəlir. Davranış reaksiyalarından xam neft təsiri nəticəsində baliqların hərəkəti aktivlik və quyruq üzgəcinin hərəkət dinamikasında, tənəffüs tezliyində və qida davranış reaksiyalarında dəyişikliklər müşahidə olunurdu. Xam neft təsiri nəticəsində baliqlarda xaotik hərəkətlər, tullanmalar, öskürmə və əsnəmə aktları, səthi üzmə, hava udulması və müvazinat pozğunluğu qeyd olunurdu. Çəki baliğının qanının tərkibinin miqdarı analizi göstərmişdir ki, Azəri yatağı xam neft təsirindən hemoqlobinin miqdarı, hematokrit göstəricisi və eritrositlərin sayının miqdarı ekspozisiyanın 96-cı saatına qədər aşağı enir, halbuki, Neft Daşları yatağı xam neftinin təsiri nəticəsində eyni göstəricilərin miqdarında ekspozisiyanın sonuna qədər artım müşahidə olunur. MCH və MCHC qiymətləri hər iki növ xam neftin təsirindən kontrolla müqayisədə aşağı enir, MCV göstəricisinin, leykositlərin sayında və EÇŞ qiymətlərində isə artım müşahidə olunur. Üç toxumanın (qəlsəmə, qaraciyər və əzələ toxumaları) tədqiqi zamanı aşkar edilən histoloji dəyişikliklərin müqayisəli analizi göstərmişdir ki, qəlsəmə və əzələ toxumasında geriyə dönməz patoloji dəyişikliklər aşkarlanmışdır, neft çirklənməsinin dörd sutkası ərzində qaraciyər toxumasında aşkarlanan dəyişikliklər isə müdafiə- uyğunlaşma xüsusiyyətli idilər. Təqiqatın gedişatı zamanı müəyyən olunmuşdur ki, qeyd olunan toxumalarda histopatoloji dəyişikliklərin nisbi ağırlıq dərəcəsi xam neft qatılığının artımı ilə yüksəlirdi. Həmçinin müəyyən olunmuşdur ki, Azəri yatağı xam nefti ilə müqayisədə Neft Daşları yatağı xam nefti tədqiq edilən toxumalarda daha ciddi dəyişikliklərin əmələ gəlməsinə səbəb olur.

**Alteration in morphophysiological and behavioral patterns of fish in  
the initial terms of effect of crude oil**

*Summary*

In the work the morphological and functional state of fish, for example carp (*Cyprinus carpio*), in the initial hours and days of exposure to crude oil from two deposits in the Caspian sea - Azeri and Oil Rocks at concentrations of 100 and 500 mg/L was investigated. It is shown that crude oil in initial hours of exposure causes changes in behavioral responses of common carp, in the blood parameters and histological changes in gills, liver and muscles tissues. Among the behavioral responses changes in the dynamics of locomotor activity of fish and in the number of movements of the caudal fin, in the dynamics of respiration rate and the disruption of food behavioral reaction was observed. Under impact of crude oil chaotic movements, throws, acts of coughing and yawning, surface swimming, gulping of air and loss of equilibrium in fish was observed. The study of quantitative composition of the blood of common carp showed that when exposed to crude oil from the Azeri deposit the value of hemoglobin, value of hematocrit and the number of red blood cells is reduced to 96-hour of exposure, while when exposed to crude oil from the deposit Oil Rocks these parameters of the blood increase. The values of MCH and MCHC when exposed to both types of oil compared to the control values are reduced, while values of MCV, white cell count and erythrocyte sedimentation rate of performance increase. Comparative analysis of histological changes found in the study of the three tissues (tissues of gills, liver and muscles), showed that in the tissue of the gills and muscles were found to be irreversible pathological changes, whereas all violations of the liver tissue detected within four days of oil pollution, were protective and adaptive nature. The study revealed that the relative severity of histopathological changes in these tissues increasing with high concentration of crude oil. It was also established that oil from the Oil Rocks deposit in comparison with oil from the Azeri deposit caused more severe histopathological changes in the studied tissues.

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

М/р – месторождение

МСН – среднее содержание гемоглобина в эритроците

МСНС– средняя концентрация гемоглобина в эритроците

МСV– средний объём эритроцитов

СОЭ– скорость оседания эритроцитов

*Əlyazması hüququnda*

**ABDULKƏRİMOVA SEVİNC LOĞMAN QIZI**

**XAM NEFTİN TƏSİRİNİN BAŞLANGIC MÜDDƏTİNDƏ  
BALIQLARDA MÖRFOFİZİOLOJİ VƏ DAVRANIŞ  
GÖSTƏRİCİLƏRİNİN DƏYİŞİKLİKLƏRİ**

**2411.01 – İnsan və heyvan fiziologiyası**

**Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün  
təqdim olunmuş dissertasiyanın**

**AVTOREFERATI**

**BAKİ– 2015**