

575 01

На правах рукописи

22 АПР 1996

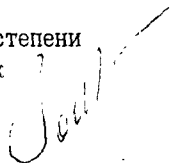
Головина Нина Александровна

УДК 639.3:612.11/12:597-12

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВИ РЫБ -
ОБЪЕКТОВ АКВАКУЛЬТУРЫ**

03.00.10 - иктиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук



Москва - 1996

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте прудового рыбного хозяйства

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Лавровский В. В.

доктор биологических наук, профессор Микряков В. Р.

доктор биологических наук, профессор Стрелков Ю. А.

Ведущее учреждение - Московский Государственный Университет
им. М. Ю. Ломоносова

Защита состоится "28" мая 1996 г. в 11 час. на заседании диссертационного совета Д 117.04.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте прудового рыбного хозяйства (ВНИИПРХ) по адресу: 141821, Московская обл., Дмитровский р-он, пос. Рыбное

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИПРХ

Автореферат разослан "10" апреля 1996 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Трямкина С. П.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Успехи современного рыбоводства связаны с развитием трех основных направлений пресноводной аквакультуры: прудового, индустриального и пастбищного. Перспективы их развития основаны на использовании различных приемов и методов интенсификации, разработке новых технологий, поиске перспективных конкурентоспособных объектов рыборазведения, то есть таких путей, которые позволяют с наименьшими затратами обеспечить максимальную рыбопродуктивность (Виноградов, 1985).

Выращивание рыбы в условиях аквакультуры сопряжено с постоянным влиянием на нее ряда факторов, в том числе и антропогенного пресса, которые приводят к снижению резистентности организма и повышению его восприимчивости к различного рода стрессорам, включая и возбудителей болезней (Мусселиус, 1982).

Важнейшим механизмом, обеспечивающим нормальное функционирование живых систем в постоянно меняющихся условиях внешней среды, является гомеостаз (Cannon, 1929), который на организменном уровне проявляется в виде адаптивных реакций (Слоним, 1979). Полифункциональность крови, как ткани внутренней среды, определяет ее важную роль в таких реакциях. Являясь наиболее лабильными и чувствительными, ее показатели широко используются в медицине и ветеринарии для оценки состояния здоровья и диагностики патологических процессов.

В промышленном рыбоводстве гематологический анализ применяли для характеристики выращиваемой молодежи на осетровых и лососевых заводах (Баденко, 1966; Канидьев, 1967, 1984; Глаголева, 1974 и др.), для оценки патогенного влияния паразитов и токсикантов на организм рыб (Бауер и др., 1981; Лиманский и др., 1984; Svobodova, 1989). Однако, исследования в этом направлении сдерживались из-за отсутствия единого подхода к идентификации клеточных элементов крови и слабой изученности их морфологии у большинства видов культивируемых рыб. Ряд исследователей предложили новый методический подход к идентификации и классификации форменных элементов крови рыб (Иванова, 1970, 1983; Lechmann, Sturenberg, 1975; Глаголева, 1977; Ellis, 1977; Калашникова, 1979, 1981; Яхненко, 1984). В основу этих работ положен морфологический принцип, а при обозначении различных стадий цитогенеза - терминология и номенклатура общей гематологии позвоночных. В последние годы морфологические материалы пополнились исследованиями

функциональных свойств клеток крови (Ланге и др., 1984, 1985, 1986; Золотова, 1986 и др.) и их роли в формировании иммунного ответа (Микряков, 1991; Вихман, 1994).

Это позволяет на другом методическом уровне решить проблему гематологической нормы и патологии. В медицине за норму показателей крови принята такая их величина, при которой достигается оптимальное состояние равновесия организма с окружающей средой (Соколов, Грибова, 1972). Отрывочность и разбросанность имеющихся в ихтиогематологии данных осложняли их анализ для получения такой нормы и использования ее в коррекции рыбоводного процесса. В связи с этим назрела необходимость получения, выполненной на едином методическом уровне, целостной картины красной и белой крови, которую можно считать гематологической нормой для основных объектов пресноводной аквакультуры.

Цель настоящего исследования заключалась в определении морфофункциональной характеристики крови наиболее ценных в рыбоводстве в отношении видов рыб при воздействии на них антропогенных и патологических факторов, а также использовании ее для оценки физиологического состояния и коррекции его в ходе выращивания.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- изучить цитоморфологические и функциональные особенности крови карпа, радужной форели, канального сома, ленского осетра и каспийского лосося ;
- выяснить сезонно-возрастную динамику изменений гематологических показателей;
- оценить физиологический статус рыб при различных технологиях выращивания;
- выявить основные изменения в картине крови при воздействии на рыб различных стрессоров;
- оценить направленность и обратимость патологических процессов;
- определить уровень патогенности возбудителей в различных системах паразит-хозяин;
- установить особенности гематологической реакции крови рыб в премортальном состоянии;
- отработать эффективные способы коррекции физиологического состояния рыбы при заболеваниях.

Общая схема исследований представлена на рис. 1.



Рис. 1. Схема исследований.

Научная новизна и теоретическая значимость. Используя единый методический подход в цитоморфологических и функциональных исследованиях, впервые дана полная гематологическая характеристика пяти основных объектов аквакультуры: карпа, радужной форели, канального сома, ленского осетра и каспийского лосося. Прослежены видовые и сезонно-возрастные закономерности изменений показателей крови. С учетом их вариабильности определены границы колебаний их значений при физиологической норме, а также при адаптивных реакциях: техногенных, стрессовых и патологических.

Выяснена информативность показателей крови для диагностики физиологического состояния рыб, выращиваемых при различных технологиях. Оценено влияние факторов среды и дисбаланса в условиях жизнеобеспечения на рыб, предложены способы повышения адаптивных возможностей организма.

Изучены особенности патогенеза наиболее распространенных инвазионных, инфекционных и незаразных болезней рыб, выращиваемых в пресноводной аквакультуре. Выяснено, что картина белой крови имеет при многих заболеваниях свои особенности, однако их появление часто протекает на фоне общих неспецифических отклонений: лейкопении, лимфопении и нейтрофилии, обусловленных стресс-реакцией на возбудителя. Полученные данные расширяют сведения сравнительной гематологии, общей патологии и клеточного иммунитета позвоночных животных.

Определен уровень патогенности возбудителей в различных системах паразит-хозяин. Показано, что в условиях антропогенного влияния характер взаимоотношений зависит не только от длительности эволюции изучаемых систем, но определяется также иммуно-физиологическим статусом выращиваемой рыбы и ассоциативным воздействием других факторов. Это позволило определить минимальнопатогенный уровень зараженности возбудителями, при превышении которого возникает заболевание и необходимость срочного терапевтического вмешательства.

Практическая ценность и реализация результатов работы. Настоящее исследование посвящено изучению морфологических особенностей клеток крови карпа, радужной форели, ленского осетра и каспийского лосося, что позволяет их использовать в разработке различных проблем современной аквакультуры.

В работе представлены основные принципы оценки физиологического состояния рыб по гематологическим показателям. Определена их ин-

формативность и возможность использования в диагностике заболеваний.

Выполненные исследования послужили основой для определения технологической нормы физиологического состояния карпа при прудовом и промышленных способах выращивания и каспийского лосося при его воспроизводстве. Выявлены закономерности техногенных, стрессовых и патологических отклонений показателей крови, которые позволили разработать критерии диагностики алиментарных токсикозов и инвазионных болезней рыб.

Данные материалы использованы при обосновании предельно допустимых концентраций некоторых микотоксинов в карповых комбикормах, они также вошли в "Рекомендации по методам выявления алиментарных токсикозов карпа" (1990), "Методические указания по диагностике ихтиофтириоза и дактилогироза" (1986), "Инструкцию по диагностике ботриоцефалеза карпа, оценке патогенного воздействия и рыбоводного ущерба от болезней" (1990), "Временную инструкцию по борьбе с ботриоцефалезом карпа в садковых хозяйствах на водоемах - охладителях ТЭС и АЭС" (1990). На основании их подготовлено свидетельство "Способ контроля заболеваний прудовых рыб ихтиофтириозом и дактилогирозом" (АС N 1311050 от 15.1.1987 г.).

Разработан и под авторским контролем успешно применен в ряде тепловодных хозяйств способ диагностики синдрома дефицита энергии у карпа, а также меры его профилактики и терапии.

Учебные и методические материалы вошли в "Атлас клеток крови рыб" (1983), "Методы гематологических исследований в ихтиопатологической практике" (1979), "Лабораторный практикум по болезням рыб" (1983), "Справочник по физиологии рыб" (1986), а также используются при проведении занятий по физиологии рыб для студентов ВУЗов и техникумов и на курсах повышения квалификации в группах рыбоводов, ихтиологов и ихтиопатологов.

Апробация работы. Результаты исследований, содержащиеся в диссертации с 1972 - 95 гг. обсуждались на Ученом Совете ВНИИПРХ, а также на научных совещаниях в нашей стране и за рубежом: 6, 7, 8 и 9 Всесоюзных совещаниях по болезням рыб (Ленинград, 1974, 1979; Астрахань, 1985; Петрозаводск, 1990), П Съезде протозоологов (Киев, 1976), Республиканской научно-практической конференции (Кишинев, 1982), Конференциях Украинского паразитологического общества (Белая церковь, 1980; Одесса, 1986), П Съезде паразитоценологов (Киев,

1983), 8 Всесоюзной конференции по экологической физиологии и биохимии (Ярославль, 1989), 2 Симпозиуме по экологической биохимии рыб (Ярославль, 1990), Всесоюзном симпозиуме по популяционной биологии гельминтов (Черноголовка, 1987), 1 и 2 Всесоюзной школе-семинаре по экологической и эволюционной иммунологии и гематологии (Борок, 1980, 1990), Всероссийском научно-производственном совещании по проблемам развития пресноводной аквакультуры (Рыбное, 1993), Международных симпозиумах по иктиопаразитологии (Чешские Будиевицы, 1983; Тихани, Венгрия, 1987, Петрозаводск, 1991), 2 и 3 Международной иктиогематологической конференции (Литомышл, Чехословакия, 1989, 1993), 6 Международной конференции европейских иктиопатологов (Брест, Франция, 1993), 9 Международном конгрессе протозоологов (Берлин, 1993).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 69 печатных работ, общим объемом около 28 печатных листов, в том числе раздел в книге Н.Т. Ивановой "Атлас клеток крови рыб", монография "Гематология прудовых рыб" (в соавторстве с И.Д. Тромбицким), учебно-методическое пособие "Лабораторный практикум по болезням рыб" (с группой сотрудников), а также ряд методических рекомендаций, наставлений, инструкций и одно авторское свидетельство.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 228 стр. машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и 4 приложений. Список литературы включает 329 источников, из них 112 иностранные авторы. В тексте работы 30 рисунков и 52 таблицы. В приложение вынесены микрофотографии, а также некоторые акты производственных испытаний разработанных инструкций и рекомендаций.

ГЛАВА 1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились основные виды рыб, выращиваемые в аквакультуре: карп (*Cyprinus carpio* L.), радужная форель (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), канальный сом (*Ictalurus punctatus Rafinesque*), ленский осетр (*Acipenser baeri chatys* Drjagin) и его гибриды, каспийский лосось или кумжа (*Salmo trutta caspius* Kessler). Работа проводилась в прудовых и промышленных тепловодных хозяйствах России, Украины, Молдовы, Литвы, Беларуси и Грузии. Кроме того работали на морских форелевых фермах в Мурманской области. Ардонском рыбзаводе по воспроизводству каспийского лосося и исследовали

дикую форель из реки Черная (Абхазия). Общее количество гематологически обследованной рыбы более 4000 экз. (табл.1). Условия выращивания рыбы и особенности проведения экспериментов приведены более подробно в ходе изложения материала по главам. При проведении работ ихтиопатологические исследования проводили по общепринятым методам (Лабораторный практикум..., 1983).

Таблица 1

Объем выполненных работ

Виды рыб	Число обследованных рыб, экз.	Тип и количество хозяйств			
		Прудовое	Бассейновое	Садковое	УЗВ
Карп	3623	12	2	4	1
Радужная форель	166	1	3	3	-
Каспийский лосось	240	-	1	-	-
Канальный сом	89	-	-	-	89
Осетр ленский	84	-	1	1	-
Всего:	4202				

Из физиолого-биохимических показателей определяли следующие параметры: коэффициент упитанности по Фультону, химический состав тела, то есть содержание влаги, сырого жира и белка по общепринятым методам (Инструкция..., 1984), морфофизиологические индексы внутренних органов (Шварц и др.1966), содержание гликогена антроновым методом (Лиманский и др., 1984), общий белок сыворотки крови определяли рефрактометрически на рефрактометре РДУ, концентрацию ионов Na^+ , K^+ определяли на пламенном спектрофотометре "Flapho - 4", а Ca^{++} и Mg^{++} - в эмиссионном режиме атомноабсорбционного спектрофотометра "ASS-1" (Мартемьянов, 1983).

Гематологические показатели определяли по единым отработанным

методикам (Головина, 1979): содержание гемоглобина цианметгемоглобиновым методом или на гемометре Сали, величину гематокрита и лейкоцита на гематокритной центрифуге МГЦ -2 или на центрифуге Шкляра, число эритроцитов пробирочным методом с подсчетом в камере Горяева, содержание гемоглобина в эритроците и средний объем эритроцита вычисляли по формуле Гительсона и Терского.

Идентификацию форменных элементов крови проводили по классификации Н.Т. Ивановой (1970), с учетом работ, проведенных на лососевых (Lehmann, Sturenberg, 1975), и последних исследований, выполненных с помощью автордиографических (Ланге, Золотова, 1985; Золотова, 1989) и иммунологических методов (Микряков, 1991).

При анализе результатов прироста массы использовали теоретическую модель роста рыб (Толчинский, 1980).

Статистическую обработку материала проводили по программам из библиотеки задач для ЭВМ "Минск-32" и "ЕС-1035" (ВНИИПРХ, 1989) и по пакетам статистических программ для РС. В качестве критических значений статистических показателей использовали t -критерий Стьюдента или F -критерий Фишера. Достоверность полученных различий оценивали при уровнях значимости более 90% (Плохинский, 1970; Лакин, 1973). При анализе больших выборок ($n > 100$ экз.) пользовались дискриминантным и кластерным методами (Крылова, 1980; Афифи, Эйзен, 1982). Для построения графиков, отражающих общие закономерности процесса, использовали метод скользящей средней (Плохинский, 1970).

В работе использованы следующие сокращения:

Б - базофилы	СДЭ - синдром дефицита энергии
БЛ - бластные клетки	СОЭ - средний объем эритроцита
Г - гемоглобин	СН - сегментоядерные нейтрофилы
Гк - гематокрит	Т - тромбоциты
Л - лимфоциты	УИО - удельный индекс обилия
Лк - лейкоциты	УИИ - удельный индекс интенсивности
Лц - лейкоциты	Э - эозинофилы
Мн - моноциты	Эр - эритроциты
МНН - метамиелоциты нейтрофильные	Ма - среднее значение показателя при адаптивной реакции
МН - миелоциты нейтрофильные	Мп - среднее значение показателя в норме
ОЧН - общее число нейтрофилов	Ms - среднее значение показателя
ПБ - псевдобазофилы	
ПК - пенистые клетки	

ПМ - промиелоциты	при стрессе
ПН - палочкоядерные нейтрофилы	Mr - среднее значение показателя
ПЭ - псевдозозинофилы	при патологиях
СГЭ - содержание гемоглобина в эритроците	mt - доверительные границы вариабильности средней
	Cv - коэффициент вариации

ГЛАВА 2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВИ РЫБ

В главе приводятся данные о морфологии и функциях форменных элементов крови рыб. Кровь, являясь одной из наиболее лабильных тканей, быстро реагирует на действие различных факторов и приводит к восстановлению равновесия между организмом и средой. Гетеротермность и примитивность организации рыб по сравнению с теплокровными определяют значительно более широкую норму их реакции.

Форменные элементы крови рыб представлены тремя группами клеток: эритроцитами, лейкоцитами и тромбоцитами.

Эритроциты овальной формы и имеют ядро. По объему они составляют от 22% (у сеголеток карпа) до 56% (у производителей лосося) к плазме крови. Их количество в 1 мкл равно от 0,5 - 0,6 млн/мкл у лосося до 1,9 - 2,2 млн/мкл у канального сома. Эритропоэз у рыб завершается в периферической крови, в связи с чем в ней циркулирует некоторое количество незрелых клеток этого ряда. Поэтому в крови у исследованных нами пяти видов рыб встречаются эритроциты на всех известных стадиях развития: эритробласты, пронормобласты, базофильные, полихроматофильные и оксифильные эритроциты. Иногда в крови рыб в небольшом количестве встречаются эритропластиды - небольшие округлые участки отшнуровавшейся от эритроцитов цитоплазмы, а также дегенерирующие эритроциты с делящимся навдвое ядром и цитоплазмой.

Главная функция эритроцитов - дыхательная: перенос кислорода и углекислого газа. Эритроциты способны также переносить аминокислоты, принимают участие в регуляции кислотно-щелочного равновесия организма, адсорбируют токсины и антитела, а также принимают участие в ряде ферментативных процессов. Установлено, что в них содержатся все тромбоцитарные факторы свертывания крови (Строганов, 1962; Житенева и др., 1989). Продолжительность жизни эритроцитов может составлять около года (315 дней) и, видимо, зависит от интенсивности функционирования молекул гемоглобина (Золотова, 1989).

Тромбоциты у обследованных нами видов рыб встречаются, в основном, в двух морфологических формах: "голаядерные" и "веретенно-видные". У лососевых (радужная форель, каспийский лосось) отмечаются также крупные овальные. Проведенный подсчет отношения длины к ширине 200 веретенновидных клеток с последующим распределением полученных индексов по классам показал, что клиновидные, веретенновидные, яйцевидные тромбоциты не отличаются резко между собой, а являются промежуточными стадиями. Главной функцией тромбоцитов является свертывание крови (Ellis, 1977). Многие авторы определяют у них фагоцитарную активность (McKinney et al., 1977; Percy, Potter, 1981). А. Эллис (Ellis, 1977) ставит под сомнение наличие этой функции у тромбоцитов рыб. Очевидно, что у рыб фагоцитарная активность тромбоцитов ниже, чем у способных к эндоцитозу лейкоцитов.

Лейкоциты. Форменным элементам белой крови рыб свойственно большое морфологическое разнообразие. По наличию зернистости в цитоплазме их делят на агранулоциты и гранулоциты.

К агранулоцитам относятся лимфоциты и моноциты. Лимфоциты представляют собой клетки с плотным округлым или бухтообразным ядром красно-фиолетового цвета и узким базофильным слоем цитоплазмы, нередко образующим псевдоподии. Обычно их подразделяют на малые, средние и большие по размерам и соотношению ядра и цитоплазмы (Лукьяненко, 1971). В крови обследованных нами рыб встречаются все три категории лимфоцитов. Наиболее многочисленны среди них малые, у которых резко-базофильная цитоплазма узким кольцом окружает плотное красно-фиолетовое ядро. Цитоплазма может быть едва заметной, и тогда клетки кажутся как бы голаядерными. Иногда (чаще в крови форели) в узком ободке базофильной цитоплазмы просматриваются азурофильные гранулы. Л. Д. Житенева и др. (1989) указывает на наличие в этих гранулах липолитических ферментов.

Лимфоциты являются одним из наиболее многочисленных типов клеток в организме рыб и составляют от 75 до 98% всех лейкоцитов в периферическом русле. Исследования иммунологов расширило наши знания морфологии этих клеток и их функциях. Авторадиографическими методами показано, что пролиферирующие клетки лимфоидного ростка у карпа относятся к популяции больших лимфоцитов, малые пребывают в состоянии митотического покоя. Часть лимфоцитов обновляется в пределах трех недель, а часть - в пределах года (Золотова, 1989).

Так же, как и у высших позвоночных, у рыб имеются Т- и В-лим-

фоциты, морфологически не различимы между собой (Кулинич, Галатюк, 1986; Avtalion et al., 1976; Ellis, 1984). В-лимфоциты являются предшественниками плазматических клеток, в то время как Т-лимфоциты ответственны за клеточный иммунитет. В отличие от теплокровных, у рыб лимфоциты синтезируют лишь класс иммуноглобулинов, сходный с IgM млекопитающих (Fänge, 1968). По мнению В.Р.Микрякова (1990), возможна трансформация малых лимфоцитов рыб в макрофаги и плазматические клетки.

Плазматические клетки рыб широким слоем резко-базофильной цитоплазмы напоминают большие лимфоциты (Einszporn-Orecka, 1973). Указывается, что в своем развитии они проходят три стадии: плазмобласта, незрелой и зрелой плазматической клетки (Лукьяненко, 1971; Микряков, 1991.) Плазмобласты и незрелые плазматические клетки участвуют в иммунологических реакциях организма и синтезе антител, с чем связано обилие в их цитоплазме разветвленной эндоплазматической сети (Микряков, Балабанова, 1979). Нами в периферической крови рыб плазматические клетки отмечены у рыб при заболеваниях.

Моноциты у исследованных рыб - довольно крупные клетки (11-14 мкм) с ядром овальной или бобовидной формы. Хроматин в ядре образует грубые тяжи. Серо-голубая цитоплазма занимает большую часть клетки и нередко содержит вакуоли. Моноциты рыб сходны с моноцитами млекопитающих как по гистохимическим и ультраструктурным особенностям, так и по ярко выраженной способности к фагоцитозу (Ellis, 1977). Срок жизни моноцитов в периферической крови рыб - около 60 дней (Золотова, 1989), они обладают большой миграционной способностью. Как активные фагоциты крови они поглощают не столько бактерий, сколько продукты распада клеток и тканей. Существует мнение, что моноциты принимают участие в регуляции иммуногенеза и гранулопоэза. Они влияют на миграционные свойства нейтрофилов, усиливая или ослабляя их. Сообщается о способности этих клеток инактивировать токсины (Житенева и др. 1989).

Гранулоциты рыб, согласно Н.Т.Ивановой (1983), представлены пятью группами, дифференцирующимися из миелобласта: нейтрофилами, псевдозозинофилами, зозинофилами, псевдобазофилами и базофилами. По мере созревания гранулоцитов происходит уплотнение структуры ядра и его сегментация; цитоплазма приобретает характерную грануляцию на стадиях миелоцита и метамиелоцита.

Нейтрофилы обнаружены у всех видов исследованных рыб. Это крупные клетки, цитоплазма которых имеет слабо видимую, пылевидную

зернистость, проявляющуюся при исследовании методом фазового контраста либо при отклонении нейтральной реакции фосфатного буфера при окраске препарата. Форма ядра у миелоцитов овальная или округлая, у метамиелоцитов обычно бобовидная, нередко с чуть заметной вмятиной. У палочкоядерных нейтрофилов ядро удлинено, часто с глубокой выемкой, иногда лентовидное. Ядро сегментоядерных нейтрофилов рассечено на две, редко на три и более долей, соединенных между собой тонкими, едва заметными хроматиновыми нитями. Ядро у нейтрофилов обычно децентрично. У обследованных видов рыб они встречаются в крови в течение всего года и представлены всеми формами онтогенеза.

Способность нейтрофилов старших возрастных групп к фагоцитозу доказана, причем считается, что сегментоядерные нейтрофилы являются весьма активными фагоцитами (Watson et al., 1963; Weinreb, Weinreb, 1969; Siwicki et al., 1985). Косвенным подтверждением этой точки зрения является активное участие нейтрофилов в воспалительных реакциях при инфекционных и инвазионных заболеваниях, при которых они скапливаются в некротизированных участках тканей (Finn, 1970; Roberts, et al. 1969).

К псевдозозинофилам, по Н.Т.Ивановой (1970), относятся амфифильные гранулоциты, у которых гранулы окрашиваются основными и кислыми красителями с преобладанием ацидофилии. У карпа ядра псевдозозинофилов, как правило, округлой или овальной формы, в периферической крови они встречаются не постоянно, их процент возрастает при некоторых патологиях. В крови форели, лосося, осетра и канального сома они не обнаружены.

Гранулоциты с абсолютной ацидофильной зернистостью относятся к эозинофилам. В крови карпа эти форменные элементы представляют собой клетки с плотным овальным или округлым ядром. Цитоплазма заполнена плотно лежащими гранулами зеленовато-оранжевого цвета у костистых и ярко-оранжевого цвета у костно-хрящевых рыб. В периферической крови в зависимости от вида рыб они обнаруживаются либо очень редко (форель), эпизодически (каarp), только у взрослых особей (канальный сом), постоянно (осетр). Фагоцитарная активность эозинофилов рыб отмечена при введении в брюшную полость гуппи и карася бактерий (Jakowska, Nigrelli, 1953; Watson et al., 1963). Сходство реакций эозинофилов млекопитающих и рыб при стрессе, воспалениях и инвазиях свидетельствует об их функциональной близости.

К псевдобазофилам относятся зернистые лейкоциты, гранулы кото-

рых окрашиваются основными и кислыми красителями с преобладанием базофилии и имеют вид довольно крупных хлопьев, иногда почти черного цвета.

Основной отличительной чертой базофилов являются красно-фиолетовые зерна, расположенные на слабо-оксифильном фоне цитоплазмы (Иванова, 1970, 1983). Гранулоциты с базофильной и псевдобазофильной зернистостью у обследованных рыб весьма редки. У осетров они не отмечены ни одним из исследователей. У канального сома базофилы описаны достаточно подробно (Williams, Warner, 1976). В нашем материале базофилы у канального сома были отмечены лишь однажды - при испытании рыбой стресса, при резком перепаде температуры воды. Базофилы у радужной форели впервые описаны как мелонин содержащие пигментные клетки. Указывается на их незначительное число и близкое родство к тучным клеткам (Lehmann, Sturenberg, 1975). В нашем материале у радужной форели они ни разу не обнаруживались. У карпа максимальная доля этих гранулоцитов - 8%. Их численность коррелирует с температурой воды и физиологическим состоянием рыбы. Палочкоядерных и сегментоядерных форм этих гранулоцитов в норме у карпа не обнаружено.

Помимо названных групп гранулоцитов, в крови некоторых видов встречаются своеобразные лейкоциты, которые Н.Т.Иванова (1970) назвала "клетками с вакуолизированной цитоплазмой", или "пенистыми" клетками. Это довольно крупные гранулоциты с сильно гранулированной цитоплазмой. Гранулы бесцветны, и, налегая на плотное, обычно смещенное к краю клетки ядро, они создают впечатление его ажурности.

Н.Т.Иванова (1968), Р.Лестер и Б. Дэниелс (Lester, Daniels, 1976) считают, что пенистые клетки наиболее близки к эозинофилам и соответствуют эозинофилам млекопитающих. Образуются они в кроветворных тканях почек (Barber, Westermann, 1975).

Функции пенистых клеток неизвестны. В крови карпа и канального сома они вторые по численности среди гранулоцитов, у осетра встречаются редко, а у форели и лосося не обнаружены. Младшие их формы отмечали в отпечатках кроветворной ткани почки. В периферической крови у этих видов рыб доминируют клетки на стадии метамиелоцита.

Таким образом, у обследованных видов рыб в периферической крови выявлены все основные клеточные формы, присущие костно-хрящевым и костистым рыбам: эритроциты, тромбоциты, агранулоциты и гранулоциты с оксифильными, базофильными, нейтрофильными и амфифильными,

находящиеся на различных стадиях развития. Состав гранулоцитов отражает систематическое положение вида. В крови карпа встречаются все группы гранулоцитов: нейтрофилы, базофилы, псевдобазофилы, псевдозозинофилы, эозинофилы и пенистые клетки; у осетра и канального сома – нейтрофилы, эозинофилы и пенистые клетки; у форели и кумжи – только нейтрофилы. При патологических состояниях морфология клеток может меняться, об этом более подробно описано в 6 главе.

ГЛАВА 3. СЕЗОННО-ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ РЫБ

Фактор сезонности и определяющие его температурные колебания тесно связаны с активными физиологическими процессами: интенсивностью питания, массонакоплением, половым созреванием и др. Они оказывают заметное влияние на активность гемопоэза, а, следовательно, и на динамику показателей крови. Изучение сезонных и возрастных изменений гематологических показателей проводили у сеголеток и двухлеток карпа, каспийского лосося и радужной форели.

КАРП. В литературе имеется ряд сведений по данному вопросу (Серпунин, 1983; Sopinska, 1983; Попов, 1986; Волкова, 1988; Тромбицкий, Головина, 1989 ; и др.). Более подробно мы занимались исследованием лейкоцитов.

Изучение сезонных изменений в лейкоцитарной формуле сеголеток и годовиков карпа показало, что кровь носит лимфоидный характер. Второй по численности группой клеток являются нейтрофилы. Их процент в зимние месяцы возрастал. В крови карпа постоянно отмечались пенистые клетки (от 2,1 до 9,0%) и моноциты (0,4-16,7%). Эозинофилы, псевдозозинофилы и клетки с базофильной зернистостью встречались эпизодически. Летом и осенью количественные показатели различных групп лейкоцитов более стабильны (табл. 2).

Анализ динамики абсолютной численности различных форм лейкоцитов в крови сеголеток и годовиков карпа показывает, что нейтрофилы других групп менее подвержены количественным сезонным колебаниям. Число лимфоцитов минимально зимой, что и определяет низкое содержание лейкоцитов в крови карпов в этот период.

Анализ лейкоцитарной формулы, проведенный у разновозрастных групп рыб, показал (Головина, 1977), что для крови сеголеток в летний период, по сравнению с двухлетками, наиболее характерным явля-

Таблица 2

Сезонно-возрастная динамика лейкоцитарного состава крови карпа (%)

Возраст	Месяц	БЛ	СЧН	Э, ПЭ, ПК	Б, ПБ	М	Л
0+	Июль	4,5 \pm 0,8	3,0 \pm 0,6	12,5 \pm 3,8	1,3 \pm 0,3	3,0 \pm 0,5	85,0 \pm 2,6
0+	Август	0,62 \pm 0,4	1,5 \pm 0,2	4,2 \pm 1,0	3,4 \pm 0,8	4,1 \pm 0,5	84,5 \pm 1,6
0+	Сентябрь	0	4,0 \pm 1,0	0,0	1,2 \pm 0,6	8,7 \pm 0,9	82,4 \pm 4,7
0+	Октябрь	1,7 \pm 0,7	3,1 \pm 0,7	4,0 \pm 1,6	0,75 \pm 0,7	16,7 \pm 1,8	74,2 \pm 3,9
0+	Январь	1,0 \pm 0,6	6,0 \pm 1,2	0,0	0,0	15,0 \pm 1,6	78,0 \pm 2,1
0+	Март	1,0 \pm 0,5	5,0 \pm 1,0	0,0	2,0 \pm 0,7	2,0 \pm 1,05	89,0 \pm 2,9
I+	Июнь	0	6,3 \pm 0,7	3,6 \pm 0,9	6,2 \pm 0,9	4,0 \pm 0,5	80,5 \pm 3,3
I+	Июль	0 ^x	14,5 \pm 1,1 ^x	4,9 \pm 1,2 ^x	1,3 \pm 0,9	2,7 \pm 0,6	76,7 \pm 3,3
I+	Август	0 ^x	7,7 \pm 0,6 ^x	3,6 \pm 0,8 ^x	9,2 \pm 1,0 ^x	9,6 \pm 1,0 ^x	70,2 \pm 1,8

Примечание: x) - показатель достоверно различается с таковым у сеголетков

ется наличие бластных форм (табл. 2), что объясняется более активным миелопоэзом у рыб на первом году жизни.

Проведенный анализ своих и литературных данных показывает, что возраст оказывает заметное влияние на гематологические показатели рыбы. Эта зависимость проявляется четко при сопоставлении результатов сезонных наблюдений у сеголеток и двухлеток карпа. У последних вариабильность исследованных показателей менее значительна.

Учитывая вышесказанное, нами построен график сезонно-возрастных изменений некоторых показателей крови карпа, который отражает их динамику в первые два года жизни (рис. 2).

КАСПИЙСКИЙ ЛОСОСЬ (КУМЖА). Исследование динамики сезонно-возрастных изменений гематологических показателей проводили в условиях искусственного воспроизводства на Ардонском рыбзаводе.

Статистическая обработка трехлетних первичных материалов от физиологически полноценных и быстро растущих рыб выявила динамику сезонно - возрастных изменений показателей крови молоди лосося (рис. 3, табл. 3). Из представленных результатов видно, что содержание гемоглобина у сеголеток постепенно возрастает от 37 г/л (у ранней молоди) до 70 г/л у сеголеток осенью, достигая максимума в зимние месяцы (около 80 г/л). Число эритроцитов колеблется от 560 до 860 тыс/мкл, находясь в средних пределах около 700 тыс/мкл. Число молодых эритроцитов всегда достаточно велико. Составляя к осени первого года жизни 18 - 20%, их число почти всегда до выпуска в реку остается на этом уровне, что свидетельствует о постоянно активном эритропоэзе. Число лейкоцитов в крови молоди лосося возрастает постепенно, и к концу второго лета оно удваивается. Минимальная активность лейкопоэза отмечается в январе - феврале, когда в периферической крови бластные формы не отмечаются, а моноцитов очень мало (до 1%). С наступлением весны лейкопоэз активизируется, что приводит к увеличению числа всех групп лейкоцитов. На рис. 3 и в табл. 3 приведена динамика сезонно-возрастных показателей, которую можно принять за физиологическую норму.

РАДУЖНАЯ ФОРЕЛЬ. Для выявления закономерностей сезонно-возрастных изменений гематологических показателей наши данные, собранные на Конаковском живорыбном заводе и в других рыбоводных хозяйствах, мы подкрепили материалами, содержащимися в литературе (Остроумова, 1964; Сычев, 1975; Степанова, 1975; Белковский, Лавровский, 1978; Спешиллов, Щукина, 1977; Глаголева, Бодрова, 1979; Канидьев,

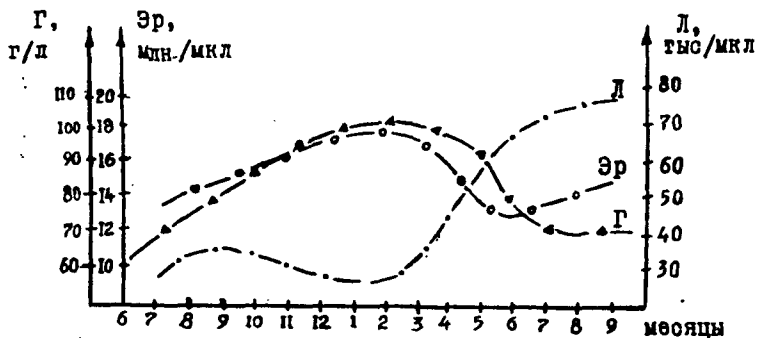


Рис. 2. Сезонно-возрастная динамика гемоглобина (Г), эритроцитов (Эр) и лейкоцитов (Л) у карпа (O+, I, I+).

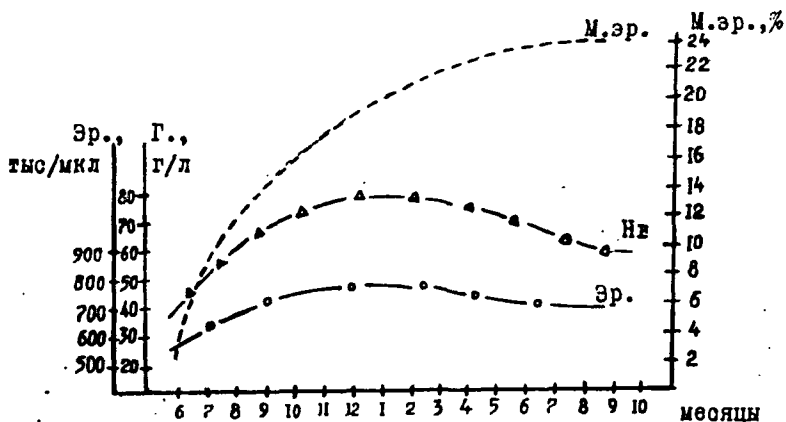


Рис. 3. Сезонно-возрастная динамика показателей красной крови молодежи каспийского лосося

Эр—о— эритроциты
 Hг—△— гемоглобин
 М.эр.— — — молодые эритроциты

Таблица 3

Сезонно-возрастная динамика лейкоцитарного состава молоди
каспийского лосося

Месяцы	Общее число лейкоцитов, тыс/мкл	Лейкоцитарная формула, %			
		Бласты	Нейтрофилы	Моноциты	Лимфоциты
Июнь	77, 3±13, 5	2, 0±0, 2	0, 6±0, 002	0, 1±0, 03	97, 2±1, 2
Июль-август	25, 0±4, 5	2, 0±0, 6	4, 1±1, 3	2, 0±0, 3	91, 9±2, 1
Сентябрь	22, 0±3, 9	2, 5±0, 6	3, 0±0, 8	2, 2±0, 8	92, 3±1, 2
Октябрь-ноябрь	27, 0±4, 8	3, 0±0, 3	2, 5±0, 2	1, 6±0, 2	92, 9±1, 6
Январь	33, 0±6, 0	0	2, 5±0, 3	0, 4±0, 01	97, 1±2, 0
Февраль	36, 0±6, 6	0	2, 6±0, 7	0, 8±0, 09	96, 6±2, 2
Март	39, 0±6, 9	3, 9±0, 6	3, 1±0, 1	3, 2±0, 4	89, 2±1, 8
Апрель	40, 0±7, 2	2, 5±0, 2	2, 5±0, 6	3, 0±0, 4	92, 0±1, 9
Май	42, 0±7, 5	2, 1±0, 1	2, 2±0, 1	2, 7±0, 3	92, 9±0, 8
Июнь	43, 0±7, 8	3, 0±0, 8	4, 9±0, 3	1, 6±0, 1	90, 5±1, 0
Июль	44, 0±7, 8	5, 7±0, 8	5, 8±0, 6	3, 2±0, 3	85, 3±1, 4
Сентябрь	34, 0±6, 0	4, 6±0, 8	4, 7±0, 3	1, 7±0, 1	89, 0±1, 7

1984; Fasaic et al., 1988; Sordyl, 1990; и др.). На рис. 4 приведена сезонно-возрастная динамика гемоглобина и эритроцитов у форели. Содержание гемоглобина колеблется от 60 у сеголеток до 110 г/л у двухлеток. Сезонные колебания проявляются по аналогии с карпом, в частности зимой его концентрация на 20-30% выше летних значений.

Число эритроцитов не претерпевает резких колебаний. От малька до двухлетка их количество постепенно возрастает в пределах от 1,0 до 1,3 млн/мкл, достигая максимума за первые 9 месяцев. Качественный состав эритроцитов изменяется в зависимости от возраста. У сеголеток доля незрелых форм эритроцитов значительно больше, чем у годовиков и двухлеток (рис. 5).

Число лейкоцитов у форели в первые два года жизни возрастает от 17 до 58,9 тыс/мкл. Лейкоцитарный состав крови у сеголеток, годовиков и двухлеток количественно не отличается. Самой многочисленной группой являются лимфоциты. Процент нейтрофилов и моноцитов примерно одинаков. Значимых сезонных колебаний в лейкоцитарной формуле у форели выявить не удалось (табл. 4).

Таким образом, проведенные исследования выявили сезонно-возрастные изменения гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и активности эритро- и лейкопоза у карпа, каспийского лосося и радужной форели, выращиваемых в аквакультуре.

Контроль количества эритроцитов в периферической крови осуществляется выделяемыми в кровь эритропоэтинами и ингибиторами эритропоза, уровень которых определяется прежде всего обеспеченностью организма кислородом, а также характером и интенсивностью обменных процессов, в частности метаболизма железа и белков (Нормальное кроветворение ..., 1976).

Регуляция числа лейкоцитов проводится посредством гормонов, главным образом кортикостероидов. Интенсивность секреции кортикоидных гормонов регулируется адренкортикотропным гормоном (АКТГ), производимым передней долей гипофиза (Mazeaud et al, 1977; Mazeaud, Mazeaud, 1981). К сожалению, сведения о сезонных изменениях интенсивности продукции кортикостероидов у рыб к настоящему времени еще недостаточно полны. Разумеется, регуляция численности клеток крови рыб чрезвычайно сложна и обусловлена рядом причин, которые требуют специальных исследований. Однако выявленные на трех видах рыб (карп, форель и лосось) сезонно-возрастные закономерности позволяют предполагать, что температура и активность гормонов являются основ-

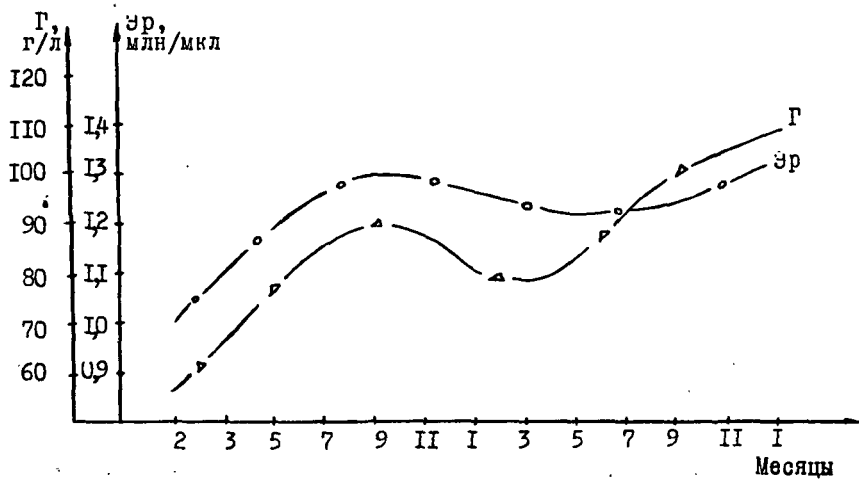


Рис. 4. Сезонно-возрастная динамика гемоглобина (Г) и эритроцитов (Эр) у форели (0+, I, I+).

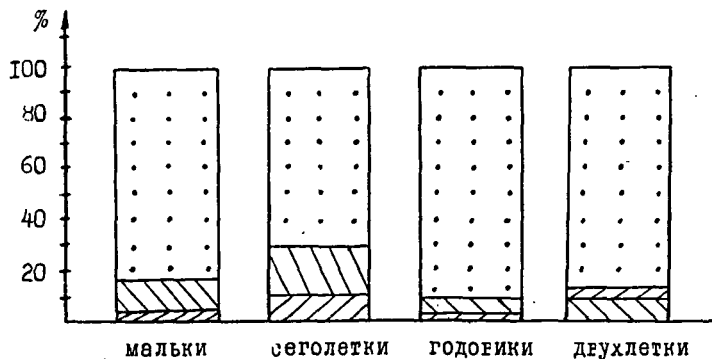


Рис. 5. Эритроцитарный состав крови форели

- базофильные эритроциты
- полихроматофильные -"
- оксифильные -"

ными факторами, определяющими внутривидовые особенности. Их необходимо учитывать при определении диапазона физиологической и технологической нормы, используемой при контроле за физиологическим состоянием рыбы.

Таблица 4
Гематологические показатели форели разного возраста

Показатели	Мальки	Сеголетки	Годовики	Двухлетки
Г, г/л	67,0±3,6	72,0±1,0	97,9±0,6	87,0±0,8
Эр, млн/мкл	1,08±0,4	1,15±0,08	1,21±0,1	1,23±0,04
Гк, л/лх10 ⁻²	32,0±4,0	35,0±1,0	49,0±2,0	33,0±3,0
Эр, % :				
базофил.	1,3 ±0,1	1,6 ±0,08	1,3 ±0,04	0,3 ±0,02
полихр.	13,6±1,0	17,0±1,3	8,7 ±0,8	2,7 ±0,1
Лц, тыс/мкл	17,0±3,5	58,7±6,4	58,9±5,3	39,0±1,4
ОЧН, %	2,6 ±0,1	4,8 ±0,3	5,0 ±0,5	5,3 ±0,2
М, %	6,4 ±0,6	5,0 ±0,3	4,9 ±0,8	2,1 ±0,1
Л, %	91,0±3,2	90,2±2,3	90,1±1,8	92,6±0,9

ГЛАВА 4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЫБЫ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Пресноводная аквакультура и ее основные направления - пастбищное, прудовое и индустриальное - включают ряд биотехнических приемов и методов, направленных на повышение рыбопродуктивности. В основу выращивания рыбы должен быть положен принцип наиболее полного удовлетворения ее физиологической потребности. Количественные показатели взаимоотношений между физиологическими потребностями организма и лимитирующими факторами условий выращивания, имеющиеся в любой биотехнике, должны быть объективными и доступными. Одним из них является картина крови, различные характеристики которой могут удовлетворять этим требованиям.

В прудовом рыбоводстве повышение плотности посадки рыбы явля-

ется наиболее распространенным способом повышения рыбопродуктивности. Для оценки влияния этого фактора на показатели белой крови нами прослежены изменения в лейкоцитарной формуле у сеголеток, выращенных при невысокой плотности посадки - 10 тыс.шт./га, рассчитанной на потребление естественных кормов, и уплотненной - 100 тыс.шт./га. Лейкоцитарная формула сеголеток карпа, выращенных при разреженной посадке, характеризовалась наличием небольшого числа бластных форм. Почти все группы лейкоцитов обнаружены в июле и августе, что говорит об активном лейкопоэзе. С осени из гранулоцитов постоянно встречались лишь нейтрофилы, причем больший процент из них приходился на метамиелоциты и палочкоядерные формы. Другие категории гранулоцитов с понижением температуры становились более редкими. Более постоянным было число агранулоцитов. При этом лимфоциты составляли 70-80% всех лейкоцитов, а доля моноцитов в течение сезона постепенно возрастала. Плотность посадки, существенно отразившись на темпе весового прироста рыбы (конечная навеска 30 и 10 г соответственно), не могла не сказаться на его кроветворной функции. Прежде всего, в крови сеголеток из пруда с плотной посадкой не обнаружены бластные формы, но в течение всего сезона отмечали псевдобазофилы и нейтрофилы (3,5 и 15,5 % соответственно), то есть гранулопоэз у них более активен. Очевидно, что при замедленном росте рыб резистентность их ниже, что скажется в условиях напряженной зимовки.

Поскольку увеличение плотности посадки всегда связано с использованием комбикормов, наблюдения по влиянию плотности посадки на лейкоцитарную формулу двухлеток карпа проводили в течение лета в трех прудах, отличающихся по плотности посадки и кормлению (150 шт/га, естественный корм; 450 шт/га, комбикорм; 5 000 шт/га, комбикорм). Лейкоцитарная формула двухлеток карпа, выращенных в условиях, приближенных к естественным, содержит все категории гранулоцитов, из них нейтрофилы составляют больший процент, а эозинофилов очень мало. Процент моноцитов в лейкоцитарной формуле к концу сезона увеличивается.

Лейкоцитарная формула у рыб из прудов, где их кормили комбикормом в течение сезона, имеет небольшие колебания. Результаты опытов были подвергнуты дисперсионному анализу. Он показал, что плотность посадки не оказывает существенного влияния на лейкоцитарную формулу (до 27,0%), в то же время кормление рыбы комбикормом активизирует лейкопоэз. В течение лета (июнь, июль, август) его влияние на лей-

коцитарный состав достаточно высок (27-67% на нейтрофилы, 42-47% - базофилы, 40-72% - эозинофилы и 54-81% - лимфоциты).

Подводя итог, можно сказать, что влияние плотности посадки при обеспеченности рыбы комбикормом у сеголеток более выражено, чем у двухлеток, и проявляется в снижении показателей красной крови и усилении гранулопозза.

Эффективное использование сбросных теплых вод ТЭЦ и АЭС возможно лишь при решении вопроса регуляции температур. Наличие даже незначительных ее перепадов, связанных с режимом работы электростанций, вызывает у карпов изменение обменных процессов и гематологических показателей - числа эритроцитов и лейкоцитов (Головина, Головин, 1994).

Таким образом, величина гематологических показателей в значительной мере определяется условиями выращивания рыбы. Поскольку одной из задач рыбоводства является отработка и освоение высокоинтенсивных методов, то при разработке гематологической нормы следует согласиться с позицией О.П. Попова (1986), который считает, что при ее отработке необходимо принять такой уровень интенсификации (плотность посадки, кормление, удобрение и др.), который обеспечивает достаточно высокий среднесуточный прирост массы. В наших исследованиях для этих целей мы анализировали материалы, полученные от карпа, выращиваемого при различных технологиях. При этом использовали такой уровень интенсификации, который обеспечивал оптимальный весовой прирост рыбы при данной технологии. Степень его соответствия стандартной модели роста равна экологическому коэффициенту 0,5 - 0,7 (Толчинский, 1980).

В табл. 5 представлены гематологические показатели сеголеток карпа, выращенных при различных технологиях. Для сравнения использован материал от двадцатиграммовых карпов, выращенных примерно при одной и той же температуре (в прудах - 22°С, садках, бассейнах - 24°-26°С, УЗВ -24°С). При этом полученные результаты отличаются друг от друга, так как отражают технологические особенности выращивания и уровень адаптивной реакции показателей крови.

Наглядным примером такой адаптации могут служить исследования показателей крови рыб, при их выращивании в установках с замкнутым водообменом (УЗВ). Проведенные нами исследования показывают, что повышенный темп роста, характерный для карпа, выращиваемого в УЗВ, сопровождается более низким содержанием гемоглобина и числа эритроцитов, чем у рыб такой же массы, выращиваемой в прудах (табл. 5).

Таблица 5

Гематологические показатели сеголеток карпа,
выращенных при различных технологиях

Показатели	П р у д ы		Садки	Бассейны	УЗВ
	Экстенсивная технология	Интенсивная технология			
Гемоглобин, г/л	85,1 \pm 2,3	78,1 \pm 4,5	89,0 \pm 2,4	75,4 \pm 4,3	59,5 \pm 3,4
Эритроциты, млн/мкл	1,5 \pm 0,004	1,35 \pm 0,4	1,09 \pm 0,04	1,3 \pm 0,2	1,0 \pm 0,04
Гематокрит, л/л $\times 10^{-2}$	39,9 \pm 1,1	36,2 \pm 0,2	35,4 \pm 0,2	34,1 \pm 1,0	30,6 \pm 1,6
СГЭ, пг	56,7 \pm 2,7	46,3 \pm 1,9	81,6 \pm 2,3	58,0 \pm 4,0	59,6 \pm 1,6
СОЭ, мкм ³	268,7 \pm 10,6	342,5 \pm 2,8	324,7 \pm 2,7	349,6 \pm 7,3	303,3 \pm 0,9
Лейкоциты, тыс/мкл	24,5 \pm 4,3	37,5 \pm 5,2	41,0 \pm 4,5	39,4 \pm 4,3	52,7 \pm 0,2
Лейкоцитарная формула: %					
Бласты	0,6 \pm 0,4	0	0,4 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	2,1 \pm 0,3
Нейтрофилы	1,6 \pm 0,2	15,5 \pm 1,6	3,2 \pm 1,0	2,8 \pm 0,7	2,0 \pm 0,3
Эозинофилы и псевдоэозинофилы	3,7 \pm 1,2	4,0 \pm 0,09	0	0	0
Базофилы и псевдобазофилы	3,6 \pm 0,8	3,5 \pm 1,4	0	1,0 \pm 0,5	1,6 \pm 0,4
Пенистые клетки	0,7 \pm 0,3	4,0 \pm 0,7	1,9 \pm 0,4	1,6 \pm 0,4	1,2 \pm 0,3
Моноциты	4,2 \pm 0,5	8,8 \pm 1,5	3,0 \pm 0,5	2,7 \pm 0,7	2,5 \pm 0,4
Лимфоциты	85,8 \pm 1,6	66,2 \pm 4,9	78,1 \pm 0,9	90,2 \pm 1,4	90,6 \pm 0,9

Особенно значительны эти различия (почти в 2 раза) для молоди до 20 г. Выявленная анемия, вероятно, объясняется запаздыванием в развитии кроветворной системы, возникающим на фоне интенсивного соматического роста рыбы. Очевидно, высокое содержание кислорода в воде позволяет даже невысокому уровню гемоглобина обеспечивать активно протекающие в организме метаболические процессы.

По мере роста рыбы и формирования кроветворных органов направленность адаптивных реакций из частично гипофункциональных переходит к частично гиперфункциональным. Так при товарном выращивании карпа в УЗВ концентрация гемоглобина постепенно возрастает от 77,9 до 105,8 г/л, достигая максимально высоких для карпа значений - 121,6 г/л.

Аналогичные результаты получены в ходе проведения исследований по отработке технологии выращивания канального сома в УЗВ. Достигая за 165 суток товарной массы и выхода продукции 100-120 кг/м³ с единицы объема рыбоводной емкости (Гепецкий, 1991), рыба росла без резких колебаний показателей гемоглобина (59,0±2,0 г/л) и общего белка (64,0±1,2). Гематокритная величина постепенно возростала (с 27,5 до 55,6 л/л x10⁻²), что связано с изменением размеров эритроцитов (они становятся более крупными), увеличивается и их оснащенность гемоглобином (до 31,6 пг). Сопоставление этих результатов с имеющимися в литературе данными (Breazile et al., 1982) показывает, что у сомов, выращиваемых в прудах, значение всех показателей на 30-40% ниже, чем в наших наблюдениях.

Полученные результаты показывают, что выращивание рыбы в УЗВ сопровождается рядом адаптивных реакций системы крови. У молоди наблюдается физиологическая анемия, которая по мере роста рыбы компенсируется. В дальнейшем для обеспечения более интенсивного протекания обменных процессов, ведущих к повышенному массонакоплению, гемопоэз активизируется, что приводит к полицитемической гиперволемии, то есть увеличению количества крови за счет преимущественного увеличения количества эритроцитов.

Самым сложным вопросом индустриального рыбоводства является проблема кормления (Остроумова, 1977, 1979; Канидьев, Гамыгин, 1983). При разработке искусственных диет, особенно при составлении рецептов гранулированных кормов, физиологический контроль за состоянием рыб, потребляющих комбикорма, является совершенно необходимым. В процессе исследования физиологического состояния рыб, получающих искусственные корма, выделена группа показателей наиболее

чувствительных к неполноценности пищи (Остроумова, 1979). Это содержание гемоглобина, число эритроцитов, активность эритропоэза и лейкопоэза, белок сыворотки.

Исследования двухлеток "дикой" радужной форели из р. Черная и из прудов форелевого хозяйства "Черная Речка" показали, что содержание гемоглобина, число эритроцитов и гематокрит на 15-20% выше у рыб из реки, чем у форели, выращиваемой в хозяйстве. Активность эритропоэза у "дикой" рыбы несколько ниже. То есть у рыб, содержащихся на комбикорме, доля молодых эритроцитов 13-18%, тогда как у "дикой" она не превышает 9%.

Убедительные данные получены по материалу от производителей каспийского лосося. Гематологические показатели у отловленных из р. Терек рыб характеризуются высоким содержанием гемоглобина (около 100 г/л), большим количеством эритроцитов (1,05 млн/мкл), которые представлены в основном зрелыми формами. У ремонтно-маточного стада лососей, выращиваемого на заводе содержание гемоглобина не превышало 92 г/л, число эритроцитов 0,90 млн/мкл, число молодых эритроцитов достигает иногда 38,6%.

Таким образом, кормление рыбы комбикормом формирует в организме ряд адаптивных реакций, одной из которых является незначительная (компенсаторная) анемия. Ее не следует путать с анемией, наблюдаемой у рыб при алиментарных токсикозах.

Разнообразные адаптивные реакции крови отмечены по результатам товарного выращивания форели в индустриальной аквакультуре. Оценку физиологических показателей проводили в шести различных рыбобоводных хозяйствах. В двух садковых морских фермах Белого моря: "Ковда" (соленость воды - 19 ‰) и "Княжая" (соленость воды - 14 ‰) и четырех пресноводных, из которых на Конаковском заводе (сбросная вода ГРЭС) и на форелевом хозяйстве "Адлер" - рыбу выращивают в бассейнах, на "Кольском" хозяйстве - в садках, на озере Имандра (сбросная вода АЭС) и хозяйстве "Черная речка" (водоисточник р. Черная) - в прудах.

Проведение дисперсионного анализа данных, полученных в различного типа хозяйствах ("Черная речка", "Адлер", "Кольское" и "Конаково"), показало, что условия выращивания рыбы (пруды, бассейны и садки) не оказывают существенного влияния на содержание гемоглобина (17%), число эритроцитов (2,6%), гематокрит (2%) и число лейкоцитов (22%). Более значимой для числа лейкоцитов оказалась температура воды (54%).

Достоверно можно сказать, что у двухлеток, выращиваемых при 15–16°С (ф/х "Адлер", "Черная речка"), число лейкоцитов на 22–28% выше, чем у рыб, содержащихся при 12–13°С (Кольское ф/х). Сопоставление материала из садковых хозяйств с различной соленостью ("Кольское", "Княжая" и "Ковда") показало, что в 55% случаев на снижение числа лейкоцитов влияет увеличение солености воды, для других показателей крови ее влияние менее значительно (менее 20%). То есть проведенные на форели исследования выявили, что тип ведения хозяйства (прудовое, садковое и бассейновое) не оказывает существенного влияния на величину гематологических показателей у товарной форели, более значимо влияние температуры воды и ее солености.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют, что показатели крови объективно отражают гомеостатические адаптивные процессы, протекающих в организме. Они имеют высокие коррелятивные связи с плотностями посадки, кормлением, температурным режимом и другими факторами, влияющими на нормальный рост и развитие. Гематологические показатели рыб, выращенных при различных технологиях, иллюстрируют ряд таких адаптаций. За технологическую норму, рекомендованную для оперативного контроля за физиологическим состоянием выращиваемой рыбы, следует принять такой уровень гематологических показателей, который обеспечивает не только равновесие организма и среды обитания, но и его оптимальный весовой прирост.

ГЛАВА 5. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЫБ ПРИ СТРЕССЕ

В условиях высокоинтенсивного выращивания рыбы систематически подвергаются действию экстремальных факторов: неблагоприятных изменений кислородного и гидрохимического режима, резких колебаний температуры, травматизации при облове, транспортировке и медикаментозных обработках, кормления неполноценными кормами. Влияния экзометаболитов при переуплотненных посадках и т. д.

Общий адаптационный синдром у рыб, независимо от вида стрессора, характеризуется первичными и вторичными эффектами (Mazeaud, Mazeaud, 1981). К первичным относятся повышение в крови концентрации катехоламинов, главным образом адреналина и кортикостероидов, преимущественно кортизола. Вторичными реакциями являются возрастание в крови концентрации глюкозы и молочной кислоты, лейкопения, лимфопения, эозинопения, нейтрофилия (Ellis, 1981; Mazeaud, Mazeaud, 1981; Головин, 1984; Восилена М.Е., 1987; Крепис, 1989; Лебедева, Головина, 1987; 1993).

В наших опытах определяли изменения в картине крови сеголеток и двухлеток карпа при действии следующих наиболее часто встречающихся в рыбоводстве стресс-факторов: облова, имитации перевозки и теплового шока. Динамику восстановления показателей крови изучали после действия обловного стресс-фактора через 1, 3, 8, 13 и 20 суток.

Характер выявленных при действии различных стрессоров изменений показателей красной крови неоднозначен и зависит от вида стресс-фактора. Очевидно, их следует отнести к адаптивным реакциям системы крови на неблагоприятные условия среды, направленным на поддержание гомеостаза. Использование этих параметров для диагностики стресса, по-видимому, бесперспективно.

Наиболее значительные изменения при однократном действии стресс-факторов отмечены в картине белой крови – возрастание лейкокрита, числа тромбоцитов, лейкоцитопения. При этом изменения в лейкоцитарной формуле, в основном, относятся к числу лимфоцитов, моноцитов и пенистых клеток. Лейкопения характеризуется лимфопенией и повышением числа пенистых клеток.

В рыбоводной практике чаще имеет место не однократное и кратковременное, а многократное и длительное воздействие какого-либо стрессора или нескольких стресс-факторов одновременно. Поэтому изучение физиологического состояния рыбы в этих условиях имеет определенное практическое значение.

Исследования были проведены на двухлетках карпа, которые в течение 18-и дней испытывали хэндлинг. При многократном длительном действии стресс-фактора на карпа отмечено значительное снижение величины лейкокрита, числа тромбоцитов и лейкоцитов (табл.6). Также отмечены лимфопения и моноцитопения. В лейкоцитарной формуле увеличен процент нейтрофилов.

При товарном выращивании канального сома в УЗВ проведение сортировки и пересадки в другой силос приводит к увеличению содержания гемоглобина (с 54 до 74 г/л), снижению гематокритной величины (с 47,7 до 38,0 л/л $\times 10^{-2}$) и числа лейкоцитов (с 59 до 22 тыс/мкл).

Резкое понижение температуры воды (12°C против 24°C в силосах) не изменило показателей красной крови, однако число лейкоцитов сократилось в 2 раза. Из табл.6 видно, что стресс от холодной воды появился в резком снижении числа лейкоцитов и их перераспределении: исчезновении бластов, увеличении доли промиелоцитов и нейтрофилов и снижении лимфоцитов. Реакция крови у канальных сомов имеет общие

черты со стресс-реакцией карпа.

Специально поставленные эксперименты позволили выяснить, что восстановление показателей красной крови после действия обловного стресс-фактора у двухлеток карпа происходит в течение 3 суток. Число тромбоцитов и уровень лейкокрита сразу после стрессирования резко возрастают, а затем в течение 1-3-х суток столь же резко снижаются. Их восстановление завершается на 20-е сутки. Лейкоциты снижаются за счет лимфоцитов и моноцитов и достигают минимальных значений на третьи сутки, а приходят к норме только к концу третьей недели наблюдений.

Таким образом, обычные для индустриального рыбоводства биотехнические приемы, как облов, транспортировка, а также резкие колебания температуры воды, вызывают глубокие физиологические изменения в организме рыб, характерные для стресс-реакции. Оценка их возможна с помощью гематологических показателей. При этом наиболее характерной реакцией крови у рыб при стрессе, как и у других позвоночных животных, является резкое (в 2-3 раза) снижение числа тромбоцитов, лейкокрита и числа лейкоцитов.

Развитие общего адаптационного синдрома в стадии тревоги и резистентности направленно на повышение устойчивости организма рыб к действию стресс-фактора. В то же время в стадии истощения эта реакция затрагивает иммунокомпетентные группы клеток крови - лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы, что, в сочетании с относительно длительным периодом их восстановления после стрессирования, должно отражаться на резистентности рыбы и её восприимчивости к возбудителям заболеваний.

ГЛАВА 6. КАРТИНА КРОВИ РЫБ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Успешная борьба с болезнями рыб зависит от своевременной и правильной постановки диагноза. Только данных гематологического анализа обычно недостаточно для определения причины заболевания, однако, с их помощью можно судить о характере и глубине патологического процесса, степени патогенности возбудителя. Сведения об изменениях в картине крови при патологических состояниях дают возможность углубить представления о патогенезе изученных заболеваний и взаимоотношениях компонентов системы паразит-хозяин.

В главе представлены развернутые материалы о динамике изменений показателей крови при наиболее распространенных заболеваниях,

Таблица 6

Изменение гематологических показателей карпа
и канального сома при стрессе

Показатели	Карп		Канальный сом	
	Контроль	Хэндлинг	Контроль	Температурный стресс
Эр. , млн/мкл	1,8 ±0,08	1,20±0,02*	2,2±0,2	1,9±0,1
Г. , г/л	77,0±2,4	81,9±2,8	61,0±1,4	59,0±1,7
Гк. , л/лх10 ⁻²	47,7±1,2	43,9±0,7*	47,7±1,5	55,6±2,3
Лк. , %	2,1 ±0,1	1,0 ±0,2*	-	-
Тр. , тыс/мкл	41,6±2,9	20,5±2,1*	-	-
Лц. , тыс/мкл	76,2±3,9	56,0±3,1*	44,0±1,0	40,0±0,9
МН, %	0,35±0,1	1,8 ±0,3*	-	-
ММН, %	1,3 ±0,1	2,2 ±0,4	-	-
ПН, %	0,65±0,1	2,0 ±0,3*	-	-
СН, %	0,4 ±0,1	1,8 ±0,3*	-	-
ОЧН, %	2,7 ±0,2	8,0 ±0,9*	6,4±0,3	14,3±1,7*
ПК, %	4,3 ±0,4	2,5 ±0,4*	0	0,4±0,03*
М, %	3,8 ±0,3	4,3 ±0,3	4,7±0,2	7,4±1,3*
Л, %	89,2±0,7	85,2±1,1*	85,8±3,4	65,4±2,6*

встречающихся при выращивании рыб в аквакультуре: миксобактериозе молоди осетра, аэромонозе, бранхиомикозе, воспалении плавательного пузыря карпа, криптобиозе каспийского лосося, хилодонеллезе, ихтиофтириозе, дактилогирозе, ботрицефалезе, синдроме дефицита энергии, газопузырьковой болезни у карпа и некоторых алиментарных токсикозах рыб. В реферате приведен только обобщенный анализ полученных результатов.

В ихтиопатологической литературе дискутируется вопрос о степени специфичности изменений гематологических показателей при различных заболеваниях для использования их в диагностических целях. Безусловно специфичной можно считать морфологическую картину при ВПП (сфероспорозе) карпа и криптобиозе лосося, когда в мазках крови обнаруживается возбудитель. На основании этого можно ставить диагноз

задолго до появления клинических признаков острого течения. Сложнее вопрос о выявлении специфических сдвигов в числе лейкоцитов, характеризующих патогенез того или иного заболевания.

Для их выяснения исследовали кровь от рыб с типичными клиническими признаками при острой форме болезни. Исследования показали, что при каждом из них формируется комплекс отклонений в красной, и особенно в белой, крови отражающий специфику патологического процесса.

Миксобактериоз молоди осетра сопровождается полихроматофильной анемией и лейкоцитозом, за счет выброса в кровь бластов, нейтрофилов и лимфоцитов. Аэромонос карпа характеризуется анемией и лейкопенией. Последняя проявляется в снижении всех групп нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов и резким увеличением промиелоцитов и макрофагов. При бранхиомикозе отмечаются нормохромная анемия, анизоцитоз, моно- и лимфоцитоз.

Наличие в мазках крови клеток Чабя является диагностическим признаком ВПП карпа. Острая форма заболевания сопровождается анемией и лейкоцитозом, вызванным увеличением базофилов, моноцитов, лимфоцитов.

Диагностическим признаком криптобиазы лососей является обнаружение более 25 гемофлагеллят на 1000 эритроцитов. При острой форме заболевания (более 100 экз./1000 эр.) развивается резко выраженная анемия и лейкопения. Последняя проявляется как моно- и лимфопения.

Гематологическая картина при хилодонеллезе зависит от сезона. При зимних эпизоотиях она характеризуется полихромазией, нейтропенией со сдвигом ядра в лево и лимфоцитозом. Летом показатели красной крови не меняются, а отмеченный лейкоцитоз сопровождается нейтро- и моноцитозом на фоне лимфопении. При ихтиофтириозе карпа отмечается полихромазия, анизоцитоз и лейкопения, которая характеризуется как лимфопения, на фоне увеличения числа гранулоцитов и сдвига ядра нейтрофилов влево.

Дактилогироз сеголеток карпа, вызываемый *Dactylogyrus vastator*, сопровождается полихроматофильной анемией, моно- и лимфопенией на фоне эозинофилии. При некрозе жабр двухлеток карпа, вызванном *D. extensus*, выявлены полихромазийная анемия, нейтро-, моно-, и лимфопения и эозинофилия. Исследования, проведенные при батрицефалезе карпа, показали его высокую патогенность, но специфической однотипной картины крови, при исследованных уровнях заражения, нами не отмечено.

Поражение гемопозитических органов при газопузырьковой болезни приводит к функциональной эритро- и лейкопении.

Острая форма алиментарного токсикоза лососей сопровождается микроцитарной базофильной анемией, нейтро- и лимфопенией. Подострый экспериментальный Т-2 токсикоз карпа вызывает нейтрофилёз со сдвигом ядра влево, а хроническая интоксикация рыбы - частичную анемию. Экспериментальный острый ДОН-токсикоз вызывает эритро- и лейкопению, которая сопровождается снижением лимфоцитов (лимфопения) и увеличением эозинофилов.

Специфических изменений в картине красной и белой крови при синдроме дефицита энергии (СДЭ) или вертеже карпа не отмечается. Наиболее значимо снижение общего белка и изменения ионного состава (K^+ , Na^+ , Ca^{+2}) в сыворотке.

Выявленные изменения в числе лейкоцитов расширяют имеющиеся представления об их участии в иммунном ответе. Несомненно, что возбудитель путем как прямого воздействия на организм рыб, так и выделяемыми им токсинами, продуктами метаболизма вызывает у хозяина возбуждение и в первую очередь лимфоидно-микрофагального звена. Отмечаемый лейкоцитоз (при ВПП, бронхиомикозе карпа, миксобактериозе осетра и др.) связан с увеличением числа таких иммуоцитов, как моноциты и лимфоциты. При аэромонозе карпа в периферическом русле отмечаются макрофаги, а при криптобиозе лосося ещё ретикулярные и плазматические клетки.

Одним из проявлений неспецифической реакции крови является анемия. Она характеризуется снижением концентрации гемоглобина и числа эритроцитов, затрагивая эритропоз. Наблюдаемая у рыб анемия имела различный характер и степень тяжести или стадии, если придерживаться классификации И. Н. Остроумовой (1957).

Кормление рыбы комбикормом формирует в организме ряд адаптивных реакций. На примере выращивания товарного карпа, форели и ремонтно-маточного стада каспийского лосося показано, что даже при самых благоприятных условиях кормления комбикормом содержание гемоглобина, число эритроцитов у них несколько ниже, а активность эритропоза - выше, чем у рыб, находящихся на естественных кормах. То есть в таких случаях формируется незначительная компенсаторная алиментарная анемия 1 степени.

При алиментарном токсикозе у молоди лосося снижение гемоглобина и числа эритроцитов происходит в 1,5-2 раза. Последние более чем на 50% представлены молодыми формами. При этом базофильные эритроциты значительно меньших размеров (микроциты), что свидетельствует

о высокой активности гемопоэза и массовом выбросе бластных форм из депо. То есть воздействие на рыб токсинов, содержащихся в кормах вызывает анемию II степени, при этом содержание гемоглобина и число эритроцитов низкое, а эритропоэз достаточно активен. В то же время сдвиг в числе лейкоцитов незначителен, что свидетельствует о наличии резервов в организме и обратимости возникшей анемии. Вышеназванные анемии связаны с нарушением обменных процессов, в том числе с нарушениями метаболизма белков и являются регенеративными.

Не менее интересна группа анемий, возникающих на фоне снижения обеспеченности организма кислородом в результате поражения органов дыхания рыб - то есть жабр и кожных покровов. Среди них различали анемию I степени при низких уровнях заражения икhtiофтириусами, дактилогирусами и хронической интоксикации Т-2 токсином.

Анемию II степени отмечали у карпа при ВПП, бронхиомикозе, некрозе жабр, вызванном дактилогирусами, у молоди осетровых - при миксобактериозе, у лосося - при криптобиозе, то есть при острых формах течения инфекционных и инвазионных заболеваний. Она характеризуется анизоцитозом, полихромазией и сопровождается резким сдвигом в числе лейкоцитов.

Поражение органов кроветворения при остром ДОН-токсикозе и ГПБ приводит к анемии, которую можно отнести к функциональным. Она сопровождается эритро- и лейкопенией, без патологических изменений в морфологии клеточных элементов периферической крови.

Продолжительное премортальное состояние, наблюдаемое нами при бронхиомикозе и аэромонозе карпа, криптобиозе лосося, связано с формированием острых гемолитических анемий (III степени). Они характеризуются не только низким уровнем гемоглобина и числа эритроцитов, но и массовым гемолизом клеток крови, который возникает в одних случаях в результате непосредственного воздействия на эритроциты патогенного фактора (возбудителя), в других - под действием гемолитического яда или гемолизина, которые, по-видимому, могут вырабатываться так же в организме рыб в ответ на присутствие патогенов или продуктов их метаболизма.

При различных патологических состояниях в крови можно встретить морфологически измененные клеточные элементы (как эритроциты, так и лейкоциты). Основные клеточные патологии у рыб описаны (Житенева и др.; 1989), мы наблюдали некоторые из них.

Гиперсегментацию ядра у базофилов карпа при ВПП, у нейтрофилов при криптобиозе лосося. Хроматолиз, пикноз, кариорексис и другие патологии ядра и лизис клеток характерны для гемолитической анемии

при бронхиомикозе карпа, криптобиозе лосося, миксобактериозе осетра.

Вакуолизация - это одна из наиболее распространенных патологий, встречается как в ядре, так и в цитоплазме. Наличие её в ядре указывает на тяжесть протекаемого процесса. Это наиболее распространенная патология может сочетаться с другими структурными изменениями клеток. В периферической крови рыб вакуолизация клеток отмечается не только при заболеваниях, но при стрессе.

Изменение зернистости у гранулоцитов возникает при различных заболеваниях. При этом может меняться форма, размеры и цвет гранул. Мы наблюдали изменения формы и цвета гранул нейтрофилов при ихтиофтириозе и у псевдоэозинофилов при микотоксикозе карпа.

Другой областью успешного применения гематологических исследований является использование их для характеристики отношений в системах паразит - хозяин. В их основе лежит с одной стороны степень патогенности возбудителя, с другой физиологическое состояние хозяина. Патогенность возбудителя обычно коррелирует с эволюционным возрастом системы (Гусев, Шульман, 1979).

Антропогенный пресс оказывает своё влияние на взаимоотношения между возбудителем и рыбой. Изменяя степень патогенности, вирулентности возбудителей и даже специфичность паразитов, он, в условиях аквакультуры, способствует формированию ряда адаптивных, а иногда и стрессовых реакций крови хозяина, приводит к снижению его резистентности.

Мы проследили характер взаимоотношений в 4 паразито-хозяинных системах: *Ichthyophthirius multifiliis* - карп, *Dactylogyrus vastator* - карп, *Dactylogyrus extensus* - карп и *Bothriocephalus opsarichthydis* - карп. При этом решались две задачи. Первая - выясняли патогенное воздействие паразитов на организм карпа. Вторая - определяли уровень интенсивности инвазии, при котором у рыбы ещё не наблюдается существенных отклонений физиологических показателей. Для этого кроме гематологических показателей использовали биохимические, морфофизиологические и рыбоводные параметры.

Характер взаимоотношений в системах ихтиофтириус - карп и дактилогирius - карп сложился в длительной совместной эволюции (Бауер, 1958) и находится во взаимном равновесии. Их паразитирование в небольшом количестве вызывает только ряд адаптивных изменений в картине крови. При выращивании рыбы в аквакультуре факторы антропогенного влияния и другие причины приводят к снижению резистентности и реактивности хозяина. Происходит нарушение равновесия в системе в пользу паразита, возникают вспышки численности возбудителя, которые

без терапевтического вмешательства приводят к заболеваниям и даже гибели карпа.

Полученный нами в ряде хозяйств материал и результаты модельных экспериментов от рыб с различным уровнем зараженности этими паразитами были подвергнуты разнообразной статобработке.

Метод кластерного анализа позволяет распределить весь массив данных на группы, в которых определенный уровень зараженности паразитами вызывает сходные отклонения в картине крови. В единую группу объединяются особи с близкими изменениями физиолого-биохимических показателей. Поскольку в анализируемом материале всегда имеется контрольная, незараженная группа рыб, то к ней присоединяются особи с минимальными отклонениями в организме, а имеющийся у них уровень зараженности может считаться пограничным. На рис. 6 дана дендрограмма распределения рыб по группам в зависимости от уровня зараженности ихтиофтириусом. В данном случае пограничной является группа с уровнем инвазии 40 экз/рыбу массой 20 г. При проведении аналогичных исследований на карпе средней массой 10, 15, 25, 50 и 90 г. были определены пограничные значения средней интенсивности инвазии инфузорий: 22, 34, 114 экз/рыбу.

Наличие пограничных интенсивностей инвазии, которые вызывают минимальные отклонения в организме, для рыб разной массы позволяет нам объединить эти два показателя в один стандартный коэффициент. Мы предлагаем использовать в качестве такого критерия, связывающего массу рыбы и ее зараженность, удельный индекс интенсивности (УИИ), по аналогии с удельным индексом обилия, предложенным А. А. Шигиным (1980) для диплостомид. Он определяется отношением средней интенсивности инвазии к массе зараженной рыбы, т.е. количеством обнаруженных паразитов на 1 г массы рыбы. Пороговые или пограничные значения УИИ, разделяющие безобидное паразитоносительство от опасных для организма рыб уровней инвазии, взяты нами в качестве критерия патогенности возбудителей (Головина и др., 1987). Для ихтиофтириусов УИИ равен 1,7.

Этим же методом были обработаны первичные данные, полученные от сеголеток карпа, зараженных *D. vastator* и двухлеток, зараженных *D. extensus*. Пороговая величина УИИ для дактилогироза - 2,5. Не проводя сложных исследований, ихтиопатолог хозяйства, зная зараженность рыбы паразитами и ее массу, может вычислить УИИ. Если полученный УИИ будет больше или равен 1,7 - при заражении ихтиофтириусами или 2,5 - при обнаружении дактилогирусов, то это указывает на

БЛИЗКОГО
РАССТОЯНИЕ

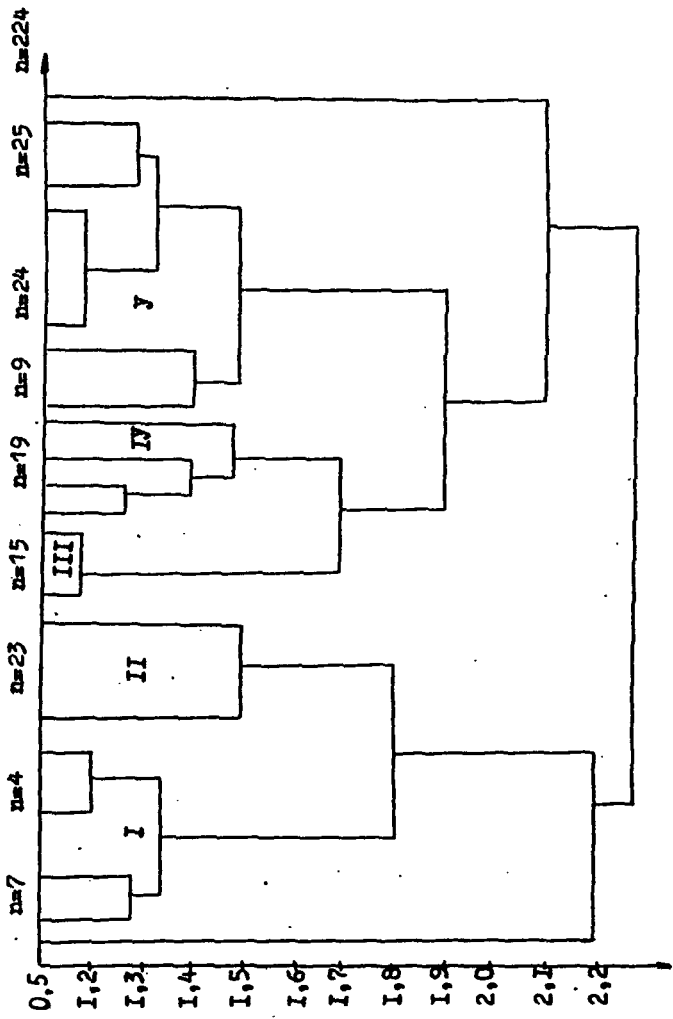


Рис. 6. Дендрогрaмма распределения зерна по группам с различным уровнем загрузки азотом
кхтнфдтнрцусом

заболевание и необходимо начинать лечебную обработку. При значениях менее 1,7 и 2,5 (соответственно) у рыбы отмечено паразитоносительство, что позволяет повременить с обработкой, но обязательно проводить систематический контроль за ростом зараженности.

Исследования, проведенные на карпе, зараженном ботриоцефалюсом, выявили его высокую патогенность. Паразитирование даже одного гельминта вызывает отклонения в картине крови. Проведение кластерного и дискриминантного анализов показали, что ни один из объектов выборки с низким уровнем зараженности не объединился с незараженной группой рыб. Вероятно, это можно объяснить тем, что система ботриоцефалюс - карп несбалансирована и даже взаимоагрессивна, т.к. имеет менее древнюю связь. Известно, что этот гельминт адаптирован практически ко всем карповым, но до зова его в водоемы Европы, Кавказа и Средней Азии, естественно, не мог паразитировать на многих представителях этого семейства (Мусселиус, 1973). Переход его на карпа произошел достаточно быстро, вызывая в шестидесятые годы острую форму течения болезни и даже гибель хозяина (Бауер и др., 1981). В настоящее время острая форма ботриоцефалеза крайне редка, однако, присутствие его как в прудовых, так и в тепловодных хозяйствах приводит к потере рыбопродуктивности по сеголеткам карпа от 10 до 50% (Головина и др. 1990). Учитывая вышесказанное, практическим работникам при обнаружении этого гельминта необходимо проводить дегельминтизацию. Сроки ее проведения зависят от типа хозяйства, температуры воды и стадии развития паразита (Головина др., 1990).

Внедрение высокоинтенсивных технологий требует строгого выполнения технологических норм. Их нарушение приводит к ряду незаразных болезней. Одним из таких заболеваний является вертеж карпа, или синдром дефицита энергии (СДЭ). Он возникает во время или чаще в конце зимовки карпа в тепловодных садковых и бассейновых хозяйствах и сопровождается высокой смертностью. Гематологический анализ у больных рыб не выявил значительных отклонений в картине крови. В то же время происходит резкое снижение белка в сыворотке, изменение ионного состава в ней, повышение влажности тела рыбы и резкое снижение жира и белка в нем. Карп с СДЭ обладает энергетически недостаточным уровнем резервов, и в ситуациях, связанных с высокими нагрузками, он не может сохранять энергетическое равновесие.

В целях профилактики СДЭ следует проводить систематический контроль за физиологическим состоянием зимующей на теплой воде рыбы. Для диагностики СДЭ хорошо себя зарекомендовал комплекс показа-

телей: коэффициент упитанности, влажность тела, белка в сыворотке и провокационная биопроба на температурный стресс. Ежемесячное проведение этой работы в ходе зимовки, начиная с января, позволяет своевременно обнаружить СДЭ и принять необходимые меры для устранения энергетической недостаточности. Разработанные нами рекомендации были внедрены в ряде тепловодных хозяйств, в которых успешно ликвидировали заболевание и предотвратили гибель. Эффективность этих работ оценивается по предотвращенному ущербу и составляет по разным хозяйствам от 80 до 100%.

Большая группа незаразных болезней рыб также связана с потреблением некачественных или неполноценных по составу кормов. Токсический эффект корма может проявляться при высоких дозах токсиканта достаточно быстро и сопровождается массовой гибелью рыб, при низких — реакция формируется постепенно, со временем.

Высокие дозы, значительно превышающие ПДК, вызывают острые токсикозы и приводят к быстрой гибели рыб. В наших экспериментах введение карпу высоких доз микотоксинов приводило к гибели рыб в течение 1-3 суток после воздействия, при этом картина крови не успевает измениться, по-видимому, их действие протекает на субклеточном уровне (Галаш, Головина, 1987, 1989; Галаш и др., 1987; Галаш, 1988).

Постепенное накопление в организме микотоксинов в хронических опытах вызывает торможение роста, сдвиги в физиолого-биохимических показателях, снижение резистентности. Лососевые рыбы обладают повышенной чувствительностью к некачественным кормам (Остроумова, 1985). Наблюдение за физиологическим состоянием каспийского лосося показали, что использование токсичных или среднетоксичных кормов вызывает у него микроцитарную базофильную анемию, которая сопровождается потемнением у рыб кожных покровов, побледнением жабр и внутренних органов, малокровием.

В результате представленного в этой главе материала прослежено влияние на рыб различных факторов, вызывающих ряд инфекционных, инвазионных и незаразных заболеваний. Исследование реакций системы крови не только расширило имеющиеся сведения о патогенезе и иммунном ответе при этих заболеваниях, но и позволило решить ряд практических вопросов: разработать способы оперативной диагностики ряда инвазионных и незаразных заболеваний и комплекс мер для их профилактики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение функционального состояния одной из основных систем организма рыб - крови показало ее важную роль при адаптациях к факторам внешней среды. Видовые особенности крови наследственно закреплены. К ним относятся состав и морфология клеточных форм, количественные параметры и их сезонно - возрастная динамика. Выполнение таких функций, как дыхательная, защитная, трофическая и др., возложены на клеточные элементы крови: эритроциты, лейкоциты и тромбоциты.

В результате наших исследований, проведенных в 1971 -96 гг., установлено, что у изученных нами видов рыб в периферической крови встречаются молодые и зрелые формы эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Значимых морфологических различий в стадиях зрелости эритроцитов и лейкоцитов у карпа, радужной форели, каспийского лосося, канального сома и осетра не отмечено. Разнообразен лишь состав гранулоцитов. В крови карпа обнаружены все группы гранулоцитов: нейтрофилы, базофилы, псевдобазофилы, эозинофилы и пенистые клетки; в крови осетра и канального сома - нейтрофилы, эозинофилы и пенистые клетки; в крови форели и лосося - только нейтрофилы (Головина, 1977; Golovina, 1993).

Обобщение представленных в работе материалов позволило нам впервые рассмотреть вопрос о гематологической норме для рыб, используя как качественные, так и количественные показатели. Первые дают представление об особенностях морфологической картины крови, вторые - количественные - характеризуют ее гематологический статус, с учетом сезонно-возрастных особенностей.

Подсчет среднеквадратичного отклонения показателей (S) показал, что он значительно превышает его доверительные границы (t_m) в стандартной обследованной выборке ($n > 15$). В связи с этим при определении гематологической нормы мы ограничиваем значение определяемого показателя величиной среднего значения с его доверительным интервалом (Головина, Тромбицкий, 1989).

В общем виде среднее значение любого гематологического показателя (M_n) в норме может быть представлена в виде графика (рис. 7, а), где его значения лежат в пределах доверительных границ вариативности средней (mt), то есть $M_n = M \pm t_m$ (Головина, Тромбицкий, 1989). Учитывая, что количество лейкоцитов подвержено очень значительным колебаниям, наряду с лейкоцитарной формулой целесообразно

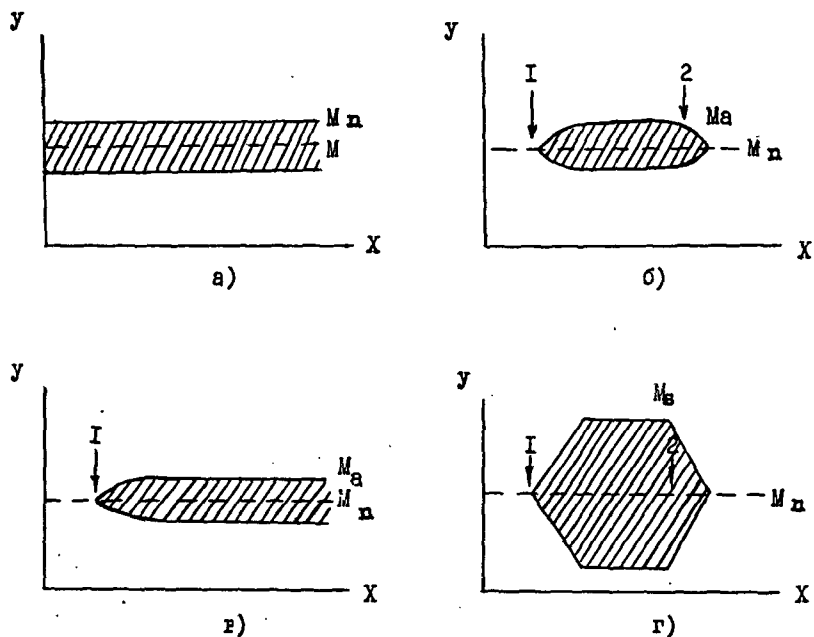


Рис. 7. Изменение среднего значения (M) любого гематологического показателя под действием различных факторов

а) - обычных; б) - слабодействующих, кратковременных

в) - слабодействующих, длительных; г) - стрессоров;

У - значение гематологического показателя;

X - время;

I - начало действия фактора; 2 - конец действия фактора.

Пределы колебания среднего значения:

M_n - при физиологической норме $M_n = M \pm t_m$

M_a - при адаптивной (техногенной) реакции

$M_a = M_n \pm 0,2 \div 0,4M_n$; $M_a = M_t$

M_b - при стрессе $M_b = M_n \pm 0,5 \div 0,8M_n$.

проводить подсчёт абсолютного значения их различных форм и строить так называемый лейкоцитарный профиль. На нем количество различных групп лейкоцитов в норме представлено в виде трафарета или диаграммы, величина составляющих которой включает границы вариability средней $M \pm tm$ (Головина, 1978).

Проведенные нами исследования свидетельствуют, что показатели крови объективно отражают интенсивность обменных процессов, протекающих в организме рыб, и имеют высокие коррелятивные связи ($R > 0,5$) с возрастом, сезоном, темпом роста и др. факторами, влияющими на нормальный рост и развитие рыб. Если условия внешней среды изменяются в такой степени, что перестают быть адекватными, то есть нарушается их соответствие сложившимся ген- и фенотипическим особенностям организма, то последний вынужден к ним адаптироваться.

Адаптивные отклонения в картине крови, которые отмечаются при выращивании рыбы в аквакультуре и обеспечивают равновесное состояние организма и среды обитания, следует относить к адаптивно-техногенной норме реакции. Поскольку выращивание рыбы в аквакультуре сопряжено с воздействием на неё целого ряда таких факторов, как: колебания температуры и кислорода, уплотненные посадки, внесение минеральных удобрений и др., то есть длительных или кратковременных, но слабодействующих, то изменения величины гематологических показателей под их влиянием можно считать нормой для данной технологии. При разработке технологической нормы мы приняли такой уровень интенсификации, который обеспечивает оптимальный весовой прирост рыбы, то есть ее рост на уровне экологического коэффициента равного 0,5 - 0,7 (Толчинский, 1980). В связи с этим графическое изображение среднего значения гематологического показателя представлено на рис. 76, в. Оно меняется в пределах $M_a = M_n \pm 0,2 \div 0,4 M_n$ и может считаться для большинства показателей технологической нормой, т.е. $M_a = M_t$.

Приведенные в работе данные о сезонно-возрастной динамике гематологических показателей карпа, форели и каспийского лосося, а также материалы по оценке их физиологического состояния при выращивании по различным технологиям, можно использовать в практическом рыбоводстве (Головина, 1987).

Учитывая информативность гематологических параметров и возможности наших производственных лабораторий, для оценки физиологического состояния рыбы рекомендованы к использованию такие показатели, как содержание гемоглобина, число эритроцитов, число лейкоцитов и

общий белок в сыворотке крови. Для сеголеток карпа перед зимовкой важно знать уровень общего белка в сыворотке крови, влажность тела, содержание сырого жира и протеина в нем (Головина, 1989).

Обычные для индустриального рыбоводства биотехнические приемы, как облов, транспортировка, а также резкие колебания температуры воды, вызывают глубокие физиологические изменения в организме, характерные для стресса. Нашими исследованиями показано, что оценка их возможна с помощью гематологических показателей.

При этом показатели красной крови меняются неоднозначно. Они либо не изменяются, либо эти отклонения имеют разную направленность. Очевидно колебания этих параметров следует отнести к адаптивным реакциям системы крови, направленным на поддержание гомеостаза.

Наиболее значимые изменения выявлены для лейкоцитов. При однократном стрессировании рыбы они характеризовались резким повышением числа тромбоцитов и лейкокрита и снижением числа лейкоцитов. При длительном стрессировании, наоборот, наблюдалось снижение числа тромбоцитов, лейкокрита на фоне более глубокого уменьшения в крови числа лейкоцитов. При этом отмеченная лейкопения характеризуется лимфо- и эозинопенией, при достоверном повышении числа нейтрофилов.

В опытах по изучению динамики гематологических показателей после однократного воздействия стресс-фактора выяснилось, что эти показатели резко возрастают сразу после стрессирования, затем столь же резко снижаются и на 2-3-й день достигают значений, достоверно меньших, чем таковые у контрольных рыб. Восстановление числа тромбоцитов и лейкокрита наступает на 4 и 10-е сутки соответственно. Показатели красной крови и числа лейкоцитов снижаются сразу после стрессирования. Но если первые затем начинают повышаться и восстанавливают свои значения в течение одних-трех суток, то число лейкоцитов снижается ещё в течение нескольких дней после стрессирования и восстанавливается только на 14-20 день (Головин, Головина, 1982). Среднее значение показателей при стрессе (M_s) может быть описано формулой $M_s = M_n \pm 0,5 \div 0,8M_n$ (рис. 7, г). При этом наиболее характерной реакцией крови рыб при стрессе (как и у других позвоночных животных) является снижение числа тромбоцитов, лейкокрита и числа лейкоцитов. В то же время эта реакция затрагивает иммунокомпетентные группы клеток крови - лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы, что, в сочетании с относительно длительным периодом их восстановления после стрессирования, должно отражаться на резистентности рыбы.

её восприимчивости к возбудителям заболеваний (Головин и др., 1982).

Наши материалы, а также литературные данные свидетельствуют, что комплекс технологических стрессов приводит к снижению резистентности организма, в результате чего некоторые паразиты и условнопатогенные штаммы сапрофитных бактерий способны поражать рыбу, вызывая порой патологии, сопровождающиеся гибелью. Примером таких заболеваний являются некоторые эктопаразитозы карпа (например, "летний" хилодонеллез), миксобактериоз ленского осетра, протекающий у молоди на Конаковском рыбзаводе, а также аэромонозы карпа, возникающие у годовиков в конце зимовки в тепловодных садково-бассейновых хозяйствах (Ванятинский, Головина, 1980; Golovina et al., 1993).

Изучение картины крови при заболеваниях проводили как в рыбоводных хозяйствах, так и в модельных экспериментах. Наиболее показательными в этих работах являлись результаты модельных экспериментов с ихтиофтириусами, дактилогирусами и аэромонадами, когда на генетически однородном материале в одинаковых условиях проводилось дозированное заражение рыбы, а затем - одновременная съемка гематологических параметров при минимальном стрессовом воздействии. Результаты этих исследований свидетельствуют, что при низких уровнях зараженности в крови формируются адаптивные изменения, которые при нарастании численности возбудителя постепенно переходят в стресс-реакцию.

Проведенные исследования позволяют установить при ряде заболеваний неспецифические отклонения в картине крови (анемию, лейкопению, лимфопению и нейтрофилез), на фоне которых проявляются специфические реакции на заболевания (Головина, Тромбицкий, 1989). При патологических состояниях среднее значение гематологических показателей описывается формулой $Mp = Km$, где $K > 0$. Полученные данные дополняют сведения о патогенезе при наиболее распространенных заболеваниях у рыб, выращиваемых в аквакультуре.

Таким образом, проведенные исследования выявили основные закономерности изменений в составе крови рыб в пресноводной аквакультуре. Показано, что для поддержания гомеостаза у них вырабатывается ряд адаптивных реакций крови, которые позволяют удовлетворять нормально протекающий метаболизм. Особенности формирования патологических и стрессреакций легли в основу оперативного контроля за физиологическим состоянием рыбы и внесения корректив в процесс ее выращивания.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получена полная морфофункциональная характеристика крови основных объектов аквакультуры: карпа, радужной форели, каспийской кумжи, канального сома и ленского осетра. Её использование позволило выявить ряд адаптивных реакций системы крови: техногенных, стрессовых и патологических, и на этой основе разработать способ оценки физиологического состояния рыб, выращиваемых при различных технологиях.

2. На основе комплексного изучения параметров крови установлено ^{их}цитоморфологическое и биохимическое многообразие,

проявляющееся в видовых и индивидуальных адаптациях к факторам среды. Видовые адаптации наиболее выражены в динамике сезонно-возрастных изменений показателей крови и составе гранулоцитов. В крови карпа встречаются все группы гранулоцитов: нейтрофилы, базофилы, псевдобазофилы и пенистые клетки; у осетра и канального сома – нейтрофилы, эозинофилы и пенистые клетки; у форели и лосося – только нейтрофилы.

3. Показатели крови объективно отражают интенсивность обменных процессов, протекающих в организме рыб, и имеют высокие коррелятивные связи с возрастом, сезоном, питанием и другими факторами, влияющими на нормальный рост и развитие. Их диагностическая ценность определяется вариабильностью, которая указывает как на физиологическую разнокачественность выращиваемой рыбы, так и на возможность индивидуальной реакции. Для оперативного контроля информативными являются показатели содержания гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и активности эритропоэза. Среднее значение любого показателя (M_n) для гематологической нормы лежит в пределах колебания доверительных границ вариабильности средней (t_m), то есть $M_n = M \pm t_m$.

4. Кровь реагирует на воздействия различных антропогенных и биогенных факторов проявлением ряда адаптивных реакций, протекающих на организменном уровне, в развитии количественного принципа. Изменение предела нормальных значений гематологических показателей под влиянием факторов, сопряженных с технологией выращивания, выражается формулой $M_a = M_n \pm 0,2 \div 0,4 M_n$. Он является для многих параметров крови технологической нормой (M_t), так как, удовлетворяя потребности организма, обеспечивает его оптимальный прирост.

5. Установлено, что стресс-факторы вызывают резкие изменения гематологических показателей культивируемых рыб, которые проявляют-

ся в снижении числа тромбоцитов, величины лейкокрита и числа лейкоцитов. Возникающая у рыб лейкопения характеризуется эозино- и лимфопенией и нейтрофилёзом, что характерно и для других групп позвоночных при стрессе. Впервые отмечено, что сразу после воздействия однократного стресс-фактора для числа тромбоцитов и величины лейкокрита характерно резкое, но непродолжительное (в течение 2-х часов) повышение. Среднее значение других показателей при стрессе (M_s) лежит в пределах $M_s = M_n \pm 0,5 \div 0,8 M_n$.

Восстановление гематологических показателей у карпа после действия стресс-фактора происходит в течение 14-20 суток. Вначале (через 2-4 суток) нормализуются показатели красной крови и число тромбоцитов, затем (через 6-8 суток) - величина лейкокрита, а через 14-20 суток - число лейкоцитов.

6. Изменения в картине крови зависят от степени патогенности возбудителя и уровня инвазии. При низких уровнях заражения рыб паразитами формируются адаптивные реакции крови, которые без увеличения уровня заражения не переходят в патологические. При дальнейшем росте численности возбудителей, как правило, формируется стресс-реакция, на фоне которой часто отмечаются патологические сдвиги, характерные для острого течения заболеваний. Величина гематологических показателей при патологических состояниях (M_p) описывается формулой $M_p = K M_n$, где $K >= 0$.

7. Количественное соотношение лейкоцитов в периферической крови при остро протекающих заболеваниях позволяет определить направленность патологического процесса.

Лейкоцитоз, характеризующийся увеличением агранулоцитов (при ВПП и бранхиомикозе карпа), сопровождается возбуждением лимфоидно-макрофагальной системы. Снижение числа нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов (при ихтиофтириозе, хилоденеллезе, дактилогирозе карпа) свидетельствует о миграции макрофагального звена к очагу воспаления. Лейкопения, наблюдаемая при длительной агонии рыб (аэромоноз, бранхиомикоз карпа, криптобиоз лосося), связана с лизисом клеточных форм и другими дегенеративными изменениями.

8. Оценка взаимоотношений паразита и хозяина показала, что системы *I. multifiliis* - карп, *D. vastator* - карп, *D. extensus* - карп - достаточно сбалансированы и характеризуются относительным равновесием. Низкие уровни заражения рыбы паразитами вызывают только адаптивные отклонения в картине крови. Снижение реактивности и резистентности хозяина в условиях аквакультуры приводит к сдвигу

этого равновесия, нарастанию численности паразитов и возникновению заболеваний. За критерий патогенности паразитов предложено принять удельный индекс интенсивности (УИИ), то есть количество паразитов, приходящееся на 1 г массы рыбы. Определены пороговые УИИ, отделяющей относительно безопасное паразитоносительство от болезни. При заражении карпа ихтиофтириусами эта величина равна 1,7, а для дактилогирисов - 2,5. Повышение этих значений УИИ свидетельствует о болезни карпа и требует терапевтического вмешательства.

B. obsarictthydis - высокопатогенен для карпа. Паразитирование даже одного гельминта вызывает отклонения в гематологических показателях. Система ботрицефалус - карп - несбалансирована, взаимноагрессивна. Учитывая наносимый этим гельминтом ущерб, необходима обязательная дегельминтизация рыбы.

9. Под действием неблагоприятных факторов, присущих аквакультуре, в организме рыб формируются анемии, которые характеризуются снижением концентрации гемоглобина и числа эритроцитов, затрагивая эритропоэз.

К менее тяжелым, регенеративным относятся: физиологическая анемия, возникающая у молоди карпа при повышенном темпе роста; компенсаторная алиментарная анемия, формирующаяся у рыб, получающих только комбикорм; анемия, связанная с поражением органов дыхания (жабр. и кожных покровов) возбудителями или продуктами их метаболизма (хилодонеллами, ихтиофтириусами, дактилогирисами, некоторыми микотоксинами).

Анемии средней тяжести наблюдаются при острых формах течения заболеваний: у карпа при - ВПП, бранхиомикозе, ихтиофтириозе, дактилогирозе; у молоди осетровых - при миксобактериозе; у лосося при криптобиозе. К тяжелым, необратимым анемиям относятся: функциональная анемия, связанная с поражением органов кроветворения (ГПБ микотоксикозы) и гемолитические анемии, наблюдаемые у рыб в премортальном состоянии (аэромоноз и бранхиомикоз карпа, криптобиоз лосося).

10. Наличие стрессовых ситуаций и несоблюдение технологий способствует возникновению незаразных болезней рыб. Недостаточно полноценное кормление карпа зимой в тепловодных садковых и бассейновых хозяйствах приводит к нарушению процессов метаболизма и возникновению синдрома дефицита энергии. Изменения протекают на субклеточном уровне и сопровождаются снижением общего белка и изменением ионного состава в сыворотке крови, увеличением количества влаги в теле

снижением содержания жира и белка в нем. Комплекс разработанных мероприятий, включающий контроль за физиологическим состоянием зимующей рыбы и внесение корректив в режим кормления, позволяет профилактировать это заболевание.

Кормление рыбы некачественными или неполноценными кормами приводит к возникновению у нее алиментарных заболеваний. Использование гематологических показателей для их диагностики связано с выявлением анемий. Профилактика этих заболеваний сводится к своевременному обнаружению таких кормов и устранению их из рациона.

11. Полученные зависимости легли в основу рекомендаций по коррекции адаптивных возможностей организма рыб в ходе выращивания, оценке стрессовых воздействий и патогенности возбудителей, разработке способов диагностики инвазионных и незаразных заболеваний и методов их профилактики. Полученные данные расширяют сведения сравнительной гематологии, общей патологии и клеточного иммунного ответа позвоночных животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании проведенного анализа собранного материала для рыб, объектов аквакультуры, определен количественно-качественный принцип реакции показателей крови, который позволяет оценить ее физиологическое состояние при различных технологиях, а также выявить ряд адаптивных и патологических реакций.

1. Норма гематологической реакции является важнейшим механизмом, поддерживающим гомеостаз на организменном уровне. Она складывается из количественной и качественной характеристики гематологических показателей с учетом видовой специфики и сезонно-возрастных особенностей. В общем виде среднее значение любого гематологического показателя в норме (M_n) может быть представлена в виде формулы, где ее значения лежат в пределах доверительных границ вариативности средней (t_m), т.е. $M_n = M \pm t_m$.

2. Величина гематологического показателя при адаптивной, технологической реакции (M_a) лежит в пределах: $M_a = M_n \pm 0,2 \div 0,4 M_n$. определена технологическая норма параметров крови для карпа, выращиваемого в прудовых, садковых, бассейновых хозяйствах и УЗВ, а также для молоди каспийского лосося при ее подращивании на рыбзаводах. Удовлетворяя потребности организма, уровень этих показателей позволяет обеспечить оптимальный весовой прирост. Для оперативного

контроля рекомендованы показатели содержания гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и активности эритропоэза.

3. Последствия перенесенного рыбой стресса рекомендуется оценивать по показателям белой крови. Высокий уровень лейкокрита свидетельствует о перенесенном накануне рыбами стресса. О многократном или длительном воздействии стрессоров можно судить по тромбоцитозу и лейкопении, низкому уровню лейкокрита. Среднее значение многих гематологических показателей при стрессе (M_s) лежит в пределах: $M_s = M_n \pm 0,5 \div 0,8 M_n$.

4. Патологические сдвиги, характерные для острого течения заболеваний, характеризуются величиной среднего значения показателей крови (M_p), выраженной формулой: $M_p = K M_n$, где $K \geq 0$. Выявленные специфические изменения в картине крови при ВПП карпа, криптобиозе лосося, синдроме дефицита энергии карпа и алиментарных токсикозах рыб позволяют ставить диагноз на эти заболевания задолго до проявления клинических признаков. Подготовленная для промышленности научно-техническая документация включает диагностику и комплекс лечебно-профилактических рекомендаций при ихтиофтириозе, дактилогирозе, ботрицефалезе, СДЭ и алиментарных токсикозов карпа.

6. Ответная реакция системы крови на действие микотоксинов легла в основу исследований по установлению их предельно допустимых концентраций в комбикормах для карпа.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Головина Н. А. О лейкоцитарной формуле крови карпа при воспалении плавательного пузыря в свете новой классификации форменных элементов // VI Всесоюз. совещание по болезням и паразитам рыб / Тез. докл., - Москва, 3-5 апр, 1974 г. - М., - 1974, - с. 59-61.

2. Головина Н. А. Изменения лейкоцитарной формулы при воспалении плавательного пузыря // Материалы VI Всесоюз. совещания по болезням и паразитам рыб. - М., - 1975, - с. 26-32.

3. Головина Н. А. Изменения в составе белой крови карпа при заражении *Dactylogyrus extensus* (Monogeneoidea, Dactylogyridae) в свете новой классификации форменных элементов // Паразитология, - 1971 т. 10, вып. 2, с. 178-182.

4. Головина Н. А. Морфологический анализ клеток крови карпа в норме и при заболеваниях / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., - 1977, 24 с.

5. Головина Н. А., Поддубная А. В., Манкирова В. Б. Влияние некоторых заболеваний карпа на гематологические показатели // Вестн. зоол. - 1977, N 5, с. 29-33.

6. Головина Н. А. Использование лейкоцитарного профиля для оценки лейкоцитоза рыб // Тр. ВНИИПРХ, - 1978, т. 27, с. 65-72.

7. Головина Н. А. Методы гематологических исследований в ихтиопатологической практике // Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ, / Сер.: Рыбохозяйств. использование внутр. водоемов, - 1979, N 4, с. 8-18.

8. Головин П. П., Головина Н. А. Влияние облового стресс-фактора на гематологические показатели и зараженность карпа ихтиофтириусом // Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ. / Сер.: Рыбохоз. использ. внутр. водоемов. - М., - 1982, N 4, с. 1-7.

9. Головин П. П., Головина Н. А., Быков А. К. Действие облового стресс-фактора на гематологические показатели двухлетков карпа // Тезисы докл. Респ. научн. конф. "Эффективное использ. вод. Молдавии". - Кишинев., - 1982, с. 30-31.

10. Головина Н. А. Морфология клеток крови карпа в норме и при заболеваниях // В кн.: Ивановой Н. Т. Атлас клеток крови рыб. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, - 1983, 184 с.

11. Лабораторный практикум по болезням рыб // Мусселиус В. А., Ванятинский В. Ф., Вихман А. А. и др. / Под ред. В. А. Мусселиус. М. / Легкая и пищ. пром-сть, - 1983, 296 с.

12. Лиманский В. В., Мартемьянов В. И., Бекина Е. Н., Головина Н. А. Изменение электролитного состава крови и мышц при заражении карпа *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliata, Ophryoglenidae) // Паразитология, - 1984, т. XVIII, 6 с. 479-482.

13. Мусселиус В. А., Ванятинский В. Ф., Головина Н. А. Культивирование *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliata, Ophryoglenidae) и оценка его влияния на организм рыбы // Паразитология, - 1984 - т. XVIII, N 5, с. 337-341.

14. Мусселиус В. А., Ванятинский В. Ф., Головина Н. А., Головин П. П. и др. Чувствительность карпа к ихтиофтириусу в зависимости от количества растворенного в воде кислорода // Сборник науч. трудов ВНИИПРХ. - М., - 1984, в. 40, с. 36-43.

15. Головина Н. А., Ванятинский В. Ф., Головин П. П. О патогенности *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliata, Ophryoglenidae) // В кн.: 8 Всес. совещ. по болезням рыб. / Тез. докл. Астрахань, апрель - 1985. - Л.: Наука, с. 33-34.

16. Головина Н. А. Итоги и перспективы гематологических исследований в ихтиопатологии // Вопросы патологии и паразитологии рыб.

- Л.: Зоол. ин-т АН СССР, - 1987, с. 115-125.

17. Галаш В.Т., Головина Н.А. Гематологическая характеристика острого, подострого и хронического Т-2 токсокозов у карпов // Сб. науч. трудов ВНИИПРХ "Болезни рыб и водная токсикология". - М., - 1987, вып. 50, с. 109-121.

18. Мусселиус В.А. Головина Н.А., Ванятинский В.Ф., Головин П.П. Способ контроля заболеваний прудовых рыб иктиофтириозом и дактилогирозом // Авторское свидетельство N 1311050 от 15.01.1987. А.01.К61/00.

19. Головина Н.А. Некоторые общие закономерности изменения параметров крови карпа в процессе его выращивания // 2. Celostátní ichtyohematologická Konference se zahraniční účastí, Litomyšl, CSSR, - 1989, p. 1-4.

20. Golovina N.A., Golovin P.P. Patogenicity of *Dactylogyrus vastator* for young carp and methods of its evaluation // Parasites of freshwater fishes of North-West Europe. Materials Inter. Simp. within the Program of the Soviet-Finnish Cooperation 10-14 January. - Petrozavodsk. - 1989, p. 47-54.

21. Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб. Кишенев.: - Штиинца, - 1989, 158с.

22. Головина Н.А., Борщев В.Н. Оценка влияния *Bothriocephalus opsaritchtydis Yamaguti*, 1934 (Cestoda, *Bothriocephalidae*) на кровь карпа (*Cyprinus carpio* L) методом дискриминантного анализа // Сб. Научных трудов ВНИИПРХ, - 1991, вып. 63, с. 45-52.

23. Головина Н.А., Юхименко Л.Н. Влияние аэронад с различной вирулентностью на картину крови карпа в эксперименте // Сб. науч. трудов ВНИИПРХ, - 1991, вып. 63, с. 74-82.

24. Головина Н.А., Головин П.П. Повышение общей резистентности организма крпа во время зимовки в тепловодных рыбоводных хозяйствах // Всероссийское науч. - произв. совещ. по проблемам развития пресноводной аквакультуры. 15-19 ноября 1993. Тез. докл. - М.: ВНИИПРХ. - 1993, с. 55-56.

25. Golovina N.A. Hematological indices in east-siberian sturgeon (*Acipenser baeri chatys Drjagin*) held under industrial rearing conditions // 3. Ichthyohematological Conference. 30 November - 2 December - 1993, Litomyšl, Czech. Republic, p. 25-26.

26. Golovina N.A., Golovin P.P. Cryptobiosis of caspian trout (*Salmo trutta caspius* Kesster) in aquaculture // 4 Inter. Conf. EAAP Diseases of fish and shellfish. Book abstr. - Brest, France. -

1993, p. 70.

27. Golovina N.A., Golovin P.P., Zadorozhnaya N.A. Parasites and diseases of industrially reared sibirian sturgeon // Inter. Simp. of sturgeons. 6-11 sept. 1993. Abstr. Bull. - Moscow: VNIRO, - 1993, p. 96-97.

28. Головина Н. А., Головин П. П., Ващенко А. С., Задорожная Н. А. Синдром дефицита энергии у карпа: его диагностика, меры профилактики и терапии // Рыбное хоз-во: Сер. Аквакультура. Информационный пакет / ВНИЭРХ. - М., - 1994, вып. 2, с. 1-12.