

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА/MATHEMATICAL BIOLOGY, BIOINFORMATICS

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1>

EDN: ZYSRSL

АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ МОЛОДИ БЕСТЕРА (*HUSO HUSO* × *ACIPENSER RUTHENUS*) В УСЛОВИЯХ АГРЕССИВНОЙ СРЕДЫ АКВАКУЛЬТУРЫ

Научная статья

Волкова И.В.¹, Крючков В.Н.^{2,*}, Джалмухамбетова Е.А.³²ORCID : 0000-0001-8749-6069;^{1,2} Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Российская Федерация³ Волжский государственный университет водного транспорта, Астрахань, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (kvn394[at]rambler.ru)

Предложена: 19.02.2025; Принята: 29.06.2026; Опубликовано: 25.09.2026

Аннотация

Проведены исследования по выявлению наиболее жизнеспособных рыб с целью разработки системы показателей молоди рыб, определяющих ее адаптивную возможность в аквакультуре. Использовался метод функциональной нагрузки. В качестве стресс-фактора применялся дефицит кислорода. Экспериментальные данные по подсчету количества выживших особей к определенным моментам времени, в зависимости от показателей крови, были подвергнуты математической обработке с использованием метода сравнения выживаемости. Применение индексов крови необходимо в качестве средства диагностики и прогноза при патологических процессах для достижения объективности результатов в практике рыбоводства. В качестве одного из показателей адаптационных возможностей культивируемых рыб авторы предлагают использовать оценку крови по балльной шкале.

Ключевые слова: резистентность, стресс-фактор, показатели крови, функциональная нагрузка, функция выживаемости.

THE ADAPTIVE CAPACITIES OF JUVENILE BESTER (*HUSO HUSO* × *ACIPENSER RUTHENUS*) IN THE HOSTILE ENVIRONMENT OF AQUACULTURE

Research article

Volkova I.V.¹, Kryuchkov V.N.^{2,*}, Dzhal mukhambetova Y.A.³²ORCID : 0000-0001-8749-6069;^{1,2} Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russian Federation³ Volga State University of Water Transport, Astrakhan, Russian Federation

* Corresponding author (kvn394[at]rambler.ru)

Suggested: 19.02.2025; Accepted: 29.06.2026; Published: 25.09.2026

Abstract

Research was carried out to identify the most viable fish with a goal of developing a system of indices for juvenile fish that determine their adaptive capacity in aquaculture. The functional load method was used. Oxygen deprivation was applied as a stress factor. Experimental data on the number of surviving individuals at specific time intervals, depending on blood parameters, were analysed mathematically using the survival comparison method. The use of blood indices is necessary as a means of diagnosis and prognosis in pathological processes to ensure the objectivity of results in fish farming practice. The authors propose using a blood assessment based on a scoring scale as one of the indicators of the adaptive capabilities of farmed fish.

Keywords: resistance, stress factor, blood parameters, functional load, survival function.

Введение

Товарное выращивание рыб в аквакультуре становится реальной альтернативой так называемому пастбищному рыбному хозяйству, при котором основная масса рыбы добывается из естественных водоёмов. Комплекс факторов, среди которых не последнее место занимает нерациональный промысел, привёл к тому, что ряд ценных видов рыб, прежде многочисленных, полностью потеряли своё промысловое значение. Это в полной мере относится и к осетровым рыбам Каспийского моря, ежегодная добыча которых в 70–80-х годах XX века достигала порядка 20 тыс. тонн и более [24]. В настоящее время популяция осетровых поддерживается практически полностью за счёт искусственного воспроизводства, а производство пищевой продукции, как мяса осетровых рыб, так и чёрной икры, осуществляется только на предприятиях аквакультуры, промышленный лов осетровых рыб полностью запрещён.

Культивирование рыбы в искусственных условиях сопряжено с воздействием на рыб разнообразных стресс-факторов. Это плотные и сверхплотные посадки с целью интенсификации производства, многочисленные технологические манипуляции с рыбами, не всегда полноценное питание и многие другие [26], [30]. Даже не являясь непосредственной причиной гибели, они приводят к ослаблению рыб, выражающемуся в снижении темпов роста и устойчивости к заболеваниям, а также в сверхнормативных отходах при наложении действия других негативных агентов [28]. Опасность хронических стрессовых воздействий заключается в том, что в процессе эволюции наибольшее развитие получили механизмы адаптации к острым экстремальным ситуациям. Что касается хронического

стресса, то даже в естественных условиях зачастую исключается восстановление нарушенных функций физиологических систем. Когда интенсивность стрессовых воздействий превышают адаптивные возможности организма, следует ожидать развитие патологических реакций или даже гибели [27].

Общая резистентность организма является интегральным показателем адаптационных возможностей при внешних негативных воздействиях. Обеспечивается многими механизмами, в том числе и деятельностью иммунной и связанной с ней системами. Современные представления об адаптационных механизмах показывают, что их неспецифические компоненты функционируют на основе уже сформировавшихся физиологических процессов [23]. Соответственно, изучение факторов неспецифической защиты, обеспечивающих резистентность организма к неблагоприятным факторам среды, разработка системы показателей молодёжи, определяющих ее резервную устойчивость, является одной из важных задач современного товарного рыбоводства [25].

Специфика аквакультуры заключается, в частности, и в том, что рыбы постоянно находятся в искусственных условиях, и поэтому может быть необходимость оценки жизнестойкости рыб, их адаптационного потенциала в любой момент времени. Поиск и практическое применение тест-показателей качества рыб в аквакультуре проводился авторами работы и ранее [11], [12], на данном этапе были проведены новые серии экспериментов с привлечением математического аппарата для интерпретации экспериментальных данных. Таким образом, целью данной работы явилось обоснование применения ряда гематологических показателей для оценки устойчивости молодёжи бестера к неблагоприятным условиям существования на примере гипоксии.

Методы и принципы исследования

2.1. Место исследования

Рыбы до осуществления экспериментов, содержались в установке замкнутого водоснабжения (УЗВ). Опыты с функциональной нагрузкой проводились в лаборатории кафедры гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета.

2.2. Объект исследования

Работы проводились с бестером, гибрид белуга х стерлядь (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*). При проведении данного исследования использовались особи массой 20-30 г.

2.3. Экспериментальные условия

До начала эксперимента рыбы были адаптированы к новым условиям в течение двух недель. Рыбы содержались в бассейнах, объём бассейна — 0,5 м³, бассейны были объединены в УЗВ по десять бассейнов в одной системе. Для экспериментов использовались аквариумы объёмом 300 л и 70 л, снабжённые биофильтрами. При проведении опыта с функциональной нагрузкой водообмен и аэрация были отключены.

Условия проведенных исследований соответствовали общепринятым нормам и требованиям этических и правовых норм. Все манипуляции с рыбой, включая транспортировку, забор крови и содержание в течение экспериментов, проводились согласно принципам Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

2.4. План эксперимента

Был проведён опыт с функциональной нагрузкой для определения наиболее устойчивых рыб. В качестве стресс-фактора применили пониженный уровень растворённого в воде кислорода при повышении температуры воды до 280С, оптимальной температурой воды для культивирования бестера считается 20–22°С [21].

Перед тестированием у всех подопытных рыб предварительно была отобрана кровь пункцией из сосуда хвостового стебля. Рыбы были индивидуально помечены красителем. Отмечалось время выживания каждой рыбы.

Выбор временных точек контроля (0, 210, 420 мин) связан с динамикой снижения содержания в воде кислорода и критическими фазами гибели рыб: 0 мин — старт эксперимента, 210 мин (3,5 часа) — момент, когда гипоксия начинает проявлять выраженное влияние (концентрация кислорода опускается ниже 2,5 мг/л), 420 мин (7 часов) — точка, после которой выживаемость рыб резко падает, и эксперимент теряет информативность.

Было проведено три серии опытов, в каждой серии — три повторности по 20 экз. рыб.

2.5. Взятие крови и гематологические показатели

Перед отбором крови производилась анестезия (трикаинметансульфанат в концентрации 0,05 г/л, экспозиция 3 минуты) [32].

Мазки крови фиксировались смесью Никифорова (этиловый спирт-безводный серный эфир в соотношении 1:1), окрашивались азу-эозином по Романовскому — Гимза. Дифференцированный подсчёт лейкоцитов производился четырехпольным методом под микроскопом Микромед-3 (Россия) и Olympus BH2-RFCA (Япония), применялись иммерсионные объективы (x100, x90), окуляры 7,5 и 10 [7]. Лейкоциты идентифицировались по Н.Т. Ивановой [7]. Всего было проанализировано 143 мазка крови.

Определение неферментных лизосомально-катионных белков осуществляли по В.Е. Пигаревскому и Н.А. Макаревичу [15], [19] на нефиксированных мазках, окраска прочным зелёным на метаноловом трис-буфере с pH 8,1–8,2, доокраска ядер — азу-1. Средний цветной коэффициент (СЦК) определяли полуколичественным методом по формуле

Интенсивность окраски гранулоцитов оценивали полуколичественно:

0 — окраска отсутствуют;

0,5 — единичные гранулы, слабое окрашивание;

1,0 — бледно-зелёный цвет либо гранулы занимают примерно 1/3 цитоплазмы;

1,5 — цитоплазма окрашена равномерно в свет-ло-зеленый цвет;

2,0 — вся цитоплазма окрашена в зелёный цвет, имеются гранулы или участки с тёмно-зелёным цветом;

3,0 — вся цитоплазма тёмно-зелёного цвета.

Было произведено 145 определений активности неферментных лизосомально-катионных белков.

Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли *in vitro* [5]. В качестве корпускулярного антигена брали взвесь китайской туши в физиологическом растворе. Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) определяют после инкубации 0,1 мл корпускулярного антигена в течение 45 мин на мазке, окрашенном азури-эозином. Параллельно определяли фагоцитарный индекс (ФИ) — среднее количество корпускулярных антигенов на один фагоцит. Было произведено 146 определений фагоцитарной активности.

2.6. Интегральная оценка выживаемости

Интегральная оценка выживаемости в баллах определялась согласно концепции иммунологических мобилей [18]: одно и то же интегральное состояние нормы может достигаться совокупностью неодинаковых уровней показателей отдельных параметров. Для интерпретации полученных значений гематологических показателей была применена шкала порядка, которая характеризует значения измеряемых величин в баллах [17]. При этом наибольшей адаптивной способностью обладали рыбы с выживаемостью, оценённой в 5 баллов, наименьшей — 2 балла.

2.7. Математическая обработка результатов

Материалы исследования были подвергнуты математической обработке [4], [22]. Изменение численности выживших рыб в условиях экспериментальной гипоксии описывалась системой дифференциальных уравнений, интегрирование которых даёт экспоненциальную зависимость. Для оценки параметра эффективного времени выживания группы особей в неблагоприятной среде применялся метод наименьших квадратов. Уравнение линеаризовали логарифмированием. Доверительные интервалы рассчитывались с использованием стандартной ошибки коэффициента регрессии.

Все расчёты выполнены в среде MathCAD 15.0. Исходные данные предварительно нормировались.

2.8. Этические аспекты

Исследование получило положительное заключение научно-технического совета Астраханского государственного технического университета (протокол № 1 от 28.01.2026).

Основные результаты

3.1. Ход эксперимента

Изменение концентрации растворённого кислорода в воде при проведении эксперимента показано на рис. 1.

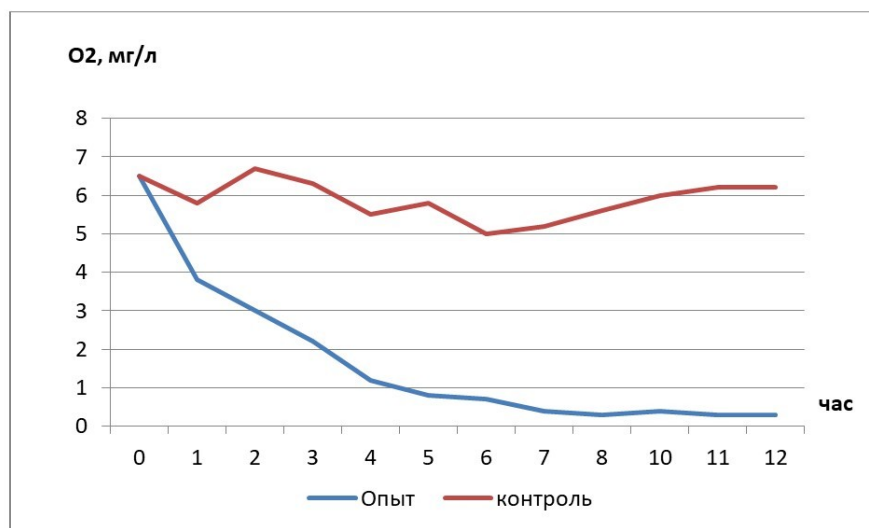


Рисунок 1 - Концентрация кислорода в воде опытных и контрольных аквариумов

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1.1>

Активность рыб сохранялась вплоть до снижения концентрации кислорода до значения 2,4–2,5 мг/л. Они адекватно реагировали на тактильные раздражители и на звук при ударе по стенке аквариума. При дальнейшем понижении содержания кислорода в воде рыбы находились у поверхности воды, однако захватывать воздух они не могли, т.к. поверхность была закрыта во избежание газообмена с атмосферным воздухом. Затем они становились малоактивными. Среднее время выживаемости молоди бестера в опытном аквариуме при температуре воды 28°C составило 11 часов.

3.2. Математическая модель выживания рыб при функциональной нагрузке

В данном исследовании в качестве стресс-фактора был применена пониженная концентрация растворённого в воде кислорода. Критерием устойчивости рыб к фактору гипоксии служило время выживания, при этом гибель подопытных гидробионтов происходила не одновременно. Соответственно, интервал времени от гибели первого экземпляра до достижения определённого эффекта (например, гибели половины подопытных животных) зависит от ряда факторов, в том числе и от физиологического состояния рыб. В данном контексте «ряд факторов» подразумевает модифицирующие факторы, которые при прочих равных условиях способны изменять устойчивость рыб к дефициту кислорода. Поскольку условия опыта подразумевали максимально однообразные показатели среды, модифицирующие факторы можно не учитывать. Таким образом, постулируется, что время выживания рыб в неблагоприятной среде в данном случае зависит только от их жизнестойкости. Кроме того, бескислородную среду можно рассматривать как агрессивную, поскольку она вызывает изменения в протекании физиологических процессов, что в конечном итоге находит своё выражение в смерти подопытных рыб.

Так как время жизни рыб в оптимальных условиях во много раз больше времени жизни в агрессивной среде, динамика численности n_k k -ой группы рыб в кислородно-дефицитной среде может быть описано дифференциальным уравнением:

$$\frac{dn_k}{dt} = -\frac{1}{\tau_k} \cdot [n_k - n_k(\infty)], \quad n_k \geq n_k(\infty) \quad (2)$$

где $n_k(\infty)$ — число особей, сумевших адаптироваться (выживших) к неблагоприятным условиям (проживших до окончания эксперимента);

τ_k — эффективное время выживания (жизни) k -ой группы ($k = 1, 2, 3, 4$).

Следует пояснить, что отмеченная выше «адаптация» может иметь достаточно длительный характер, если стресс-фактор умеренной интенсивности. Если же стресс-фактор имеет такие характеристики, что его интенсивность несовместима с жизнью рыб, то адаптация будет иметь кратковременный характер, и её срыв неизбежен. В данном случае критерием адаптации выступает эффективное время выживания.

Как уже отмечалось, определение физиологического состояния рыб перед опытом с функциональной нагрузкой осуществлялось по нескольким показателям. Соответственно числу рассмотренных параметров крови получаем систему из нескольких уравнений динамики численности групп рыб. Каждое из этих уравнений имеет решение вида

$$n_k = n_k(0) \cdot \left[\alpha_k + (1 - \alpha_k) \cdot \exp\left(-\frac{t}{\tau_k}\right) \right]. \quad (3)$$

Здесь $n_k(0)$ — начальное количество рыб k -ой группы;

$\alpha_k = n_k(\infty)/n_k(0)$ — постоянная, равная отношению числа адаптировавшихся особей к их первоначальному количеству;

t — текущее время (в тех же единицах, что и эффективное время жизни τ_k).

3.3. Оценка эффективного времени жизни (выживания)

Для оценки времени выживания группы рыб в бескислородной среде был применён метод наименьших квадратов в задаче о линейной регрессии.

Рассмотрим k -ю группу рыб. Запишем уравнение (3) математической модели в виде формулы (4):

$$\frac{n_k(t) - n_k(\infty)}{n_k(0) - n_k(\infty)} = \exp\left(-\frac{t}{\tau_k}\right). \quad (4)$$

Прологарифмировав левую и правую части этого равенства, получаем линейное уравнение (5):

$$y_k(t) = -\frac{1}{\tau_k} \cdot t \quad (5)$$

где введено обозначение для функции, представляющей собой при $n_k(\infty) = 0$ натуральный логарифм отношения числа живых рыб к их первоначальному количеству (6):

$$y_k(t) = \ln \left[\frac{n_k(t) - n_k(\infty)}{n_k(0) - n_k(\infty)} \right] \quad (6)$$

В данном эксперименте необходимо было по конечному числу ($m = 3$) данных, полученных с погрешностью, определить параметры математической связи величин для линейного закона (5) изменения численности рыб.

Задача линейной регрессии состоит в восстановлении линейной зависимости по результатам измерений t_i и y_i , где $i = 1, 2, m$.

Коэффициент линейной регрессии будет иметь вид (7):

$$a = \frac{\sum_{i=1}^m (t_i \cdot y_i)}{\sum_{i=1}^m (t_i)^2}, \quad (7)$$

Получаем связь коэффициента линейной функции со временем выживания данной группы рыб: $a_k = -1/\tau_k$.

Отсюда, учитывая формулу (7), приходим к формуле для оценки эффективного времени выживания особей (8), относящихся к k -й группе по показателям крови:

$$\tau_k = -\frac{\sum_{i=1}^m (t_i)^2}{\sum_{i=1}^m (t_i \cdot y_i)} \quad (8)$$

Эта формула далее будет использована для оценки результатов эксперимента с функциональной нагрузкой.

3.4. Оценка резистентности бестера в зависимости от показателей активности неферментных лизосомально-катионных белков

Лизосомальные катионные белки (ЛКБ), которые локализованы в гранулоцитах крови, главным образом, в нейтрофилах, принимают участие в реализации неспецифической защиты от патогенов [16], [29], [31].

Ранее была показана принципиальная возможность применения лизосомально-катионного теста для оценки жизнестойкости рыб при экстремальных условиях среды обитания [1], [6].

Результаты опыта позволили разделить всех рыб, задействованных в эксперименте, на четыре группы (таблица 1).

Таблица 1 - Динамика численности групп выживших рыб при разных значениях СЦК

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1.2>

№ группы	СЦК	Кол-во рыб при $t = 0$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 0$ мин, экз.	Кол-во рыб при $t = 210$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 210$ мин, экз.	Кол-во рыб при $t = 420$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 420$ мин, экз.
1	менее 0,85	100	36	61,1	22	0	0
2	более 1,80	100	40	60,0	24	0	0
3	0,85-1,24	100	36	83,3	30	16,7	6
4	1,25-1,80	100	33	81,8	27	51,5	17

Показанные в таблице группы были сформированы по выживаемости и по значению СЦК в лизосомально-катионном тесте. Первоначально мы планировали выделить три группы (с высокими показателями выживаемости при функциональной нагрузке, с низкими показателями и промежуточную), однако эксперимент показал, что низкая выживаемость была характерна для рыб как с низкими значениями СЦК, так и наоборот, с самыми высокими. Поэтому в конечном итоге было принято выделение четырёх групп рыб. Таким образом, было установлено, что наибольшей сопротивляемостью агрессивной среде, выраженной в виде времени выживания, характеризуются особи со средними значениями данного показателя, или немного выше средних.

3.5. Оценка зависимости резистентности бестера от показателей лейкоцитарного профиля крови (индекс Бредекка)

Индекс Бредекка (ИБ) рассчитывается как отношение числа лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам. Может быть использован в виде интегрального показателя функционального состояния организма, увеличение значения ИБ свидетельствует о напряжённом состоянии неспецифической составляющей иммунитета [6], [13].

В нашем эксперименте была установлена разнокачественность рыб по показателю ИБ, при этом выделенные кластеры рыб обладали неодинаковой резистентностью к гипоксии (таблица 2).

Таблица 2 - Динамика численности групп выживших рыб при разных значениях индекса Бредекка

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1.3>

№ группы	ИБ	Кол-во рыб при $t = 0$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 0$ мин, экз.	Кол-во рыб при $t = 210$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 210$ мин, экз.	Кол-во рыб при $t = 420$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 420$ мин, экз.
1	менее 3,75	100	36	22,2	8	0	0
2	более 13,00	100	30	33,3	10	0	0
3	3,75-5,29	100	50	54	27	2	1
4	5,30-13,00	100	27	88,9	24	14,8	4

Показано, что наибольшей устойчивостью к экспериментальной гипоксии обладали особи со значениями ИБ от 5,30 до 13,00.

3.6. Оценка зависимости резистентности бестера от показателей фагоцитарной активности нейтрофилов

Для характеристики клеточного иммунитета были рассмотрены такие показатели, как фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) — относительное количество нейтрофилов, которые проявили в эксперименте способность к фагоцитозу хотя бы одной корпускулярной частицы, и фагоцитарный индекс (ФИ) — количество частиц, захваченных одним фагоцитом. Выживаемость рыб в зависимости от показателей фагоцитоза показана в таблице 3.

Таблица 3 - Динамика численности групп выживших рыб при разных показателях фагоцитарной активности нейтрофилов

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1.4>

№ группы	ФАН	ФИ	Кол-во рыб при $t = 0$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 0$ мин, экз.	Кол-во рыб при $t = 210$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 210$ мин, экз.	Кол-во рыб при $t = 420$ мин, %	Кол-во рыб при $t = 420$ мин, экз.
1	менее 48,15	менее 3,85	100	46	45,61	21	0	0
2	более 75,35	более 9,80	100	32	71,86	23	0	0
3	48,15-53,44	3,85-5,54	100	46	60,87	28	0	0
4	53,45-75,35	5,55-9,80	100	22	86,36	19	72,72	16

Таблица 3 демонстрирует, что наибольшую выживаемость в агрессивной среде (72,72% через 420 мин) демонстрируют рыбы с высокими показателями ФАН (53,45–75,35%) и ФИ (5,55–9,80). Группы с низкими значениями фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН < 48,15% / ФИ < 3,85) теряют всех особей уже к 420 мин., что подтверждает их низкую адаптивность.

3.7. Соответствие модели выживания рыб в агрессивной среде фактическим данным и верификация

Математическая модель, основанная на экспоненциальном убывании численности рыб, теоретически соответствует процессу выживания в условиях гипоксии, где вероятность гибели особи постоянна во времени в заданном временном интервале.

Верификация модели ограничена использованием метода наименьших квадратов для оценки параметра t_k , т.к. в данной работе авторы не применяют модель для получения прогнозируемых значений, а ограничиваются оценкой экспериментальных данных. В качестве примера приводятся расчетные значения эффективного времени жизни для разных групп рыб по значениям ИБ (таблица 4), при этом следует вновь подчеркнуть, что формула (8) является ключевой для оценки эффективного времени жизни и выводится из линеаризованной экспоненциальной модели.

Таблица 4 - Расчетные времена выживания бестера по показателю ИБ при острой гипоксии

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1.5>

№ группы	ИБ	Время жизни, мин
1	менее 3,75	323
2	более 13,00	425,8
3	3,75-5,29	480,7
4	5,30-13,00	657,5

Расчётные значения t_k позволили количественно оценить устойчивость групп рыб к гипоксии. Например, для группы с максимальным $t_k = 657,5$ мин (табл. 4) подтверждена высокая корреляция между показателями крови (ИБ) и выживаемостью ($r_s = 0,89$, $p < 0,01$).

3.8. Интегральная оценка выживаемости

Для оценки адаптационных возможностей рыб при выживании в неблагоприятных условиях (гипоксия) была принята балльная оценка, показанная в таблице 5.

Таблица 5 - Оценка выживаемости рыб при экспериментальной гипоксии в зависимости от показателей крови

DOI: <https://doi.org/10.60797/jbg.2026.33.1.6>

Показатель	Баллы			
	5	4	3	2
ЛКТ	1,25-1,80	более 1,80	0,85-1,24	менее 0,85
ФАН	53,45-75,35	48,15-53,44	более 75,35	менее 48,15
ИБ	5,30-13,00	3,75-5,29	более 13,00	менее 3,75

Были, прежде всего, выделены группы особей с лучшими и худшими показателями выживаемости в агрессивной среде. Наименее устойчивыми оказались особи со сниженными показателями неспецифической резистентности. Наибольшую выживаемость продемонстрировали рыбы с показателями ЛКТ от 1,25 до 1,80, ФАН от 53,45 до 75,35 и ИБ от 5,30 до 13,00.

Результаты экспериментов побудили нас выделить две группы рыб с промежуточными показателями выживаемости. В этих группах были рыбы как с повышенными значениями рассмотренных гематологических показателей, так и с приближающимися к наименьшим. Несколько более устойчивыми оказались рыбы, у которых большинство показателей значительно превышали средние. Само по себе повышение реактивности следует рассматривать как благоприятный прогностический признак, однако в этот период организм остается чувствительным к воздействию неблагоприятных условий. Такая рыба может считаться условно здоровой. При обитании в благоприятных условиях, либо после проведения оздоровительно-профилактических мероприятий можно рассчитывать на увеличение её жизнестойкости [11].

Обсуждение

В своем исследовании мы придерживались основополагающего принципа, сформулированного ещё В.И. Лукьяненко [14], который показал, что проблема стандарта заводской молоди осетровых, ее жизнестойкости может быть решена только с позиций и методами физиологии. При этом под «качеством» заводской молоди осетровых следует понимать степень ее жизнестойкости, т.е. устойчивости к разнообразным факторам внешней среды абиотической и биотической природы.

Но подход к выбору показателей у нас принципиально отличается, и вот почему. При разработке стандарта заводской молоди целью было найти такой момент в жизни мальков рыб, когда они обладают наибольшей способностью приспосабливаться к изменяющимся условиям их жизни при выпуске из прудов в реку или же при их вывозе на места нагула в море. При этом еще учитывалось то обстоятельство, что передержка молоди в прудах ведет к истощению кормовой базы, что отрицательно сказывается на жизнестойкости рыб.

Однако специфика товарного выращивания заключается, в частности, и в том, что рыба находится в искусственных условиях постоянно, поэтому есть необходимость оценки качества рыбы, ее адаптационного потенциала в любой момент времени.

Вообще надо сказать, что способность рыбы адаптироваться и, следовательно, выживать, зависит от того, насколько нормально функционируют основные гомеостатические системы (нервная, эндокринная, иммунная). Мы в наших исследованиях сделали упор на связанные с иммунной системой клеточные показатели. Исторически понятие резистентности нередко отождествляется с понятием естественного иммунитета, хотя в физиологическом плане оно шире, т.к. резистентность проявляется, прежде всего, в форме общей устойчивости организма, а не только как действие против живых агентов. Общая или неспецифическая резистентность относится к числу интегральных функциональных характеристик организма и являющаяся показателем его устойчивости к различным воздействиям. В живом организме иммунологические и неспецифические защитные реакции практически всегда протекают сочетанно и взаимосвязаны по существу.

В наших исследованиях мы применяли автоконтроль. Рыбы делились на кластеры в зависимости от значения иммунофизиологических показателей. Для проверки корректности такого подхода и были поставлены опыты с функциональной нагрузкой.

Очевидно, что устойчивость рыб к гипоксии и температуре воды выше оптимальных значений непосредственно не связана с функциями иммунной и связанных с последней системами. Тем не менее, выбор рассмотренных выше показателей был предопределён рядом соображений. Во-первых, гематологический анализ позволяет производить манипуляции с рыбой, оставляя их живыми, что особенно важно при работе с такими ценными рыбами, как осетровые. Во-вторых, многолетняя лабораторная практика в различных отраслях (медицина, ветеринария, рыбоводство) позволяет утверждать, что количественные и качественные показатели крови имеют значение в диагностике самых разнообразных состояний [1], [5], [13].

Следует подчеркнуть, что использование гематологических показателей (ИБ, СЦК, ФАН) в качестве предикторов выживаемости является нетрадиционным для аквакультуры осетровых, хотя сама экспоненциальная модель – общепринятый инструмент. Так, в частности, экспоненциальная модель (2) — известный метод в популяционной динамике для описания смертности под воздействием стрессоров [3], [20]. Однако наша модель имеет некоторые отличия, в частности, для корректного описания динамики любой популяции, как животных, так и растений, учитывается как смертность, так и пополнение (рождаемость), в нашем исследовании рассматривали только смертность в крайне ограниченном временном интервале. Кроме того, мы не ставили своей целью получить некую модель, которая бы описывала выживаемость рыб при гипоксии, наша модель была призвана показать, что выбранные гематологические показатели могут достоверно отражать способность молоди бестера выживать в условиях агрессивной среды, т.е. свидетельствовать о «качестве молоди бестера».

Рассматриваемая модель предполагает постоянную интенсивность смертности, что может не учитывать, например, накопление различных стрессовых факторов и их аддитивное или синергетическое воздействие на рыб, а также нестационарный характер влияния фактора, например изменение со временем и/или влияние индивидуальных различий внутри групп. Значительную роль в этом процессе играют физиологическое состояние рыб, их возраст, масса тела, уровень метаболической активности, а также параметры водной среды, включая температуру, химический состав и уровень загрязнения. Поэтому перспективным направлением развития данного исследования может быть построение многофакторной модели, поскольку однофакторные агрессивные воздействия, как в природе, так и в аквакультуре, являются скорее исключением, в то время как многофакторные — правилом [9].



Заключение

В основе интегральной оценки качества рыб (бестера) лежит положение, что одинаковые состояния устойчивости к неблагоприятным факторам среды может обеспечиваться разными механизмами, недостаточность одного защитного фактора компенсируется другими. Математическое моделирование и численный анализ данных эксперимента по выживанию молоди бестера в опыте с функциональной нагрузкой позволяет подтвердить указанное положение.

Новизна работы заключается в адаптации традиционных математических методов к анализу гематологических показателей рыб для оценки их связи с выживаемостью. Такой синтез биологических и математических подходов в контексте аквакультуры осетровых может считаться оригинальным, хотя сама модель не является принципиально новой. Подход сочетает общепринятые методы с инновационным приложением к задачам аквакультуры, что повышает его практическую ценность.

Выводы:

1. Результаты эксперимента в целом согласуются с предложенной математической моделью динамики численности рыб.
2. Рассчитываемое по опытным данным эффективное время жизни является количественным параметром, характеризующим устойчивость к агрессивной среде группы особей с определенными значениями индекса Бредекка.
3. Рассчитанные по данным эксперимента эффективные времена жизни по выбранным показателям крови оказались довольно близкими по значению.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Бахчоян М.Р. Индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам как предиктор неблагоприятного прогноза у пациентов с сердечной недостаточностью некоронарогенной этиологии / М.Р. Бахчоян, Е.Д. Космачева, А.А. Славинский // Клиническая практика. — 2017. — № 3. — С. 48–52.
2. Валедская О.М. Прогностические возможности двух иммунологических тестов / О.М. Валедская // Экологические проблемы охраны живой природы. — Москва, 1998. — С. 110–111.
3. Гиляров А.М. Популяционная экология : учебное пособие / А.М. Гиляров. — Москва : Изд-во МГУ, 1990. — 191 с.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — Москва : Практика, 1998. — 459 с.
5. Егорова В.И. Динамика интегральных гематологических индексов рыб при хронической интоксикации / В.И. Егорова, И.В. Волкова // Рыбное хозяйство. — 2024. — № 1. — С. 81–88.
6. Жуков А.П. Информативность лейкоцитарных индексов в лабораторном скрининге легочной патологии у телят / А.П. Жуков, Е.Б. Шарафутдинова, А.П. Датский // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2016. — № 3(59). — С. 101–104.
7. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб) / Н.Т. Иванова. — Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1982. — 184 с.
8. Козлюк А.С. Иммунологические методы в гигиенических исследованиях / А.С. Козлюк, Л.А. Анисимова, И.Г. Шройт. — Кишинев : Штиинца, 1987. — 211 с.
9. Кацнельсон Б.А. Экспериментальное моделирование и математическое описание хронической комбинированной токсичности как основа анализа многофакторных химических рисков для здоровья / Б.А. Кацнельсон, А.Н. Вараксин, В.Г. Панов [и др.] // Токсикологический вестник. — 2015. — № 5(134). — С. 37–45.
10. Крючков В.Н. Иммуно-физиологические исследования в практике товарного рыбоводства / В.Н. Крючков // Первый российско-американский симпозиум «Аквакультура и здоровье рыб»: рабочая программа и тезисы сообщений. — Москва, 1998. — С. 111–113.
11. Крючков В.Н. Применение иммунофизиологических тестов для оценки резистентности бестера / В.Н. Крючков, О.М. Валедская, Ю.Б. Алиновская // Вестник АГТУ. Рыбное хозяйство. — Астрахань : Изд-во АГТУ, 2000. — С. 63–68.
12. Крючков В.Н. Морфофункциональное тестирование молоди бестера в товарном хозяйстве / В.Н. Крючков, Н.Н. Федорова, О.М. Валедская [и др.] // Проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах в условиях перехода к рыночным отношениям: материалы международной научно-практической конференции. — Минск : Хата, 1998. — С. 181–183.
13. Леонов В.В. Интегральные гематологические индексы как способ оценки реактивных изменений крови на нагрузку антиоксидантами / В.В. Леонов, О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко и др. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. — 2022. — № 4. — С. 133–140.



14. Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб: врожденный иммунитет / В.И. Лукьяненко. — Москва : Агропромиздат, 1989. — 271 с.
15. Макаревич Н.А. Лизосомально-катионный тест для оценки резистентности организма крупного рогатого скота / Н.А. Макаревич // Ветеринария. — 1988. — № 5. — С. 26–28.
16. Нестерова И.В. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова [и др.] // Иммунология. — 2015. — Т. 36, № 4. — С. 257–265.
17. Пазушкина О.В. Основы метрологии, стандартизации, сертификации и контроля качества : учебное пособие / О.В. Пазушкина. — Ульяновск : УлГТУ, 2015. — 148 с.
18. Петров Р.В. Я или не я: иммунологические мобили / Р.В. Петров. — Москва : Молодая гвардия, 1983. — 272 с.
19. Пигаревский В.Е. К методике применения лизосомально-катионного теста в лабораторной диагностической практике / В.Е. Пигаревский, Ю.А. Мазинг // Лабораторное дело. — 1988. — № 10. — С. 579–582.
20. Пилькевич И.А. Математическое моделирование динамики популяций / И.А. Пилькевич, А.В. Маевский // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. — 2010. — № 3/6(45). — С. 50–53.
21. Пономарева Е.Н. Особенности выращивания бестера в условиях зарегулирования параметров водной среды / Е.Н. Пономарева, М.Н. Сорокина, М.М. Богатырева [и др.] // Вестник АГТУ. Нефтегазовые технологии и экологическая безопасность. — 2006. — № 3(32). — С. 64–70.
22. Ращиков В.И. Численные методы решения физических задач: учебное пособие / В.И. Ращиков, А.С. Рошаль. — СПб. : Лань, 2005. — 208 с.
23. Сороко С.И. Значение стресс-реакции в интегративном ответе организма человека на острое гипоксическое воздействие / С.И. Сороко // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. — 2016. — № 4. — С. 88–95.
24. Ходоревская Р.П. Современное состояние запасов осетровых Каспийского бассейна и меры по их сохранению / Р.П. Ходоревская, В.А. Калмыков, А.А. Жилкин // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2012. — № 1. — С. 99–106.
25. Fazio F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review / F. Fazio // Aquaculture. — 2019. — Vol. 500. — P. 237–242.
26. Ghirmai S. Improving the stability of red blood cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and herring (*Clupea harengus*): potential solutions for post-mortem fish handling to minimize lipid oxidation / S. Ghirmai, L. Eriksson, H. Wu [et al.] // Food and Bioprocess Technology. — 2020. — Vol. 13. — P. 1344–1355.
27. Harper C. Morphological effects of the stress response in fish / C. Harper, J.C. Wolf // ILAR Journal. — 2009. — Vol. 50, № 4. — P. 387–396.
28. Magnoni L.J. Acute stress and an electrolyte-imbalanced diet, but not chronic hypoxia, increase oxidative stress and hamper innate immune status in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) isogenic line / L.J. Magnoni, S. Novais, E. Eding [et al.] // Frontiers in Physiology. — 2019. — Vol. 10. — P. 453.
29. Mocsa A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond / A. Mocsa // Journal of Experimental Medicine. — 2013. — Vol. 210, № 7. — P. 1283–1299.
30. Refaey M.M. High stocking density alters growth performance, blood biochemistry, intestinal histology, and muscle quality of channel catfish *Ictalurus punctatus* / M.M. Refaey, D. Li, X. Tian [et al.] // Aquaculture. — 2018. — № 492. — P. 73–81.
31. Sheshachalam A. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils / A. Sheshachalam, N. Srivastava, T. Mitchell [et al.] // Frontiers in Immunology. — 2014. — Vol. 5. — Art. 448. — P. 1–11.
32. Topic Popovic N. Tricaine methane-sulfonate (MS222) application in fish anaesthesia / N. Topic Popovic, I. Strunjak-Perovic, R. Coz-Rakovac [et al.] // Journal of Applied Ichthyology. — 2012. — Vol. 28. — P. 553–564.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Bakhchoyan M.R. Indeks sootnosheniya neyetrofilov k limfotsitam kak prediktor neblagopriyatnogo prognoza u patsiyentov s serdechnoy nedostatochnost'yu nekoronarogennoy etiologii [Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictor of unfavorable prognosis in patients with heart failure of non-coronary etiology] / M.R. Bakhchoyan, E.D. Kosmacheva, A.A. Slavinsky // Klinicheskaya praktika [Clinical Practice]. — 2017. — № 3. — P. 48–52. [in Russian]
2. Valedskaya O.M. Prognosticheskiye vozmozhnosti dvukh immunologicheskikh testov [Prognostic capabilities of two immunological tests] / O.M. Valedskaya // Ekologicheskkiye problemy okhrany zhivoy prirody [Ecological Problems of Wildlife Protection]. — Moscow, 1998. — P. 110–111. [in Russian]
3. Gilyarov A.M. Populyatsionnaya ekologiya [Population ecology] : textbook / A.M. Gilyarov. — Moscow : MSU Publishing House, 1990. — 191 p. [in Russian]
4. Glantz S. Mediko-biologicheskaya statistika [Biomedical statistics] / S. Glantz. — Moscow : Praktika, 1998. — 459 p. [in Russian]
5. Egorova V.I. Dinamika integral'nykh gematologicheskikh indeksov ryb pri khronicheskoy intoksikatsii [Dynamics of integral hematological indices of fish under chronic intoxication] / V.I. Egorova, I.V. Volkova // Rybnoye khozyaystvo [Fisheries]. — 2024. — № 1. — P. 81–88. [in Russian]
6. Zhukov A.P. Informativnost' leykotsitarnykh indeks



7. Ivanova N.T. Atlas kletok krovi ryb (sravnitel'naya morfologiya i klassifikatsiya formennykh elementov krovi ryb) [Atlas of fish blood cells (comparative morphology and classification of formed elements of fish blood)] / N.T. Ivanova. — Moscow : Forestry and Food Industry, 1982. — 184 p. [in Russian]
8. Kozlyuk A.S. Immunologicheskiye metody v gigiyenicheskikh issledovaniyakh [Immunological methods in hygienic research] / A.S. Kozlyuk, L.A. Anisimova, I.G. Shroyt. — Kishinev : Shtiintsa, 1987. — 211 p. [in Russian]
9. Katsnelson B.A. Eksperimental'noye modelirovaniye i matematicheskoye opisaniye khronicheskoy kombinirovannoy toksichnosti kak osnova analiza mnogofaktornykh khimicheskikh riskov dlya zdorov'ya [Experimental modeling and mathematical description of chronic combined toxicity as a basis for analyzing multifactorial chemical health risks] / B.A. Katsnelson, A.N. Varaksin, V.G. Panov [et al.] // Toksikologicheskiy vestnik [Toxicological Review]. — 2015. — № 5(134). — P. 37–45. [in Russian]
10. Kryuchkov V.N. Immuno-fiziologicheskiye issledovaniya v praktike tovarnogo rybovodstva [Immuno-physiological studies in the practice of commercial fish farming] / V.N. Kryuchkov // Pervyy rossiysko-amerikanskiy simpozium "Akvakultura i zdorov'ye ryb" [First Russian-American Symposium "Aquaculture and Fish Health"] : working program and abstracts. — Moscow, 1998. — P. 111–113. [in Russian]
11. Kryuchkov V.N. Primeneniye immunofiziologicheskikh testov dlya otsenki rezistentnosti bestera [Application of immunophysiological tests for assessing the resistance of baster] / V.N. Kryuchkov, O.M. Valedskaya, Yu.B. Alinovskaya // Vestnik AGTU. Rybnoye khozyaystvo [Bulletin of ASTU. Fisheries]. — Astrakhan : ASTU Publishing House, 2000. — P. 63–68. [in Russian]
12. Kryuchkov V.N. Morfhofunktsional'noye testirovaniye molodi bestera v tovarnom khozyaystve [Morphofunctional testing of baster juveniles in a commercial farm] / V.N. Kryuchkov, N.N. Fedorova, O.M. Valedskaya [et al.] // Problemy razvitiya rybnogo khozyaystva na vnutrennikh vodoyemakh v usloviyakh perekhoda k rynochnym otnosheniyam [Problems of the development of fisheries on inland water bodies in the context of transition to market relations] : Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. — Minsk : Khata, 1998. — P. 181–183. [in Russian]
13. Leonov V.V. Integral'nyye gematologicheskiye indeksy kak sposob otsenki reaktivnykh izmeneniy krovi na nagruzku antioksidantami [Integral hematological indices as a way to assess reactive blood changes under the load of antioxidants] / V.V. Leonov, O.N. Pavlova, O.N. Gulenko et al. // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoye izdaniye [Journal of New Medical Technologies. Electronic Edition]. — 2022. — № 4. — P. 133–140. [in Russian]
14. Lukyanenko V.I. Immunobiologiya ryb: vrozhdennyi immunitet [Fish immunobiology: innate immunity] / V.I. Lukyanenko. — Moscow : Agropromizdat, 1989. — 271 p. [in Russian]
15. Makarevich N.A. Lizosomal'no-kationnyy test dlya otsenki rezistentnosti organizma krupnogo rogatogo skota [Lysosomal-cationic test for assessing the resistance of the cattle body] / N.A. Makarevich // Veterinariya [Veterinary Medicine]. — 1988. — № 5. — P. 26–28. [in Russian]
16. Nesterova I.V. Neytrofil'nyye granulotsity: novyy vzglyad na "starykh igrokov" na immunologicheskom pole [Neutrophilic granulocytes: a new look at the "old players" on the immunological field] / I.V. Nesterova, N.V. Kolesnikova, G.A. Chudilova [et al.] // Immunologiya [Immunology]. — 2015. — Vol. 36, № 4. — P. 257–265. [in Russian]
17. Pazushkina O.V. Osnovy metrologii, standartizatsii, sertifikatsii i kontrolya kachestva [Fundamentals of metrology, standardization, certification and quality control] : textbook / O.V. Pazushkina. — Ulyanovsk : UISTU, 2015. — 148 p. [in Russian]
18. Petrov R.V. Ya ili ne ya: immunologicheskiye mobil [Me or not me: immunological mobiles] / R.V. Petrov. — Moscow : Molodaya gvardiya, 1983. — 272 p. [in Russian]
19. Pigarevsky V.E. K metodike primeneniya lizosomal'no-kationnogo testa v laboratornoy diagnosticheskoy praktike [On the methodology of applying the lysosomal-cationic test in laboratory diagnostic practice] / V.E. Pigarevsky, Yu.A. Mazing // Laboratornoye delo [Laboratory Practice]. — 1988. — № 10. — P. 579–582. [in Russian]
20. Pilkevich I.A. Matematicheskoye modelirovaniye dinamiki populyatsiy [Mathematical modeling of population dynamics] / I.A. Pilkevich, A.V. Maevsky // Vostochno-Yevropeyskiy zhurnal peredovykh tekhnologiy [Eastern European Journal of Advanced Technologies]. — 2010. — № 3/6(45). — P. 50–53. [in Russian]
21. Ponomareva E.N. Osobennosti vyrashchivaniya bestera v usloviyakh zaregulirovaniya parametrov vodnoy sredy [Features of rearing baster under conditions of regulated aquatic environment parameters] / E.N. Ponomareva, M.N. Sorokina, M.M. Bogatyreva [et al.] // Vestnik AGTU. Neftegazovyye tekhnologii i ekologicheskaya bezopasnost' [Bulletin of ASTU. Oil and Gas Technologies and Environmental Safety]. — 2006. — № 3(32). — P. 64–70. [in Russian]
22. Rashchikov V.I. Chislennyye metody resheniya fizicheskikh zadach [Numerical methods for solving physical problems] : textbook / V.I. Rashchikov, A.S. Roshal. — St. Petersburg : Lan', 2005. — 208 p. [in Russian]
23. Soroko S.I. Znachenie stress-reaktsii v integrativnom otvete organizma cheloveka na ostroye gipoksicheskoye vozdeystviye [The significance of the stress reaction in the integrative response of the human body to acute hypoxic exposure] / S.I. Soroko // Vestnik obrazovaniya i razvitiya nauki Rossiyskoy akademii yestestvennykh nauk [Bulletin of Education and Development of Science of the Russian Academy of Natural Sciences]. — 2016. — № 4. — P. 88–95. [in Russian]
24. Khoderevskaya R.P. Sovremen



26. Ghirmai S. Improving the stability of red blood cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and herring (*Clupea harengus*): potential solutions for post-mortem fish handling to minimize lipid oxidation / S. Ghirmai, L. Eriksson, H. Wu [et al.] // *Food and Bioprocess Technology*. — 2020. — Vol. 13. — P. 1344–1355.
27. Harper C. Morphological effects of the stress response in fish / C. Harper, J.C. Wolf // *ILAR Journal*. — 2009. — Vol. 50, № 4. — P. 387–396.
28. Magnoni L.J. Acute stress and an electrolyte-imbalanced diet, but not chronic hypoxia, increase oxidative stress and hamper innate immune status in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) isogenic line / L.J. Magnoni, S. Novais, E. Eding [et al.] // *Frontiers in Physiology*. — 2019. — Vol. 10. — P. 453.
29. Mocsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond / A. Mocsai // *Journal of Experimental Medicine*. — 2013. — Vol. 210, № 7. — P. 1283–1299.
30. Refaey M.M. High stocking density alters growth performance, blood biochemistry, intestinal histology, and muscle quality of channel catfish *Ictalurus punctatus* / M.M. Refaey, D. Li, X. Tian [et al.] // *Aquaculture*. — 2018. — № 492. — P. 73–81.
31. Sheshachalam A. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils / A. Sheshachalam, N. Srivastava, T. Mitchell [et al.] // *Frontiers in Immunology*. — 2014. — Vol. 5. — Art. 448. — P. 1–11.
32. Topic Popovic N. Tricaine methane-sulfonate (MS222) application in fish anaesthesia / N. Topic Popovic, I. Strunjak-Perovic, R. Coz-Rakovac [et al.] // *Journal of Applied Ichthyology*. — 2012. — Vol. 28. — P. 553–564.