



UNIWERSYTET  
WARMIŃSKO-MAZURSKI  
W OLSZTYNIE

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji



lek. wet. inż. Karolina Naumowicz

**Wpływ kąpiei profilaktycznych na obraz patomorfologiczny  
wybranych narządów pstrąga tęczowego  
*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)**

Rozprawa doktorska

Promotor:

prof. dr hab. Józef Szarek, prof. zw.

Promotor pomocniczy:

dr inż. Anna Wiśniewska

OLSZTYN, 2021 R.

## **Podziękowania**

*Pragnę złożyć serdeczne podziękowania moim Promotorom,  
Panu prof. dr hab. Józefowi Szarkowi i Pani dr inż. Annie Wiśniewskiej,  
za okazane zaufanie, niezmierną życzliwość, bezcenne rady,  
motywację do krytycznego spojrzenia na problematykę badawczą,  
wsparcie w jasnym formułowaniu myśli naukowej,  
oraz wszechstronną i nieocenioną pomoc,  
udzieloną w trakcie przygotowywania pracy doktorskiej.*

*Wyrazy wdzięczności składam wszystkim pracownikom  
Katedry Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji,  
dziękując za przekazaną wiedzę, pomoc oraz przyjazną atmosferę pracy.*

*Szczególnie dziękuję mgr inż. Krystynie Dublan  
za czas poświęcony na nauczanie mnie tajników obróbki histologicznej tkanek.*

*Dziękuję również pracownikom Katedry Epizootologii,  
prof. dr hab. Wojciechowi Szwedzie, za udostępnienie laboratoriów,  
dzięki czemu możliwe było wykonanie doświadczeń do niniejszej pracy,  
a także dr Elżbiecie Terech-Majewskiej,  
za inspirację do badań i nieustającą motywację do zgłębiania zagadnień ichtiopatologicznych.*

*Chciałam wyrazić głęboką wdzięczność dr Patrycji Schulz oraz dr Joannie Pajdak-Czaus,  
za wszystkie wspólnie spędzone godziny w laboratorium oraz płomienne dyskursy naukowe.*

*Dziękuję członkom European Association of Fish Pathologists, wykładowcom kierunku  
Rybnictwo oraz wszystkim osobom, których wiedza i życzliwość  
przyczyniły się do powstania niniejszej pracy.*

*Cichym bohaterom, moim najbliższymi – partnerowi, rodzinie i przyjaciołom,  
dziękuję za okazywaną troskę, nieustającą wiarę, wyrozumiałość, bezwarunkowe wsparcie  
i cierpliwe słuchanie wszystkich opowieści o rybach.*

## Spis treści

1.	STRESZCZENIE.....	3
2.	SUMMARY .....	5
3.	WPROWADZENIE I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA.....	7
3.1.	Pstrąg tęczowy ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	8
3.1.1.	Stanowisko systematyczne.....	8
3.1.2.	Zmienność wewnątrzgatunkowa.....	10
3.1.3.	Cechy taksonomiczne.....	13
3.1.3.1.	Morfologia i cechy anatomiczne.....	13
3.1.3.2.	Ubarwienie.....	13
3.1.4.	Zasięg występowania .....	18
3.1.5.	Biologia.....	20
3.1.6.	Warunki hodowli.....	22
3.1.7.	Znaczenie gospodarcze .....	24
3.2.	Kąpiele profilaktyczne w gospodarce rybackiej .....	28
3.2.1.	Regulacje prawne stosowania kąpiele profilaktycznych .....	32
3.3.	Skóra .....	36
3.3.1.	Funkcje skóry.....	36
3.3.2.	Budowa anatomiczna i histologiczna.....	37
3.4.	Skrzela.....	44
3.4.1.	Funkcje skrzeli .....	44
3.4.2.	Budowa anatomiczna i histologiczna.....	45
3.5.	Śluz.....	50
3.6.	Składniki układu odpornościowego .....	52
4.	UZASADNIENIE I CELE PRACY .....	58
5.	MATERIAŁY I METODY .....	59
5.1.	Zwierzęta.....	59
5.2.	Grupy doświadczalne.....	60
5.3.	Przebieg kąpiele.....	62
5.4.	Pomiary biometryczne i wskaźniki narządowe.....	63
5.5.	Pobór tkanek i obróbka histopatologiczna .....	65
5.6.	Ocena preparatów.....	68
5.7.	Analizy statystyczne.....	74
6.	WYNIKI.....	75
6.1.	Parametry wody w trakcie doświadczenia .....	75
6.2.	Pomiary biometryczne i wskaźniki narządowe.....	79

6.3.	Ocena histopatologiczna skóry .....	83
6.3.1.	Mapy cieplne zmian .....	83
6.3.2.	Współczynniki wzorców reakcji i reakcji narządu.....	102
6.4.	Ocena histopatologiczna skrzeli.....	112
6.4.1.	Mapy cieplne zmian .....	112
6.4.2.	Współczynniki wzorców reakcji i reakcji narządu.....	131
6.5.	Analiza współczynników całościowych.....	142
7.	DYSKUSJA .....	153
7.1.	Czynniki wpływające na skuteczność kąpiei profilaktycznych .....	153
7.2.	Reakcje na uszkodzenia i mechanizmy naprawcze w skórze i skrzelach ryb .....	160
7.3.	Wskaźniki narządowe .....	165
7.4.	Ocena histopatologiczna .....	170
7.4.1.	Formaldehyd .....	175
7.4.2.	Chlorek sodu .....	178
7.4.3.	Siarczan miedzi (II).....	182
8.	WNIOSKI.....	186
9.	PIŚMIENNICTWO .....	189
10.	SPIS AKTÓW NORMATYWNYCH .....	219
11.	SPIS TABEL, RYCIN I RÓWNAŃ .....	221
11.1.	Spis tabel .....	221
11.2.	Spis rycin.....	227
11.3.	Spis równań.....	234
12.	WYKAZ SYMBOLI, OZNACZEŃ I SKRÓTÓW .....	235
12.1.	Wykaz symboli i oznaczeń.....	235
12.2.	Wykaz skrótów .....	236



## 1. STRESZCZENIE

Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) jest wiodącym gatunkiem polskiej akwakultury, a także jednym z najważniejszych gatunków ryb hodowlanych w Europie i na świecie. Szacuje się, że światowa populacja osiągnie 10 miliardów ludzi do 2050 r. Aby zaspokoić przewidywane wymagania żywieniowe rosnącej populacji, produkcja zwierząt wodnych musi podwoić się do 2050 r., a ze względu na wyczerpanie możliwości środowiskowych wszelki wzrost będzie musiał pochodzić z akwakultury. Największym zagrożeniem dla rozwoju tego sektora produkcji żywności są choroby, a nasilające się zmiany klimatyczne mogą zwiększać ryzyko ich pojawiania się i rozprzestrzeniania. Aby ograniczyć do minimum ryzyko wystąpienia chorób i konieczność leczenia ryb, istotnym jest podjęcie działań bioasekuracyjnych i profilaktycznych, do których zaliczane są m.in. kąpiele antyseptyczne. Doniesienia literaturowe dotyczące skutków patomorfologicznego oddziaływania na organizm pstrąga dawek antyseptyków, stosowanych w lekarsko-weterynaryjnej praktyce ichtiopatologicznej, są skąpe. Brakuje również wystandaryzowanych badań porównawczych, które pozwoliłyby na właściwe oszacowanie stosunku ryzyka do zysków w zakresie zdrowia, w przypadku podjęcia decyzji o użyciu poszczególnych substancji w chowie i hodowli pstrąga.

Praca ma na celu określenie i porównanie wpływu jednorazowego, dwukrotnego i trzykrotnego stosowania kąpiei profilaktycznych z wykorzystaniem formaldehydu (w dawce  $0,25 \text{ kg m}^{-3}$ ), chlorku sodu (w dawce  $20 \text{ kg m}^{-3}$ ) i siarczanu miedzi (II) (w dawce  $0,003 \text{ kg m}^{-3}$ ) na obraz patomorfologiczny skóry i skrzelu klinicznie zdrowych pstrągów tęczowych. W doświadczeniu wykorzystano 360 sztuk narybku pstrąga tęczowego w wieku 0+ o średniej masie  $88,87 \pm 32,53 \text{ g}$ . Od każdego zwierzęcia pobrano fragment skóry i skrzelu, które utrwalono w utrwalaczu Davidsona. Skrawki tkanek poddano standardowej obróbce histopatologicznej, a następnie barwiono według dwóch metod: przy użyciu hematoksyliny-eozyny oraz błękitu alcjańskiego z kwasem nadjodowym i odczynnikiem Schiffa. Ocenie mikroskopowej poddano 1 440 preparatów. W pracy wykorzystano metody półilościowe, takie jak ocena wskaźników narządowych i ocena histopatologiczna z wykorzystaniem współczynników wzorców reakcji i współczynników reakcji narządów.

Uzyskane wyniki dowiodły, że jednokrotna ekspozycja na formalinę w dawce  $0,25 \text{ kg m}^{-3}$ , z zachowaniem środków bezpieczeństwa w postaci zwiększenia aeracji w basenach, nie wpłynęła toksycznie na skórę i miała bardzo słabo wyrażone działanie na obraz morfologiczny skrzeli pstrąga. Stwierdzono, że toksyczność formaliny wrastała wraz z zastosowaniem kolejnych dawek. Wykazano, że jednokrotna ekspozycja na chlorek sodu w dawce  $20 \text{ kg m}^{-3}$  powoduje większe zróżnicowanie obrazu patomorfologicznego badanych narządów pstrąga niż jednokrotna ekspozycja na formalinę, a różnice pomiędzy wpływem tych substancji na obraz patomorfologiczny skóry i skrzeli pstrąga maleją wraz z ekspozycją na drugą i trzecią dawkę. Badanie potwierdziło toksyczne działanie chlorku sodu w stosunku do analizowanych narządów, przejawiające się w badanych parametrach. Niezależnie od liczby dawek, zastosowanie kąpieli z siarczanem miedzi (II) w dawce  $0,003 \text{ kg m}^{-3}$  powodowało wystąpienie najintensywniejszych zmian morfologicznych.

## 2. SUMMARY

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) is the leading species of Polish aquaculture, as well as one of the most important species of farmed fish in Europe and globally. The world population is estimated to reach 10 billion by 2050. To meet the expected nutritional requirements of a growing population, aquatic animal production must double by 2050, and any increase will have to come from aquaculture as environmental opportunities are compromised. Diseases are the greatest threat to the development of this food production sector and increasing climate changes may increase the risk of their emergence and spread. To minimize the risk of diseases and the need of fish treatment, it is important to take biosecurity and preventive measures, which include, inter alia, antiseptic baths. There is scarcity of scientific reports on the effects of doses of antiseptics on pathomorphology of trout, which are used in veterinary ichthyopathological practice. There is also a lack of standardized comparative studies that would allow a proper risk-benefit assessment in terms of health if a decision must be made to use antiseptic substances in trout farming.

The work aims to determine and compare the effect of single, double, and triple prophylactic bath treatments with the use of formaldehyde (dose of  $0,25 \text{ kg m}^{-3}$ ), sodium chloride (dose of  $20 \text{ kg m}^{-3}$ ) and copper (II) sulphate (dose of  $0,003 \text{ kg m}^{-3}$ ) on the pathomorphology of the skin and gills of clinically healthy rainbow trout. Fry of rainbow trout in number 360, age 0+ with an average weight of  $88,87 \pm 32,53 \text{ g}$  was used in the experiment. Fragments of skin and gills were sampled from each animal and fixed in Davidson's fixative. Tissue sections were subjected to standard histopathological processing and then stained according to two methods: haematoxylin-eosin and Alcian blue/periodic acid–Schiff reagent. 1 440 slides were evaluated. The work uses semi-quantitative methods, such as the assessment of condition-related indicators and the histopathological evaluation with the use of organ reaction indices.

The obtained results showed that a single exposure to formalin at a dose of  $0,25 \text{ kg m}^{-3}$ , with safety measures in the form of increased aeration in tanks, had no toxic effect on the skin and had a very weak effect on the morphological image of trout gills. Formalin toxicity was found to increase with the use of subsequent doses. It has been shown that a single exposure to sodium chloride at a dose of  $20 \text{ kg m}^{-3}$  has stronger effect on the pathomorphology of the examined trout organs than a single exposure

to formalin, and the difference between effects of these substances on the pathomorphology of trout skin and gills decreases with the exposure to the second and third dose. The study confirmed the toxic effect of sodium chloride to the analysed organs, manifested in the tested parameters. Regardless of the number of doses, the application of the bath treatment with copper (II) sulphate in the dose of  $0,003 \text{ kg m}^{-3}$  resulted in the most intense pathomorphological changes.

### 3. WPROWADZENIE I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

Oczekuje się, że liczba ludności na świecie do 2050 r. osiągnie około 10 miliardów, zwiększając zapotrzebowanie na żywność o ponad połowę w stosunku do obecnego (FAO, 2017). Tymczasem zmiany wzorców żywieniowych na całym świecie mają konsekwencje dla zdrowia publicznego i zrównoważonego rozwoju. W miarę jak systemy produkcyjne stają się coraz bardziej ze sobą połączone, a zmiany klimatyczne nasilają się, wzrasta również zagrożenie chorobami odzwierzęcymi i przenoszonymi przez żywność pochodzenia zwierzęcego (FAO, 2017). W związku z tym zapewnienie bezpieczeństwa żywności jest niezwykle istotne, ponieważ niebezpieczna żywność wciąż pozostaje jedną z głównych przyczyn chorób i zgonów ludzi na świecie (WHO, 2015).

Ryby i produkty akwakultury (m.in. mięczaki, skorupiaki, glony) są obecnie uznawane nie tylko za jedno z najzdrowszych pokarmów na naszej planecie, ale także za jedno z najmniej szkodliwych dla środowiska naturalnego (FAO, 2020). Z tych powodów akwakultura powinna być bardziej uwzględniana w krajowych i globalnych strategiach bezpieczeństwa żywnościowego, aby zapewnić wyeliminowanie niedożywienia i głodu (FAO, 2020; OIE, 2021).

Światowe spożycie ryb i produktów akwakultury wciąż rośnie i obecnie przekracza 20 kg rocznie na osobę (FAO, 2017). W 2017 r. białko ryb stanowiło 17% całkowitego spożycia białek zwierzęcych na świecie oraz 7% wszystkich spożywanych białek. W krajach rozwijających się, proporcja ta jest znacząco wyższa – ryby stanowią ponad połowę spożywanych białek zwierzęcych (FAO, 2020). Oczekuje się, że rosnący światowy trend spożycia ryb utrzyma się wraz ze wzrostem dochodów i rosnącą świadomością konsumentów, że ryby i produkty akwakultury mogą być zdrową alternatywą dla mięsa ptaków i ssaków hodowlanych (FAO, 2017).

Jednym z czynników najbardziej ograniczających dalszy rozwój akwakultury jest zdrowotność hodowanych zwierząt (FAO, 2020; OIE, 2021). Nakłada to na hodowców i lekarzy weterynarii konieczność zapewnienia nie tylko dobrego stanu zdrowotnego zwierząt (zwłaszcza przez podjęcie działań profilaktycznych), ale też utrzymanie odpowiednich warunków higienicznych na wszystkich etapach produkcji i obrotu, aby zagwarantować bezpieczeństwo żywności (Brenghalle, 2015; Grudniewska i Terech-Majewska, 2015; Hine i in., 2012; Jennings i in., 2016; Naumowicz, 2017).

### 3.1. Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*)

#### 3.1.1. Stanowisko systematyczne

Królestwo: zwierzęta, Animalia

Typ: strunowce, Chordata

Podtyp: kręgowce, Vertebrata

Infratyp: żuchwowce, Gnathostomata

Nadgromada: promieniopłetwe, Actinopterygii

Gromada: doskonałokostne, Teleostei

Nadrząd: przedkolcopłetwe, Protacanthopterygii

Rząd: łososiokształtne, Salmoniformes Bleeker, 1859

Rodzina: łososiowate, Salmonidae Rafinesque, 1815

Podrodzina: łososiowce Salmoninae

Rodzaj: *Oncorhynchus* Suckley, 1861

Gatunek: pstrąg tęczowy *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792

Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss* - *O.m.*) został pierwotnie nazwany i opisany przez niemieckiego przyrodnika i taksonoma Johanna Juliusa Walbauma w 1792 r. na podstawie okazów pochodzących z Półwyspu Kamczackiego na Syberii. Epitet gatunkowy *mykiss* pochodzi od lokalnej nazwy tej ryby używanej przez Czukczów „mykizha” (Behnke, 2002; Smith i Stearley, 1989). Natomiast nazwa rodzajowa *Oncorhynchus* została zaproponowana w 1861 r. przez George'a Suckleya, przyrodnika-chirurga z Pacific Railroad Surveys. Pochodzi od dwóch zlatynizowanych greckich słów ὄγκος (ónkos; garb, hak) i ῥύγχος (rhynchos; pysk) oznaczających „haczykowaty pysk”, odnosząc się do haczykowato wygiętej żuchwy u samców w okresie tarłowym (ang. kype) (Ryc. 1) (Behnke, 2002; Haugland i in., 2011).



Ryc. 1) Dojrzały samiec pstrąga czerwonosmugiego (*O. m. gairdneri*) w okresie tarłowym (za Behnke, 2002).

### 3.1.2. Zmienność wewnątrzgatunkowa

Pstrąg tęczowy jako gatunek tworzy dwie formy – wędrowną i osiadłą. Wędrowne pstrągi tęczowe (czasami nazywane pstrągiem stalowogłowym, stalogłowcem lub stalowcem, ang. steelhead) są anadromiczną (morską) formą pstrąga tęczowego przybrzeżnego (*O. m. irideus*) i pstrąga czerwonosmugiego z Columbia River (*O. m. gairdneri*). Wczesny okres życia spędzają w rzece, jako smolty spływają do oceanu gdzie żerują przez 2-3 lata, po czym wracają na tarło do wód słodkich. Stalowcami czasami są również nazywane osobniki słodkowodnych podgatunków pstrąga tęczowego introdukowane do Wielkich Jezior i migrujące na tarło w górę dopływów. Forma osiadła (ang. shasta) cały okres życia spędza w wodach słodkich (Kendall i in., 2015; McPhee i in., 2007). Tworzy ona kilkanaście podgatunków (m.in. *O. m. gilbertii*, *O. m. regalis*, *O. m. kamloops*, *O. m. stonei*, *O. m. gairdneri*) i wiele populacji lokalnych (Goryczko, 2000; Kendall, 1988; Needham i Behnke, 1962; Needham i Gard, 1959).

Podgatunki pstrąga tęczowego można podzielić na 5 podgrup związanych z pierwotnym obszarem występowania: typ kamczacki (nomenklatoryczny), formy przybrzeżne, formy czerwonosmugie, pstrągi złociste z Kern River i formy meksykańskie. Zasięg występowania poszczególnych form i podgatunków wymieniono w Tab. 1, zgodnie z opisem ichtiobiologa Roberta J. Behnke (Behnke, 2002).

Tab. 1) Podgatunki pstrąga tęczowego (za Behnke, 2002 w modyfikacji własnej).

Forma geograficzna	Nazwa potoczna	Nazwa naukowa	Zasięg występowania
<i>Typ nomenklatoryczny kamczacki</i>	pstrąg tęczowy kamczacki	<i>O. m. mykiss</i> (Walbaum, 1792)	Zachodni Pacyfik: Półwysep Kamczacki i na wschód od Kamczatki, sporadycznie na Morzu Ochockim, aż do ujścia rzeki Amur.
<i>Formy przybrzeżne</i>	pstrąg tęczowy przybrzeżny	<i>O. m. irideus</i> (Gibbons, 1855)	Dopływy Oceanu Spokojnego od Wysp Aleuckich na Alasce na południe do Południowej Kalifornii.
	pstrąg Beardslee	<i>O. m. irideus</i> var. <i>beardsleei</i> (Jordan, 1896)	Wyłącznie w Lake Crescent w stanie Waszyngton, USA.
<i>Formy czerwonosmugie</i>	pstrąg czerwonosmugi z Columbia River	<i>O. m. gairdnerii</i> (Richardson, 1836)	Występuje w rzece Columbia i jej dopływach w stanach Montana, Waszyngton i Idaho, USA.
	pstrąg tęczowy Athabasca	<i>O. m. spp.</i>	Występuje w górnym biegu rzeki Athabasca w Albercie, Kanada.



Forma geograficzna	Nazwa potoczna	Nazwa naukowa	Zasięg występowania
<i>Formy czerwonosmugie</i>	pstrąg czerwonosmugi z McCloud River	<i>O. m. stonei</i> (Jordan, 1894)	Pochodzi z rzeki McCloud, w górnym biegu Middle Falls i jej dopływów w północnej Kalifornii, USA, na południe od Mount Shasta.
	pstrąg czerwonosmugi z Sheepheaven Creek	<i>O. m. spp.</i>	Pochodzi z Sheepheaven Creek w hrabstwie Siskiyou w Kalifornii, USA.
	pstrąg czerwonosmugi z Wielkiej Kotliny	<i>O. m. newberrii</i> (Girard, 1859)	Pochodzi z południowo-wschodniego Oregonu oraz części Kalifornii i Nevady na obrzeżach Wielkiej Kotliny, USA.
	pstrąg z Eagle Lake	<i>O. m. aquilarum</i> (Snyder, 1917)	Endemiczny dla alkalicznego Eagle Lake w hrabstwie Lassen w Kalifornii, USA.
	pstrąg tęczy z Kamloops	<i>O. m. kamloops</i> (Jordan, 1892)	Pochodzi z kilku dużych jezior Kolumbii Brytyjskiej, USA, w szczególności Kamloops Lake i Kootenay Lake.
<i>Pstrąg złocisty z Kern River</i>	pstrąg złocisty, kalifornijski	<i>O. m. aguabonita</i> (GST1)	Pochodzi z Golden Trout Creek (dopływ rzeki Kern), Volcano Creek (dopływ Golden Trout Creek) i South Fork Kern River.
	pstrąg złocisty	(Jordan, 1892)	
	pstrąg tęczy z Kern River	<i>O. m. gilberti</i> (GST1Q) (Jordan, 1894)	Endemiczne dla rzeki Kern i jej dopływów w hrabstwie Tulare w Kalifornii, USA. Obecny zasięg jest drastycznie zmniejszony w porównaniu z dawnym zasięgiem. Resztki populacji żyją w rzece Kern powyżej Durrwood Creek, w górnych potokach Ninemile, Rattlesnake i Osa oraz prawdopodobnie w górnej części Peppermint Creek.
<i>Formy meksykańskie</i>	pstrąg złocisty z Little Kern	<i>O. m. whitei</i> (GST2Q) (Evermann, 1906)	Występuje endemicznie dla około 100 mil (160 km) rzeki Little Kern (USA) i jej dopływów. Ich obecny zasięg jest ograniczony do pięciu górnych strumieni w dorzeczu rzeki Kern (Wet Meadows, Deadman, Soda Spring, Willow, Sheep and Fish Creek) oraz wprowadzonej populacji w Coyote Creek, dopływie rzeki Kern.
	pstrąg tęczy z Baja California, pstrąg San Pedro Martir, pstrąg Nelsona	<i>O. m. nelsoni</i> (Evermann, 1908)	Występuje w trzech różnych grupach geograficznych: <ul style="list-style-type: none"> <li>• dorzecza Rio Yaqui, Rio Mayo i Guzman;</li> <li>• dorzecze Rio San Lorenzo i Arroyo la Sidra;</li> <li>• dorzecze Rio del Presidio.</li> </ul>

Należy podkreślić, że proponowany podział jest umowny, ponieważ wśród badaczy tego zagadnienia wciąż nie ma pełnego konsensusu (Rasmussen i Taylor, 2009). Wymieniony w Tab. 1 *O. m. irideus* var. *beardsleei* nie jest właściwym podgatunkiem, lecz genetycznie unikalną odmianą przybrzeżnego pstrąga tęczowego tworzącą endemiczną populację w jeziorze Lake Crescent. Z kolei pstrąg Athabasca *O. m.* spp. przez Behnke (2002) uważany jest za formę *O. m. gairdneri*, ale uznany za oddzielny podgatunek przez biologa Carla i in. (1994) z Ontario Ministry of Resources, Aquatic Ecosystems Research Section i współpracowników z pracy opublikowanej w 1994 r. Hipoteza ta została obalona na podstawie badania częstotliwości występowania alleli w mikrosatelitarnych loci mitochondrialnego DNA (STR mtDNA) (McCusker i in., 2000; Tamkee i in., 2010; Taylor i in., 2006). Ponadto formy meksykańskie są przedmiotem nowych badań i spodziewane jest znaczne zróżnicowanie form w tej grupie (Behnke, 2002).

W międzynarodowej bazie danych Integrated Taxonomic Information System (ITIS) wymieniono 8 podgatunków (<http://www.itis.gov> dostęp 01.03.2021 r.):

- *Oncorhynchus mykiss aquilarum* (Snyder, 1917) – pstrąg z Eagle Lake,
- *Oncorhynchus mykiss gairdnerii* (Richardson, 1836) – pstrąg czerwonosmugi z Columbia River,
- *Oncorhynchus mykiss gilberti* (Jordan, 1894) – pstrąg złocisty Kern, pstrąg tęczowy z Kern River,
- *Oncorhynchus mykiss irideus* (Gibbons, 1955) – pstrąg tęczowy przybrzeżny,
- *Oncorhynchus mykiss mykiss* (Walbaum, 1792) – pstrąg tęczowy kamczacki,
- *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann, 1908) – pstrąg tęczowy z Baja California, pstrąg San Pedro Martir, pstrąg Nelsona,
- *Oncorhynchus mykiss stonei* (Jordan, 1894) – pstrąg złocisty z Sacramento,
- *Oncorhynchus mykiss whitei* (Evermann, 1906) – pstrąg złocisty z Little Kern.

### 3.1.3. Cechy taksonomiczne

#### 3.1.3.1. Morfologia i cechy anatomiczne

Pstrąga tęczowego charakteryzują takie cechy morfologiczne jak:

- ciało bocznie ściśnione, walcowate, dość dobrze wygrzbiecone,
- duża, silnie uzębiona jama gębowa,
- tylny brzeg kości szczękowych sięgający poza tylną krawędź oka,
- homocerkiczna płetwa ogonowa, umiarkowanie wcięta, z wiekiem wcięcie wypłyca się (Goryczko, 2000).

Na pierwszym łuku skrzelowym pstrąg posiada 16-17 wyrostków filtracyjnych (*Sp. branch*). Ma łuski cykloidalne, drobne, od 115 do 130 w wyraźnie widocznej linii nabocznej. Płetwa tłuszczowa (*pinna adiposa*) jest dobrze wykształcona. Pozostałe płetwy posiadają twarde i miękkie promienie:

- płetwa grzbietowa - od 3 do 4 promieni twardych i 10-12 promieni miękkich (D III-IV 10-12),
- płetwy piersiowe - 1 promień twardy i 12-17 promieni miękkich (P I 12-17),
- płetwy brzuszne - 1 promień twardy i 8-10 miękkich (V I 8-10),
- płetwa odbytowa - 3 twarde i 9-10 miękkich (A III 9-10).

U podstawy płetw brzusznych występują mięsiste wyrostki. Przewód pokarmowy jest stosunkowo krótki, żołądek w kształcie litery „U”, silnie umięśniony, w dolnej części posiada liczne wyrostki pyloryczne (*Ap. pyl.*) - od 27 do 80 (Goryczko, 2000).

#### 3.1.3.2. Ubarwienie

Ubarwienie pstrąga tęczowego jest zmienne, zależy od środowiska, wieku i płci osobnika. Przeciętnie grzbiet u typu nomenklatorycznego i ryb hodowlanych jest szarozielononiebieski, z licznymi czarnymi plamkami, występującymi również na płetwach: grzbietowej, ogonowej i tłuszczowej. Wzdłuż linii bocznej biegnie dość szeroka, opalizująca smuga koloru różowoczerwonego (Ryc. 2). W okresie tarła nabiera u samców szczególnie intensywnego zabarwienia. U osobników młodocianych występują duże owalne plamy wzdłuż linii nabocznej w liczbie od 5 do 10 zwane znakami narybkowymi (Ryc. 3) (Goryczko, 2000).



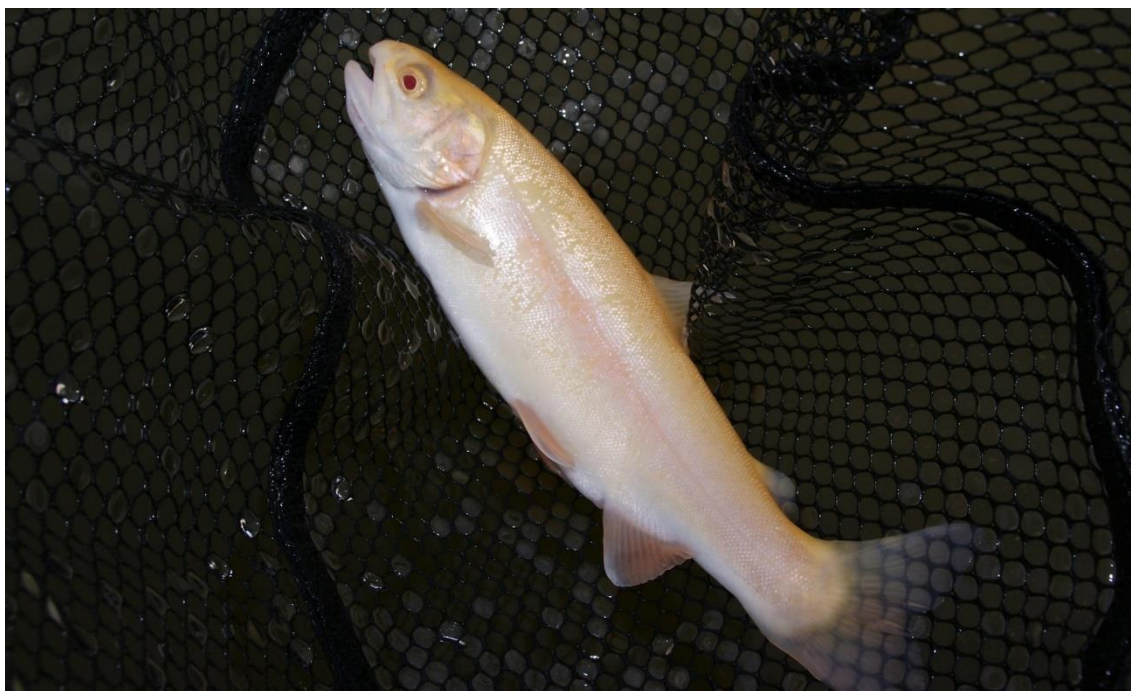
Ryc. 2) Typowe ubarwienie hodowlanego pstrąga tęczowego (Źródło: [https://www.pngkit.com/png/detail/84-842116\\_rainbow-trout-png-rainbow-trout.png](https://www.pngkit.com/png/detail/84-842116_rainbow-trout-png-rainbow-trout.png), dostęp 04.03.2021 r.).



Ryc. 3) Narybek pstrąga tęczowego z wyraźnie zaznaczonymi znakami narybkowymi (Źródło: [https://cdn5.nzgeo.com/1970/01/trout\\_flock-1600x1065.jpg](https://cdn5.nzgeo.com/1970/01/trout_flock-1600x1065.jpg), autor zdjęcia: George Novak, dostęp 04.03.2021 r.).

U pstrągów hodowlanych występują mutacje barwne. Najczęstsze z nich, dość dobrze zbadane i opisane, to ubarwienie albinotyczne (Ryc. 4), ksantoforyczne zwane palomino (Ryc. 5 i Ryc. 6), stalowoniebieskie zwane kobaltowym (Ryc. 7) oraz cętkowane zwane leopardzim lub appaloosa (Ryc. 8) (Blanc i in., 2006; Colihueque, 2010; Goryczko, 2000; Hattori i in., 2020).





Ryc. 4) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu albinotycznego (Źródło: [https://live.staticflickr.com/5014/5424066807\\_37908c69d9\\_h.jpg](https://live.staticflickr.com/5014/5424066807_37908c69d9_h.jpg), dostęp 04.03.2021 r.).



Ryc. 5) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu palomino (Źródło: [https://9b16f79ca967fd0708d1-2713572fef44aa49ec323e813b06d2d9.ssl.cf2.rackcdn.com/1140x\\_a10-7\\_cTC/TROUTgolden2-jpg-1536773859.jpg](https://9b16f79ca967fd0708d1-2713572fef44aa49ec323e813b06d2d9.ssl.cf2.rackcdn.com/1140x_a10-7_cTC/TROUTgolden2-jpg-1536773859.jpg), dostęp 04.03.2021 r.).



Ryc. 6) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu palomino (Źródło: <https://i.ytimg.com/vi/Coesq3R9aR8/maxresdefault.jpg>, dostęp 04.03.2021 r.).



Ryc. 7) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu kobaltowego/niebieskiego (Źródło: <http://www.nortonfishery.com/images/VickBlueTrout.jpg>, dostęp 04.03.2021 r.).

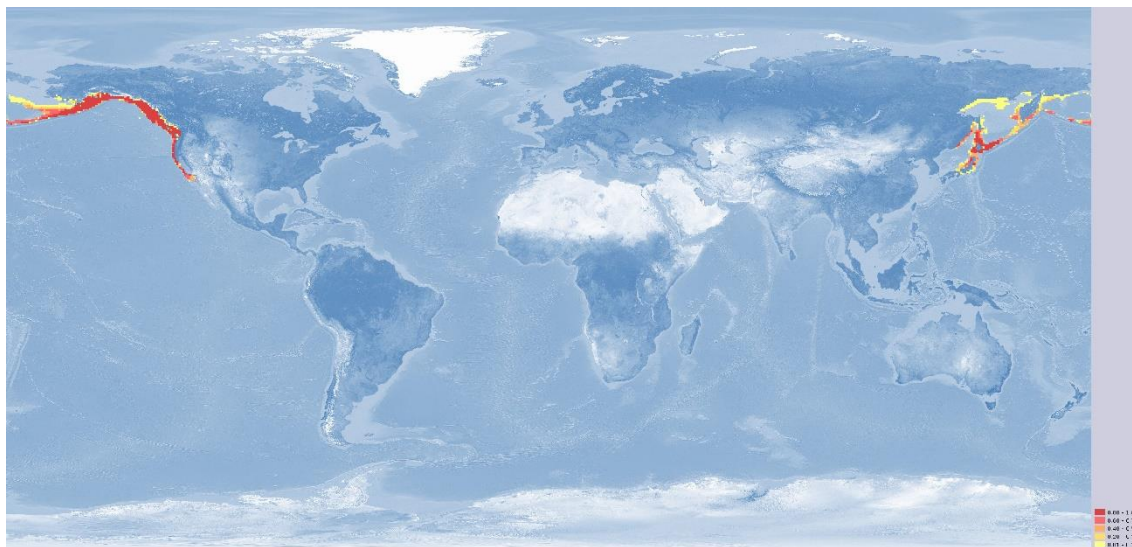




Ryc. 8) Ubarwienie pstręga typu cętkowanego/appaloosa (Źródło: <https://www.ramblingangler.com/wp-content/uploads/2018/08/fishing-Alaska-Rainbow-Trout-web-e1595100911587.png>, dostęp 04.03.2021 r.).

### 3.1.4. Zasięg występowania

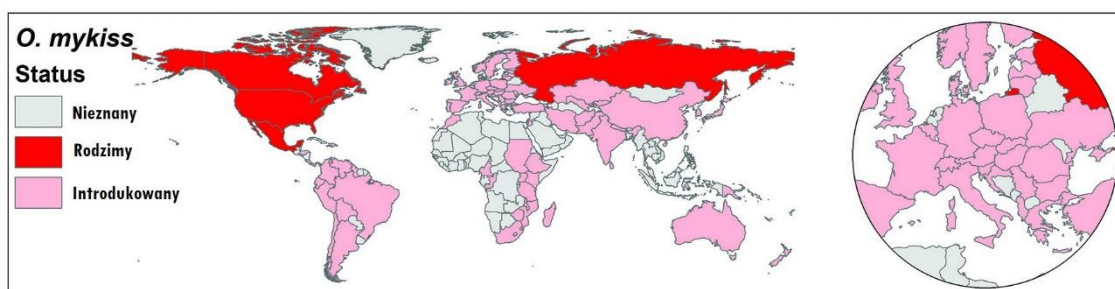
Zasięg naturalnego występowania pstrąga tęczowego (Ryc. 9) obejmuje zachodnią część Ameryki Północnej od rzeki Kuskokwim (Alaska, 61° szer. geogr.), aż po dorzecze Del Presidio (Meksyk, 24° szer. geogr.) (Needham i Gard, 1959; Stanković i in., 2015).



Ryc. 9) Zasięg naturalnego występowania pstrąga tęczowego, na skali zaznaczono relatywne prawdopodobieństwo występowania (Źródło: Computer generated distribution maps for *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow trout), [www.aquamaps.org](http://www.aquamaps.org), version 10/2019, dostęp 15.01 2021 r.).

Obecnie pstrąg tęczowy jest najszerzej rozpowszechnioną na świecie introdukowaną rybą łososiowatą i ogólnie jednym z najbardziej rozpowszechnionych gatunków introdukowanych (Crawford i Muir, 2008). Od czasu pierwszej translokacji poza zasięg naturalnego występowania pstrąg tęczowy został wprowadzony do co najmniej 99 krajów i utworzył stabilne populacje w wielu różnych częściach świata (Ryc. 10) (Stanković i in., 2015).





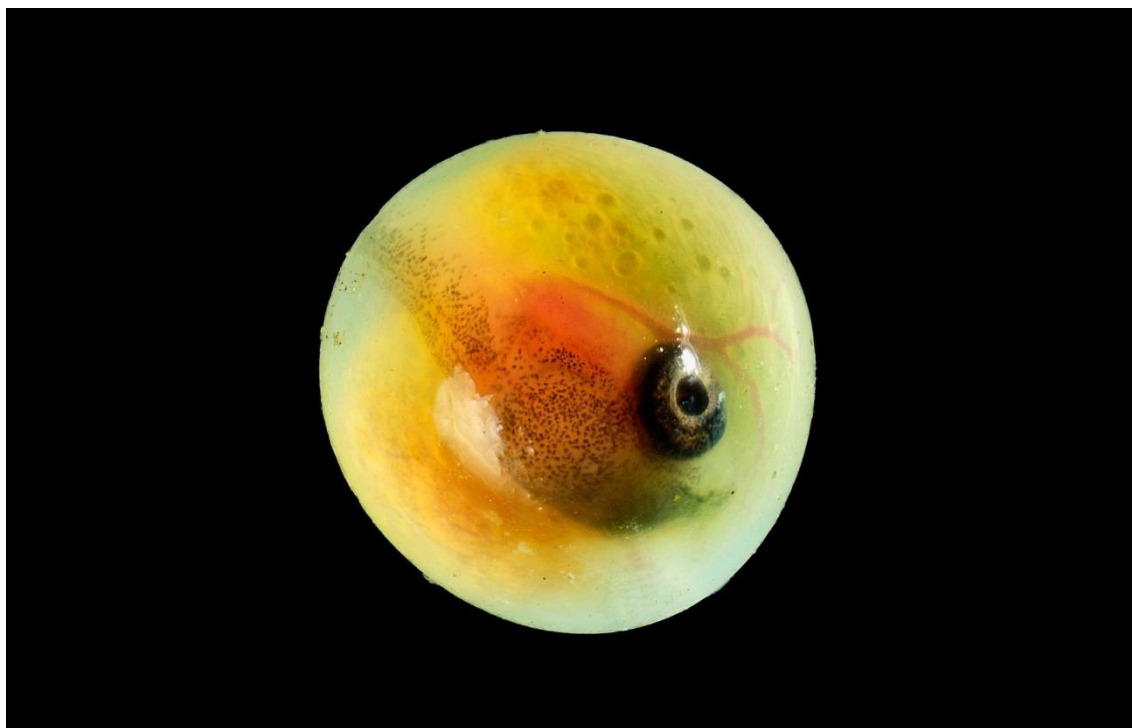
Ryc. 10) Występowanie pstrąga tęczowego według krajów, z wyróżnieniem obszarów rodzimych i introdukowanych (za Muhlfeld i in., 2019).

Pstrąg tęczowy obecnie występuje na wschód od Wododziału kontynentalnego Ameryki w zlewni Pacyfiku, od dorzecza rzeki Kuskokwim na Alasce do dorzecza rzeki Otay w Kalifornii, USA. Szeroko wprowadzony i aklimatyzowany w Kanadzie i USA, w tym w zlewniach Arktyki, Atlantyku, Wielkich Jezior, rzeki Missisipi i Rio Grande oraz w innych miejscach na świecie (Page i Burr, 2011). Występuje w obszarze Wschodniego Pacyfiku na Półwyspie Kamczackim, został też zaobserwowany w okolicy Wysp Komandorskich na wschód od Kamczatki i sporadycznie na Morzu Ochockim aż do ujścia rzeki Amur wzdłuż kontynentu. Osobniki znajdujące się poza Kamczatką prawdopodobnie należą do migrujących lub błądzących stalogłowców typu nomenklatorycznego, nie tworząc lokalnej populacji (Behnke, 1992; McPhee i in., 2007).

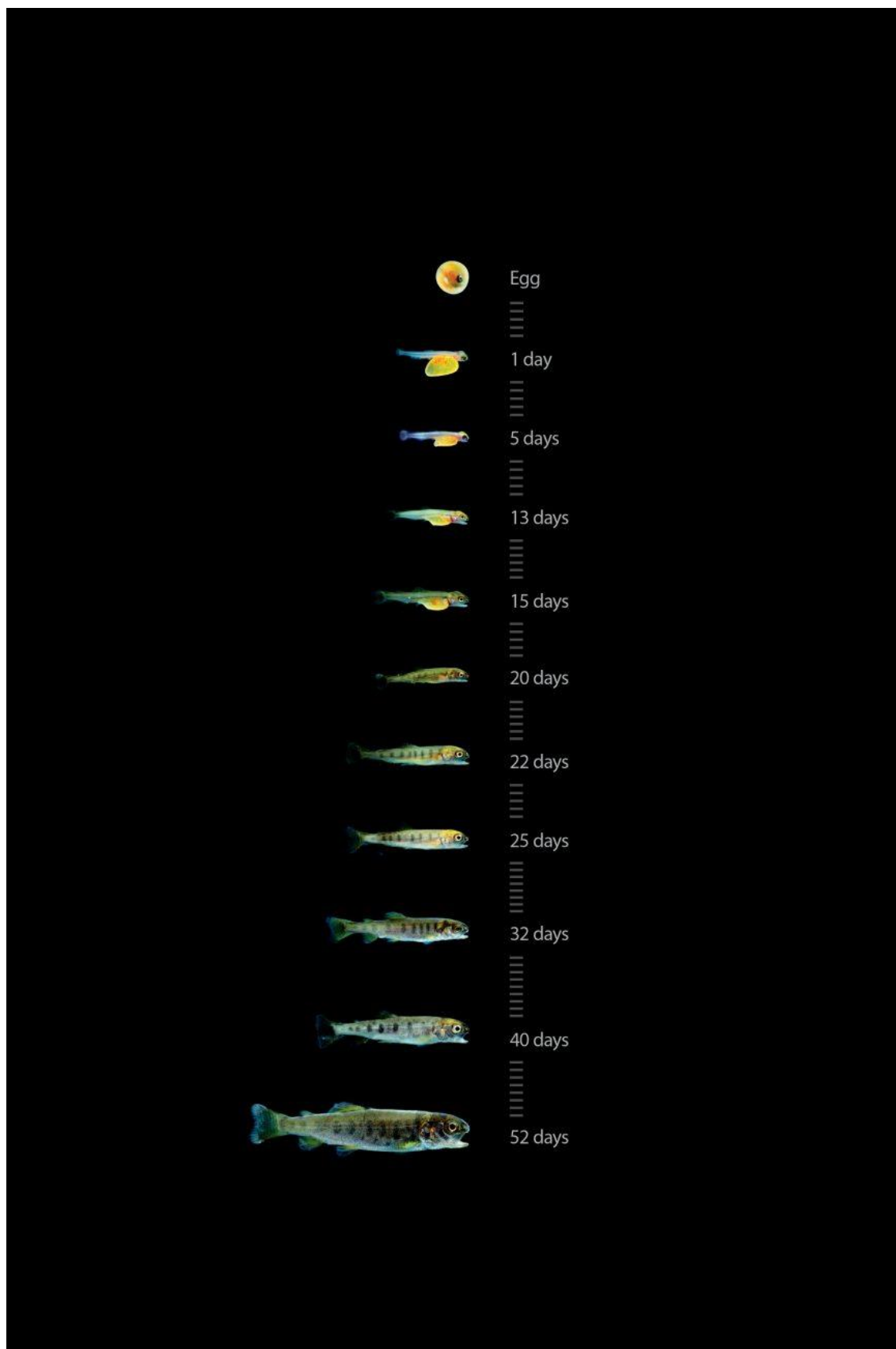
Mimo celowej antropogenicznej introdukcji w celach hodowlanych, kulturowych i rekreacyjnych, w skali światowej pstrąg tęczowy jest uznawany za gatunek inwazyjny wywierający silną presję na rodzime gatunki ryb, zwłaszcza łososiowatych (Muhlfeld i in., 2019).

### 3.1.5. Biologia

Pstrąg tęczowy jest rybą reofilną, której naturalne siedlisko stanowią wartkie rzeki oraz potoki z czystą, chłodną i dobrze natlenioną wodą, o żwirowym lub kamienistym dnie. Zaliczany jest do grupy rozrodowej ryb litofilnych, samice kopią gniazda wśród żwiru lub kamieni, do których składają lekko kleistą żółtopomarańczową ikrę (Ryc. 11). Embrionalna, larwalna i narybkowa faza ontogenezy (Ryc. 12) przebiega w miejscu złożenia ikry, późniejsza część cyklu życiowego aż do czasu rozrodu odbywa się w rzekach, jeziorach lub wodach morskich, w zależności od populacji i podgatunku (Behnke, 2002; Goryczko, 2000; Kendall i in., 2015). W warunkach naturalnych tarło przebiega od października do maja. Płodność samicy wynosi około 1500 jaj na 1 kg jej masy. Samce osiągają dojrzałość płciową już w pierwszym roku życia, samice głównie po 3 roku (Goryczko, 2008a; Guziur i Goryczko, 2003). Pstrąg tęczowy jest rybą drapieżną – młodociane osobniki żywią się głównie rzeczna fauną denną, starsze zaś, żyjące w jeziorach lub wodach morskich, zjadają ryby (Behnke, 2002; Goryczko, 2008a). W pierwszym roku życia przyrosty zwykle wynoszą 5-18 cm, a w trzecim roku życia całkowita długość ciała dochodzi nawet do 80 cm (Goryczko, 2008a).



Ryc. 11) Ziarno ikry pstrąga tęczowego, widoczne krople tłuszczowe woreczka żółtkowego (Źródło: [https://cdn6.nzgeo.com/1970/01/117\\_troutegg\\_header-2000x1330.jpg](https://cdn6.nzgeo.com/1970/01/117_troutegg_header-2000x1330.jpg), autor zdjęcia: George Novak, dostęp 04.03.2021 r.).



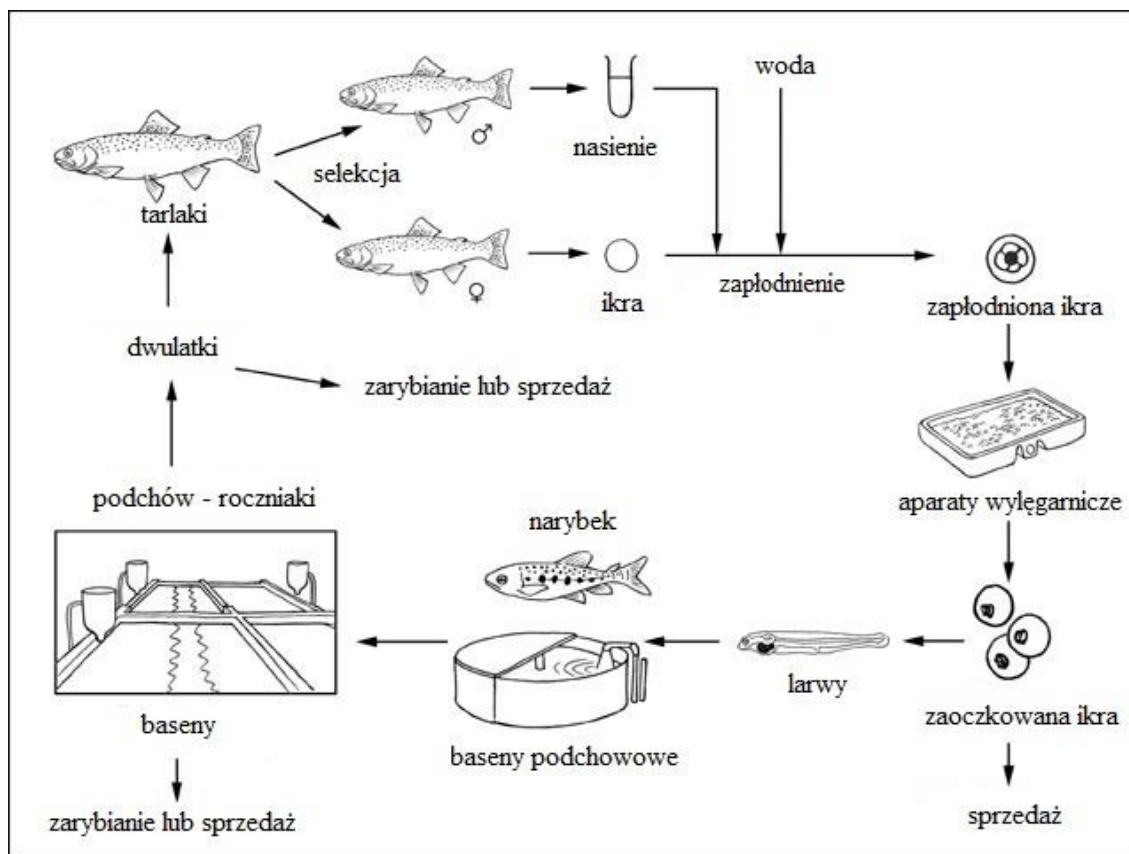
Ryc. 12) Początkowe stadia ontogenetyczne pstrąga tęczowego (Źródło: [https://cdn5.nzgeo.com/2012/09/trout\\_infographic-867x1300.jpg](https://cdn5.nzgeo.com/2012/09/trout_infographic-867x1300.jpg) autor zdjęcia: George Novak, dostęp 04.03.2021 r.).

### 3.1.6. Warunki hodowli

Zasadniczym celem obiektu hodowlanego przeznaczonego do hodowli i chowu pstrąga tęczowego jest uzyskanie dużej masy ryb przy możliwie niskich kosztach amortyzacji i produkcji. Typowy obiekt pstrągowy składa się najczęściej z wylęgarni, wyposażonej w aparaty do inkubacji ikry o poziomym przepływie wody (typu kalifornijskiego, długostrumieniowe lub szafkowe) wraz z podchowalnikami (basenami narybkowymi), stawów, magazynu, chłodni i przyrządzalni pasz (Goryczko, 2008b).

Pstrąg tęczowy nie rozmnaża się spontanicznie w hodowli, w związku z czym rozród przeprowadza się w sposób kontrolowany. Uproszczony schemat pełnego cyklu hodowlanego został przedstawiony na Ryc. 13. Wyselekcjonowane w wieku dwóch lat samce i samice tworzą stado tarłowe. Gamety żeńskie pobierane są manualnie od samic, które osiągną dojrzałość płciową, czyli wieku 3-4 lat i mieszane na sucho z nasieniem pobranym od dojrzałych samców. Do zapłodnienia dochodzi po aktywacji wodą. Okres inkubacji ikry wynosi przeciętnie 370<sup>°D</sup>, a optymalna temperatura inkubacji wynosi 7<sup>°C</sup>, przy czym dopuszczalny zakres temperatury inkubacji i podchowu wynosi 4-12<sup>°C</sup>. Larwy po wykluciu się posiadają woreczek żółtkowy, stanowiący zapas pokarmu endogennego i dopiero po kilku dobach rozpoczynają pobieranie pokarmu egzogennego. Następnie przenoszone są do basenów podchowowych (Ryc. 13), skąd trafiają do właściwych stawów.

Współczesne stawy pstrągowie charakteryzują się znacznym przepływem wody przy stosunkowo małych powierzchniach i głębokości nie przekraczającej 1,5 m. Wielkość najczęściej spotykanych stawów w Polsce uzależniona jest od ich przeznaczenia w cyklu hodowlanym i warunków terenowych (Goryczko, 2008b). Najczęściej występujące w gospodarstwach są stawy o wydłużonym kształcie prostokątnym, zarówno ziemne (tzw. typu duńskiego, relatywnie krótkie), jak i betonowe, często typu torowego (ang. raceways, mające długość kilkudziesięciu metrów). Spotykane są też okrągłe stawy rotacyjne, zazwyczaj wykonane z tworzyw sztucznych lub betonu. Woda przepływająca przez stawy może przepływać przez nie jednokrotnie, tzw. system przepływowy (ang. flow-through) lub być wykorzystywana kilkakrotnie, krążąc w systemie zwrotnego obiegu wody, tzw. RAS.



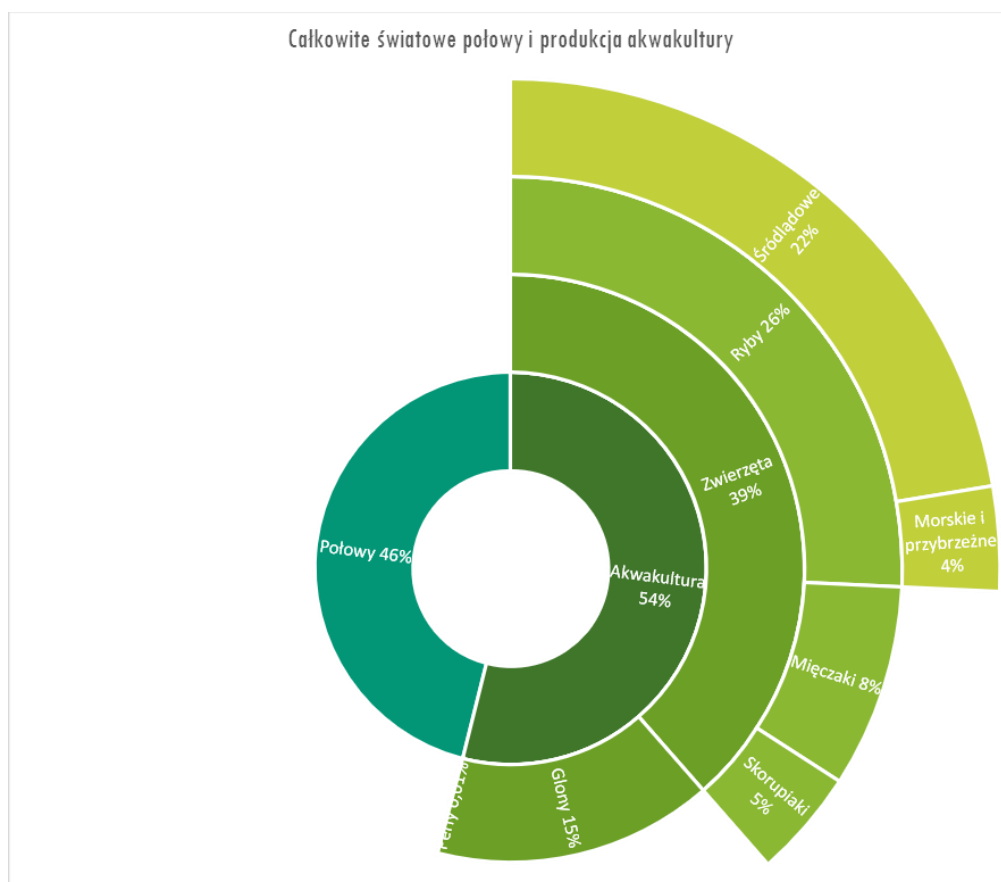
Ryc. 13) Uproszczony schemat cyklu hodowlanego (za Pajdak-Czaus, 2020).

W gospodarstwach pstrągowych przepływ wody w stawach musi odzwierciedlać warunki reofilne i dostarczać wodę o natlenieniu wyższym niż  $5 \text{ mg dm}^{-3}$  i saturacji powyżej 60%. Oznacza to przepływ wody około  $10\text{-}40 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$  w podchowalnikach, w stawach hodowlanych podłużnych  $0,1 \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$  na 1 kg masy pstrągów, w stawach rotacyjnych  $1 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$ . Optymalna temperatura wody w hodowli wynosi  $13\text{-}18^\circ\text{C}$ , latem nie powinna przekraczać  $20^\circ\text{C}$ . Preferowane pH powinno zawierać się w granicach 6,5-8,2 (optimum pH 7,5), a zdolność wiązania kwasów powinna być niższa od  $3,6 \text{ cm}^3 \text{ HCl}$ . Większa zawartość magnezu i siarczków jest niedopuszczalna. Dodatkowe wymagane parametry wody to:

- BZT5 do  $4 \text{ mg dm}^{-3}$ ,
- utlenialność do  $15 \text{ mg dm}^{-3}$ ,
- sucha pozostałość do  $300 \text{ mg dm}^{-3}$ ,
- twardość  $15^\circ\text{N}$ ,
- zawartość amoniaku do  $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ ,
- zawartość wolnego dwutlenku węgla do  $5 \text{ mg dm}^{-3}$  (Goryczko, 2008a).

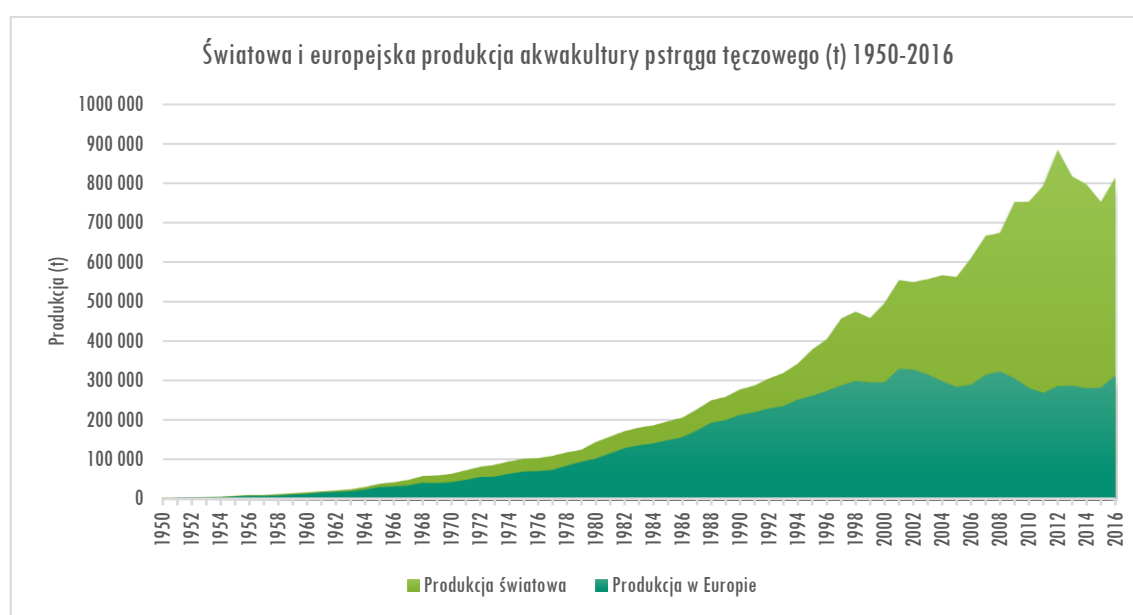
### 3.1.7. Znaczenie gospodarcze

W 2018 r. całkowite światowe połowy i produkcja akwakultury osiągnęły najwyższy od 10 lat poziom, odpowiednio połowy 97 mln ton, a produkcja akwakultury 115 mln ton (EUMOFA, 2020), z czego ogólnie 156 milionów ton zostało przeznaczonych do spożycia przez ludzi, co odpowiada szacowanej podaży rocznej wynoszącej 20,5 kg na osobę (FAO, 2020). W 2018 r. światowa produkcja akwakultury osiągnęła 82,1 miliona ton zwierząt, 32,4 miliona ton glonów wodnych i 26 000 ton ozdobnych muszli i pereł. Wartość produkcji zwierzęcej w akwakulturze wynosiła 250 mld USD, a wśród hodowanych zwierząt dominowały ryby (54,3 mln ton - 47 mln ton z akwakultury śródlądowej i 7,3 mln ton z akwakultury morskiej i przybrzeżnej), drugie w wielkości produkcji były mięczaki, głównie małże, (17,7 mln ton) oraz skorupiaki (9,4 mln ton) (FAO, 2020). Wzajemne proporcje zostały przedstawione na Ryc. 14.



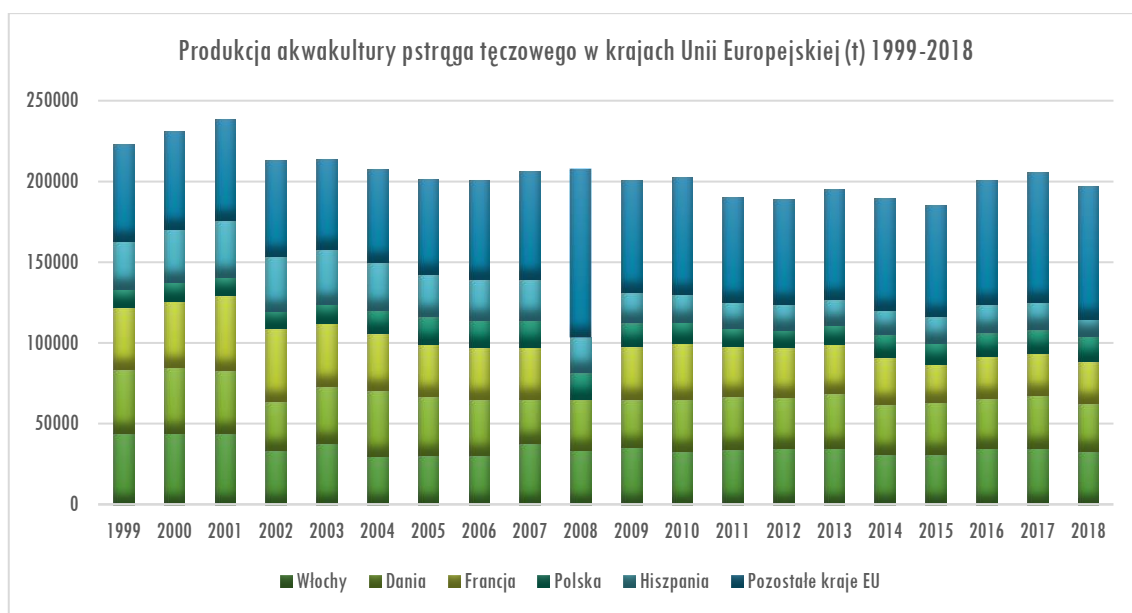
Ryc. 14) Całkowite światowe połowy i produkcja akwakultury w 2018 r. (opracowanie własne na podstawie danych: EUMOFA, 2020; FAO, 2020).

Pstrąg tęczowy jest piętnastą najczęściej hodowaną rybą na świecie, a jego całkowita światowa hodowla w 2018 r. wyniosła 848,1 tysięcy ton (Ryc. 15), i stanowiła 1,6% całkowitej wartości światowej produkcji rybnej (FAO, 2020). W latach 2009-2018 światowa produkcja akwakultury pstrąga tęczowego wzrosła o 13%. Krajami osiągającymi najwyższą produkcję na świecie (stan na 2018 r.) są Iran (180 000 t) i Turcja (112 000 t), które znacznie zwiększyły swoją produkcję w ciągu ostatnich dziesięciu lat (odpowiednio o 144% i 39%). Kolejne kraje w kolejności wielkości produkcji to Chile (78 000 t), Norwegia (68 000 t) i Peru (55 000 t) (EUMOFA, 2019).



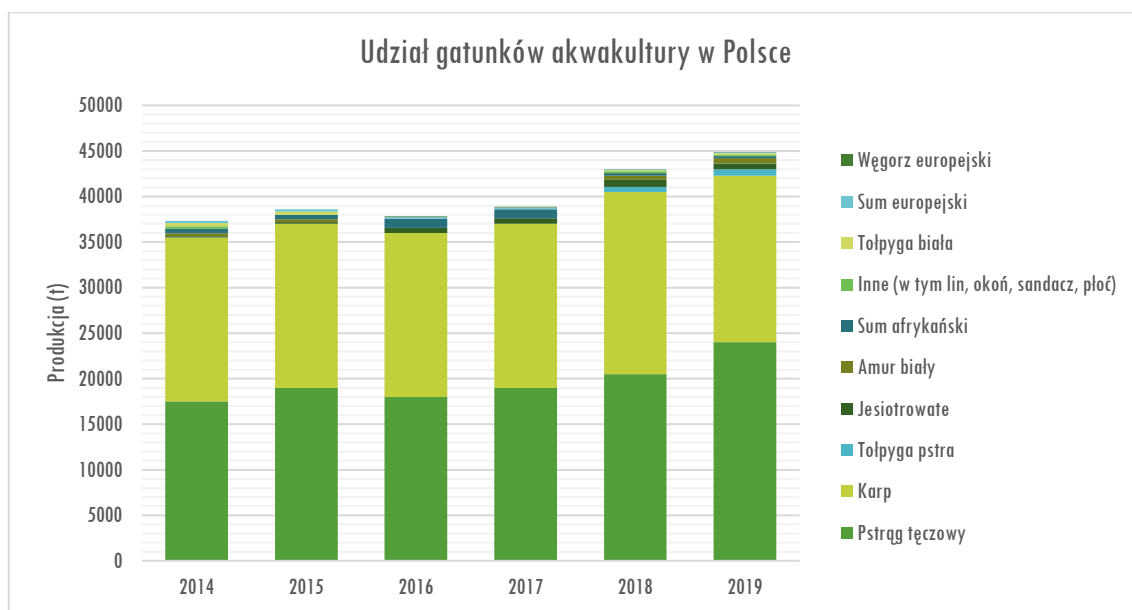
Ryc. 15) Światowa i europejska produkcja akwakultury pstrąga tęczowego (w tonach) w latach 1950-2016 (opracowanie własne na podstawie danych: FAO, 2020).

W 2018 r. w krajach Unii Europejskiej (UE) wyhodowano sumarycznie 20% światowej produkcji akwakultury pstrąga tęczowego, co oznacza 187 858 ton o wartości 668 milionów Euro. W porównaniu do 2017 r. całkowita wielkość produkcji pstrąga tęczowego w UE zmniejszyła się o 4% w wielkości i 3% w wartości. Przeciętna cena wzrosła z 3,53 EUR/kg do 3,55 EUR/kg, osiągając najwyższą wartość w ciągu ostatniej dekady. Ponad połowa pstrąga tęczowego w UE hodowana jest we Włoszech, Danii, Francji oraz Polsce (Ryc. 16), które w 2018 r. miały udział odpowiednio 17%, 15%, 13% i 8% całkowitej produkcji UE (EUMOFA, 2019, 2020). W 2017 r. pstrąg tęczowy był czternastym najchętniej spożywanym w Unii Europejskiej gatunkiem (EUMOFA, 2019), a konsumpcja *per capita* w krajach EU w 2018 r. wyniosła 0,42 kg ekwiwalentu żywej wagi (EUMOFA, 2020).



Ryc. 16) Produkcja akwakultury pstrąga tęczowego w krajach Unii Europejskiej (w tonach) w latach 1999-2018 (opracowanie własne na podstawie danych: FAO, 2020).

Akwakultura pstrąga tęczowego wciąż się rozwija, a Polska stała się jednym z najważniejszych rynków zbytu porcjowanego pstrąga tęczowego (250-400 g) (EUMOFA, 2017). Od 2015 r. pstrąg tęczowy jest wiodącym gatunkiem polskiej akwakultury, wyprzedzając karpia oraz inne gatunki (Ryc. 17) (FEAP, 2020).

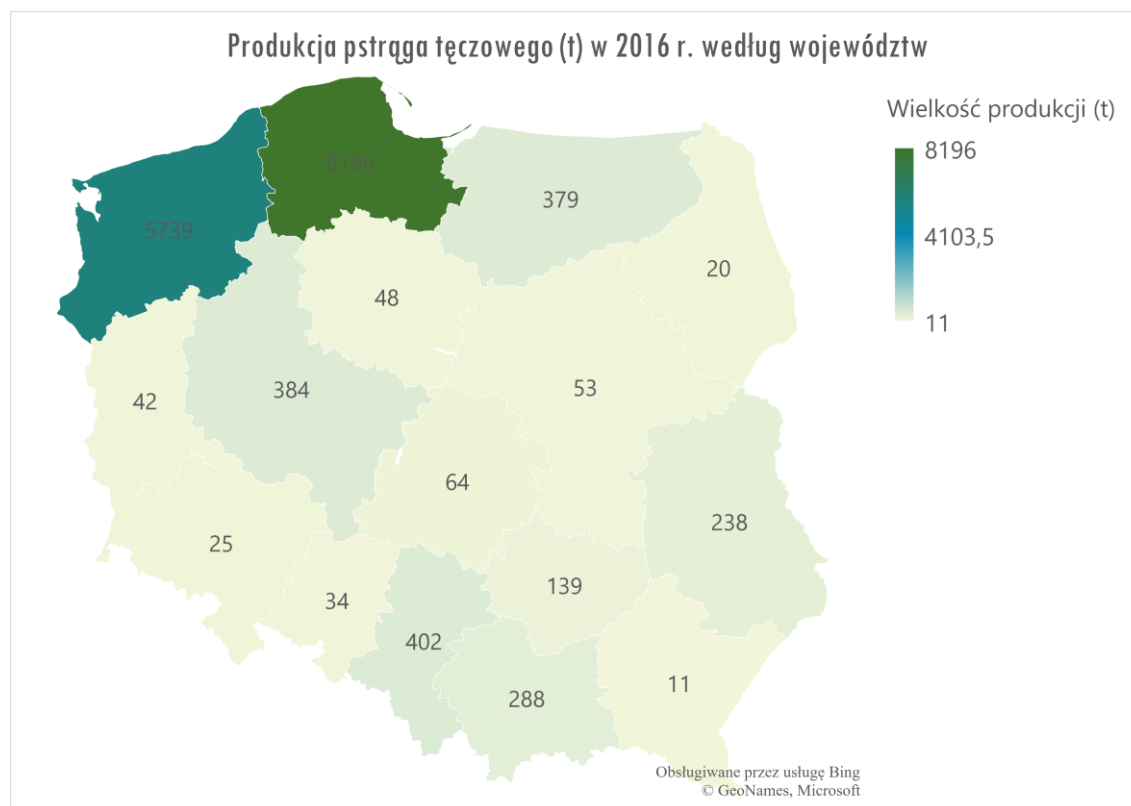


Ryc. 17) Udział poszczególnych gatunków hodowlanych w produkcji akwakultury (w tonach) w Polsce w latach 2014-2019 (opracowanie własne na podstawie danych: FEAP, 2020).



W 2016 r. w Polsce zarejestrowanych było około 160 gospodarstw akwakultury prowadzących intensywną hodowlę pstrąga tęczowego. Najważniejsze obszary hodowlane położone są w paśmie przybrzeżnym Bałtyku, gdzie koncentruje się około 70% krajowej produkcji (Ryc. 18). Gospodarstwa produkujące ponad 100 ton pstrąga tęczowego rocznie mają największe znaczenie dla całkowitej wielkości produkcji w Polsce, pokrywając około 86% całkowitej produkcji krajowej. Największe z nich produkuje powyżej 500 ton rocznie, w 2016 r. takich gospodarstw było 4 (EUMOFA, 2017).

Rozwój hodowli pstrąga tęczowego w Polsce wynika głównie ze wzrostu spożycia pstrąga porcyjnego przez polskich konsumentów, co jest spowodowane nie tylko ogólnym wzrostem spożycia ryb, ale przede wszystkim efektami intensywnych i powtarzających się działań promocyjnych (2011-2014), dzięki którym udało się wypracować pozytywny wizerunek pstrąga jako ryby hodowanej lokalnie, przyjaznej dla środowiska i mającej właściwości prozdrowotne (EUMOFA, 2017).



Ryc. 18) Wielkość produkcji pstrąga tęczowego (w tonach) w 2016 r. według województw (opracowanie własne, na podstawie danych: EUMOFA, 2017).

### 3.2. Kąpiele profilaktyczne w gospodarce rybackiej

Jednym z najbardziej istotnych elementów wydajnej, opłacalnej i zrównoważonej akwakultury jest zdrowie ryb (Bondad-Reantaso i Subasinghe, 2008; Jennings i in., 2016), ponieważ choroby zwierząt wodnych należą do najpoważniejszych ograniczeń ekspansji i rozwoju zrównoważonej akwakultury (FAO, 2020). Szacuje się, że mniej więcej co trzy do pięciu lat w światowej akwakulturze pojawia się wcześniej nieobserwowany patogen, który powoduje nową i nieznaną chorobę, szybko rozprzestrzeniającą się, w tym transgranicznie, powodując poważne konsekwencje społeczno-gospodarcze (Bondad-Reantaso i Subasinghe, 2008). Wprowadzenie i rozprzestrzenianie się wielu z tych patogenów w różnych regionach świata jest jednym ze skutków globalizacji handlu. Inne czynniki odpowiedzialne za obecne problemy zdrowotne w sektorze akwakultury obejmują: intensyfikację akwakultury; rozwój handlu rybami ozdobnymi; przekształcenia obszarów morskich i przybrzeżnych poprzez zarybianie zwierzętami hodowlanymi; niezrozumienie i niewłaściwe wykorzystanie stad wolnych od określonych patogenów (SPF); nieprzewidziane interakcje między populacjami ryb hodowlanych i dzikich; małą świadomość pojawiających się chorób oraz zmiany klimatyczne. Oprócz przedstawionych przyczyn, wysokie miejsce wśród czynników powodujących znaczne straty związane z chorobami zwierząt akwakultury w skali globalnej zajmują niewystarczające lub źle wdrożone środki bezpieczeństwa biologicznego (Bondad-Reantaso i Subasinghe, 2008; Tompkins i Wilson, 1998).

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/429 z dnia 9 marca 2016 r. w sprawie przenośnych chorób zwierząt oraz zmieniające i uchylające niektóre akty w dziedzinie zdrowia zwierząt („Prawo o zdrowiu zwierząt”) (Dz. U. UE. L. z 2016 r. Nr 84, str. 1 z późn. zm.) kładzie nacisk przede wszystkim na działania bioasekuracyjne i profilaktyczne, aby ograniczyć do minimum ryzyko wystąpienia chorób i konieczność ich leczenia (Dale, 2019; Olesen, 2019). Działania te powinny stanowić uzupełnienie obligatoryjnego Planu Nadzoru, być dopasowane do indywidualnych potrzeb w danym gospodarstwie akwakultury, tworząc plan zarządzania zdrowiem. Plan powinien powstać w ścisłej współpracy z lekarzem weterynarii świadczącym usługi w danym gospodarstwie.

Bioasekuracja oznacza profilaktykę nieswoistą i odnosi się do szeregu procedur i praktyk zapobiegających bądź ograniczających ekspozycję stada na czynniki

chorobotwórcze (Hine i in., 2012; Naumowicz, 2017; Noga, 2010; Scarfe i in., 2006; Scarfe i Palić, 2020). Zgodnie z punktem 43 objaśnienia do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/429 z dnia 9 marca 2016 r. w sprawie przenośnych chorób zwierząt oraz zmieniającego i uchylającego niektóre akty w dziedzinie zdrowia zwierząt („Prawo o zdrowiu zwierząt”) (Dz. U. UE. L. z 2016 r. Nr 84, str. 1 z późn. zm.): „Bioasekuracja jest jednym z głównych narzędzi zapobiegania chorobom, jakimi dysponują podmioty i inne osoby pracujące ze zwierzętami, służącym do zapobiegania wprowadzaniu przenośnych chorób zwierząt do populacji zwierząt, rozwojowi tych chorób w tej populacji i ich rozprzestrzenianiu się”. Przez bioasekurację należy zatem rozumieć wszelkie restrykcje higieniczne, program profilaktyczny, sposoby leczenia zwierząt, monitorowanie stada i skuteczność dezynfekcji (Naumowicz, 2017; Scarfe i Palić, 2020). Skuteczna bioasekuracja może również wykluczyć lub zmniejszyć rozprzestrzenianie się patogenów endemicznych w rejonie gospodarstwa, które jeszcze nie zostało nimi skażone (Assefa i Abunna, 2018; Noga, 2010). Ponadto bioasekuracja jest niezmiernie istotna w zapobieganiu ucieczce patogenów z gospodarstw dotkniętych chorobą i ich przedostawaniu się do populacji dzikich, bądź też sąsiednich gospodarstw (Naumowicz i Terech-Majewska, 2019; Noga, 2010; Palić i in., 2015; Scarfe i in., 2006).

Poprzez dezynfekcję rozumie się niszczenie żywych i przetrwalnikowych form szkodliwych mikroorganizmów, przenoszonych przez różnorodne wektory, oraz uniemożliwienie ich wtórnego rozwoju na różnych powierzchniach i przedmiotach (Boothe, 1998; McDonnell i Russell, 1999; Naumowicz i Terech-Majewska, 2019; Noga, 2010; Terech-Majewska i in., 2010; Treves-Brown, 2000). Z kolei antyseptyka (gr. ἀντί – przeciw, gr. σηπτικός – gnicie, dosłownie: zapobieganie gniciu) – oznacza postępowanie odkażające, mające na celu ograniczenie liczebności lub całkowite zniszczenie drobnoustrojów na żywych tkankach, najczęściej skórze, błonach śluzowych, lub w zakażonych ranach (Boothe, 1998; McDonnell i Russell, 1999; Naumowicz i Terech-Majewska, 2019; Treves-Brown, 2000). W akwakulturze o antyseptykach można mówić głównie w odniesieniu do substancji podawanych w wodzie, stosowanych profilaktycznie i leczniczo, na wszystkich etapach hodowlanych (inkubacja ikry, podchów larw i narybku, tucz, czy utrzymywanie stad tarłowych) (Naumowicz, 2017; Naumowicz i Terech-Majewska, 2019; Noga, 2010).

Podanie substancji do wody obok podania doustnego *per os* (*p.o.*) i w iniekcji *Iniectio* należy do głównych sposobów podania leków u ryb (Noga, 2010). Ze względu

na wyraźne zalety, takie jak brak stresu i łatwość stosowania, podanie do wody jest najpowszechniejszą metodą leczenia ryb. W zależności od osiąganego stężenia substancji i czasu ekspozycji wyróżnia się kilka technik podania do wody, do których należą (w kolejności od najwyższego stężenia przy najkrótszym czasie ekspozycji) (Noga, 2010):

- kąpiel w małej ilości wody,
- kąpiel w klatkach hodowlanych,
- metoda płukania,
- metoda stałego przepływu,
- metoda przedłużonej immersji.

W literaturze polskojęzycznej przyjęło się zwyczajowo wszystkie wymienione metody określać wspólnym mianem kąpielei. Praktycznie wszystkie środki podawane do wody działają jako antyseptyki (wyjątek stanowią antybiotyki i kilka środków przeciwbaczących), niespecyficznie zabijając powierzchniowe patogeny skóry i skrzel, w tym pasożyty, bakterie i pleśnie wodne (Naumowicz, 2017; Naumowicz i Terech-Majewska, 2019). Popularne środki antyseptyczne wykorzystywane w polskiej akwakulturze zebrano w Tab. 2.

Podczas przeprowadzania profilaktycznych i leczniczych kąpielei antyseptycznych należy przestrzegać następujących zasad, opisanych w pracy Grudniewskiej i Terech-Majewskiej (2015):

- wstrzymać żywienie obsady na minimum 24 godziny przed zabiegiem,
- roztwory przygotowywać w naczyniach nie wchodzących w reakcję z używanym środkiem,
- dostosować dawkę do rzeczywistego przepływu i objętości wody, a obliczenia sprawdzić przynajmniej dwukrotnie,
- przestrzegać podanych dawek i czasu stosowania środków,
- latem kąpiele przeprowadzać przy najniższej temperaturze wody (rano),
- przed zastosowaniem po raz pierwszy nowego środka przeprowadzić wstępną próbę na małej partii ryb,
- w czasie przeprowadzania kąpielei bacznie obserwować zachowanie ryb, a po zauważeniu niepokojących objawów natychmiast zwiększyć dopływ wody i zastosować napowietrzanie/natlenianie,
- kąpiel można powtórzyć dopiero po upływie 24 godzin.

Tab. 2) Popularne środki antyseptyczne w kąpielach profilaktycznych i leczniczych (za Terech-Majewska i in., 2010, w modyfikacji własnej).

Substancja	Koncentracja	Czas trwania kąpeli	Wskazania	Grupa docelowa
<i>Chlorek sodu</i>	2 g m <sup>-3</sup>	10 godz.	pasożyty zewnętrzne	wszystkie gatunki
	1-1,5%	1 godz.	pasożyty zewnętrzne	ryby karpiowate
	2,5-3%	1 godz.	pasożyty zewnętrzne	ryby łososiowate
<i>Jodoformy</i> (np. <i>Actomar K 30</i> )	4-8 ml l <sup>-1</sup>	3-6 min	bakterie, wirusy, grzyby	ikra zapłodniona
	5 ml l <sup>-1</sup>	3-6 min	bakterie, wirusy, grzyby	ikra zaoczkowana
<i>Nadwęglan sodowy</i> (np. <i>Oxyper, Biocare, spc</i> )	50 g m <sup>-3</sup>	30 min do 1 godz. codziennie przez 4 dni	kostioza	wylęg pstrąga tęczowego
	50-70 g m <sup>-3</sup>	30 min trzykrotnie co drugi dzień	kulorzęsek	narybek pstrąga tęczowego
	100 g m <sup>-3</sup>	20-30 min co drugi dzień	bakterie, grzyby	ikra pstrąga tęczowego
<i>Bronopol (np. Pyceze)</i>	50-75 mg l <sup>-1</sup>	30 min codziennie lub co drugi dzień	bakterie, grzyby	ikra pstrąga tęczowego
<i>Kwaśne preparaty dezynfekcyjne</i> (np. <i>CIP, Oxim, Steridial</i> )	0,04-0,06%	20-30 min co drugi dzień	bakterie, wirusy, grzyby	ikra pstrąga tęczowego
	10-20 ml m <sup>-3</sup>	10-30 min dwu lub trzykrotnie w tygodniu	bakterie, grzyby, niektóre pasożyty	narybek pstrąga tęczowego
<i>Chloramina T</i>	2,5-20 mg l <sup>-1</sup> pH wody 6,0-8,0	od 15 min do 1 godz.	bakterie wirusy, niektóre pasożyty	wylęg, narybek i ryba handlowa
<i>Siarczan miedzi</i>	1:200	1-2 min	bakterie, pasożyty, grzyby, glony	ryby łososiowate
	1:2000	1-2 min	bakterie, pasożyty, grzyby, glony	wszystkie gatunki
	1:10000	30 min	bakterie, pasożyty, grzyby, glony	wszystkie gatunki
<i>Formalina</i>	15 ml m <sup>-3</sup>	24 godz. w ciągłym przepływie	pasożyty zewnętrzne	ryby łososiowate
	1-2 ml l <sup>-1</sup>	do 15 min	saprolegnioza	ikra
	0,23 ml l <sup>-1</sup>	do 60 min	saprolegnioza	ikra
	125-250 ml m <sup>-3</sup>	60 min powtórzone dwu lub trzykrotnie	pasożyty zewnętrzne	starsze grupy wiekowe
	250-330 ml m <sup>-3</sup>	30 min co drugi dzień	pasożyty zewnętrzne	ikra, wylęg, starsze grupy wiekowe

### **3.2.1. Regulacje prawne stosowania kąpeli profilaktycznych**

Stosowanie środków do kąpeli profilaktycznych i leczniczych w gospodarstwach akwakultury jest regulowane przede wszystkim przez następujące akty prawne:

- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 37/2010 z dnia 22 grudnia 2009 r. w sprawie substancji farmakologicznie czynnych i ich klasyfikacji w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. UE. L. z 2010 r. Nr 15, str. 1 z późn. zm.);
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylające dyrektywę 2001/82/WE (Dz. U. UE. L. z 2019 r. Nr 4, str. 43);
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009 z dnia 6 maja 2009 r. ustanawiające wspólnotowe procedury określania maksymalnych limitów pozostałości substancji farmakologicznie czynnych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 2377/90 oraz zmieniające dyrektywę 2001/82/WE Parlamentu Europejskiego i Rady i rozporządzenie (WE) nr 726/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady (Dz. U. UE. L. z 2009 r. Nr 152, str. 11);
- Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/880 z dnia 23 maja 2017 r. ustanawiające zasady stosowania maksymalnego limitu pozostałości ustalonego dla substancji farmakologicznie czynnej w danym środku spożywczym w odniesieniu do innego środka spożywczego uzyskanego z tego samego gatunku oraz stosowania maksymalnego limitu pozostałości ustalonego dla substancji farmakologicznie czynnej u jednego gatunku lub większej ich liczby w odniesieniu do innych gatunków, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009 (Dz. U. UE. L. z 2017 r. Nr 135, str. 1);
- Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 2211 z późn. zm.);
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 4 czerwca 2008 r. w sprawie kategorii stosowania produktu leczniczego weterynaryjnego oraz kryteriów zaliczania produktu leczniczego weterynaryjnego do poszczególnych kategorii stosowania i dostępności (Dz. U. Nr 107, poz. 683);
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 listopada 2008 r. w sprawie sposobu postępowania przy stosowaniu produktów leczniczych, w sytuacji gdy brak jest

odpowiedniego produktu leczniczego weterynaryjnego dopuszczonego do obrotu dla danego gatunku zwierząt (Dz. U. Nr 217, poz. 1388);

- Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska (Dz. U. z 2018 r. poz. 799 z późn. zm.);
- Rozporządzenie Ministra Gospodarki Morskiej i Żeglugi Śródlądowej z dnia 12 lipca 2019 r. w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego oraz warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu do wód lub do ziemi ścieków, a także przy odprowadzaniu wód opadowych lub roztopowych do wód lub do urządzeń wodnych (Dz. U. poz. 1311).

Dotychczas Rozporządzenie Rady (EWG) nr 2377/90 z dnia 26 czerwca 1990 r. ustanawiało wspólnotową procedurę dla określania maksymalnego limitu pozostałości weterynaryjnych produktów leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego. Produkty były zebrane w czterech załącznikach. Załącznik I obejmował substancje, dla których określono maksymalny limit pozostałości, załącznik II obejmował substancje, dla których określenie maksymalnego limitu pozostałości nie było konieczne, załącznik III obejmował substancje, dla których określono tymczasowy maksymalny limit pozostałości, a załącznik IV obejmował substancje, dla których nie można określić maksymalnego limitu pozostałości, ponieważ pozostałości tych substancji w każdej ilości stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzkiego.

W celu ułatwienia stosowania wszystkie substancje farmakologicznie czynne zebrano w Rozporządzeniu Komisji (UE) nr 37/2010 z dnia 22 grudnia 2009 r. w sprawie substancji farmakologicznie czynnych i ich klasyfikacji w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego i zestawiono w jednym załączniku w porządku alfabetycznym, które obejmuje aktualnie dwie osobne tabele: jedną dla dozwolonych substancji wymienionych w załącznikach I, II i III do rozporządzenia (EWG) nr 2377/90 i jedną dla substancji zakazanych, wymienionych w załączniku IV do tego rozporządzenia. Należy podkreślić, że bezpośredni kontakt z tkankami ryb przeznaczonych do spożycia mogą mieć tylko i wyłącznie produkty lecznicze (w tym wykorzystywane jako antyseptyki) zawierające substancje aktywne znajdujące się właśnie w Tabeli „Substancje dozwolone” załącznika pt. „Substancje farmakologicznie czynne i ich klasyfikacja w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości (MLP) Rozporządzenia Komisji (UE) nr 37/2010 z dnia 22 grudnia 2009 r. w sprawie substancji farmakologicznie czynnych i ich klasyfikacji w odniesieniu do

maksymalnych limitów pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego, której fragment w odniesieniu do chlorku sodu, formaldehydu oraz siarczanu miedzi został przedstawiony w pracy jako Tab. 3. Użycie substancji spoza tej tabeli jest niedozwolone i wiąże się z ryzykiem konsumentów (Naumowicz i Terech-Majewska, 2019).

Tab. 3) Dozwolone substancje farmakologicznie czynne i ich klasyfikacja w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości (MLP).

<b>Substancja farmakologicznie czynna</b>	<b>Pozostałość znacznikowa</b>	<b>Gatunki zwierząt</b>	<b>MLP</b>	<b>Tkanki docelowe</b>	<b>Inne przepisy (na podstawie art. 14 ust. 7 rozporządzenia (WE) nr 470/2009)</b>	<b>Klasyfikacja terapeutyczna</b>
<i>Chlorek sodu</i>	nie dotyczy	wszystkie gatunki zwierząt, od których lub z których pozyskuje się żywność	MLP nie jest wymagany	nie dotyczy	brak wpisu	brak wpisu
<i>Formaldehyd</i>	nie dotyczy	wszystkie gatunki zwierząt, od których lub z których pozyskuje się żywność	MLP nie jest wymagany	nie dotyczy	brak wpisu	brak wpisu
<i>Siarczan miedzi</i>	nie dotyczy	wszystkie gatunki zwierząt, od których lub z których pozyskuje się żywność	MLP nie jest wymagany	nie dotyczy	brak wpisu	brak wpisu

Ze względu na to, że nie jest obecnie zarejestrowany (Produkty lecznicze wpisane do Rejestru Produktów Leczniczych Dopuszczonych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej i Produkty lecznicze wpisane do Wspólnotowego Rejestru Produktów Leczniczych <https://pub.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl/>, dostęp 17.04.2021 r.) żaden produkt leczniczy weterynaryjny zawierający chlorek sodu,



formaldehyd i siarczan miedzi jako substancje farmakologicznie czynne, ich stosowanie może przebiegać jedynie w formie leku recepturowego dzięki tzw. „regulacji kaskadowej” produktów leczniczych. W praktyce oznacza to, że lekarz weterynarii może zastosować lek recepturowy, który będzie zaliczał się do I kategorii dostępności tj. produkt wydawany z przepisu lekarza – *Rp.* (tzw. „lek na receptę”), jeśli spełnione zostaną następujące warunki:

- lek zostanie zastosowany w drodze wyjątku i w konkretnym, uzasadnionym przypadku,
- na własną odpowiedzialność przepisującego lekarza weterynarii,
- w celu uniknięcia niemożliwego do zaakceptowania cierpienia zwierząt,
- przy jednoczesnym braku produktu leczniczego weterynaryjnego dopuszczonego do obrotu dla innego gatunku zwierząt albo dla tego samego gatunku, ale z innym wskazaniem do stosowania,
- oraz jednoczesnym brakiem produktu leczniczego posiadającego pozwolenie do stosowania u ludzi,
- oraz jednoczesnym brakiem produktu leczniczego weterynaryjnego dopuszczonego do obrotu w innym państwie członkowskim UE.

Ponadto po zastosowaniu leku recepturowego lekarz weterynarii ma obowiązek określić okres karencji, który w tym przypadku nie może być krótszy niż liczba dni uzyskana z ilorazu liczby 500 i temperatury wody stawu hodowlanego, w którym przebywają leczone ryby, w stopniach Celsjusza (Równanie 1).

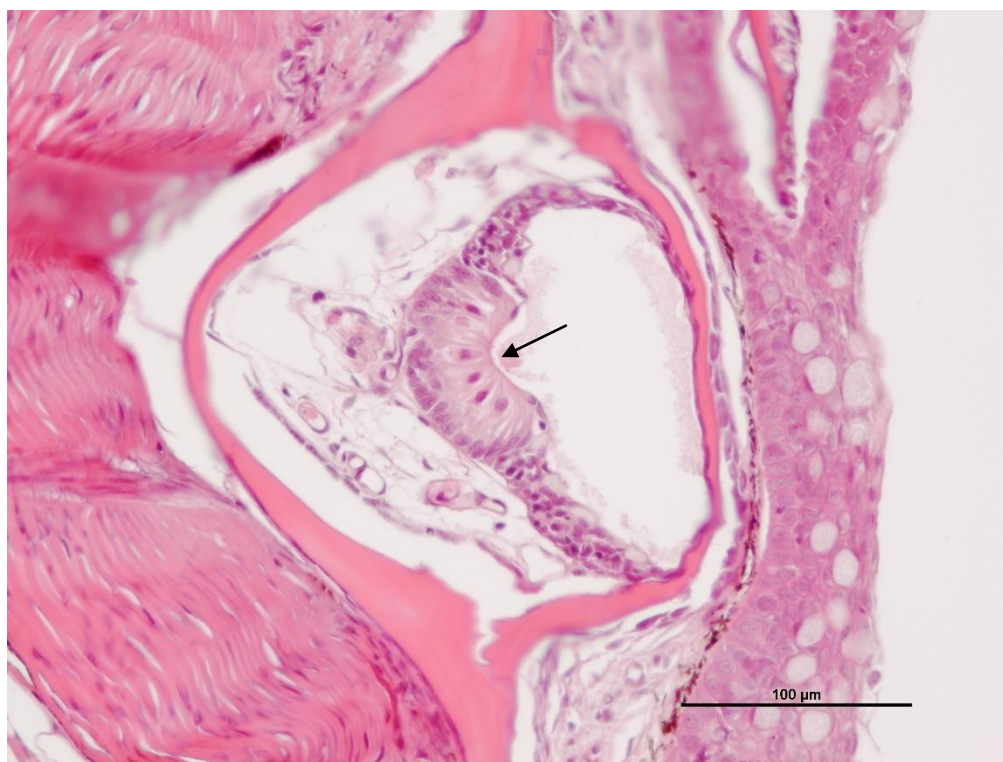
Równanie 1) Wzór na obliczenie liczby dni karencji po zastosowaniu leku recepturowego.

$$\text{Dni karencji} = \frac{500}{\text{temperatura wody}}$$

### 3.3. Skóra

#### 3.3.1. Funkcje skóry

Największym narządem powłoki wspólnej (*integumentum commune*) ryb jest skóra (*cutis*, gr. δέρμα *derma*), która w swojej budowie i funkcji w stosunku do innych kręgowców wykazuje zarówno podobieństwa, jak i różnice. Pokrywa całą zewnętrzną powierzchnię ciała, w tym płetwy, a na granicy otworów anatomicznych przechodzi w błony śluzowe (Elliott, 2011b). Podobnie jak u innych kręgowców powłoka wspólna oddziela i chroni zwierzę przed działaniem środowiska, a dodatkowo może pełnić ważną rolę w komunikacji, percepcji sensorycznej (Ryc. 19), poruszaniu się, oddychaniu, osmoregulacji, wydalaniu i regulacji termicznej (Elliott, 2011b; Kilarski, 2012a). Zarówno organizacja strukturalna, dynamika pełnionych funkcji, jak i liczby oraz rodzaje wyspecjalizowanych komórek obecnych w skórze, są zależne od gatunku. Ze względu na fakt, że ryby stanowią ponad połowę współcześnie żyjących gatunków kręgowców oraz trwający ponad 450 milionów lat proces ich ewolucji i specjalizacji, można uznać, że skóra ryb jest najbardziej zróżnicowaną międzygatunkowo tkanką produkującą śluz w świecie zwierząt (Peterson, 2015; Sveen i in., 2020).



Ryc. 19) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Centralnie widoczne mechanosensoryczne neuromasty kanałowe (strzałka). Barwienie HE.

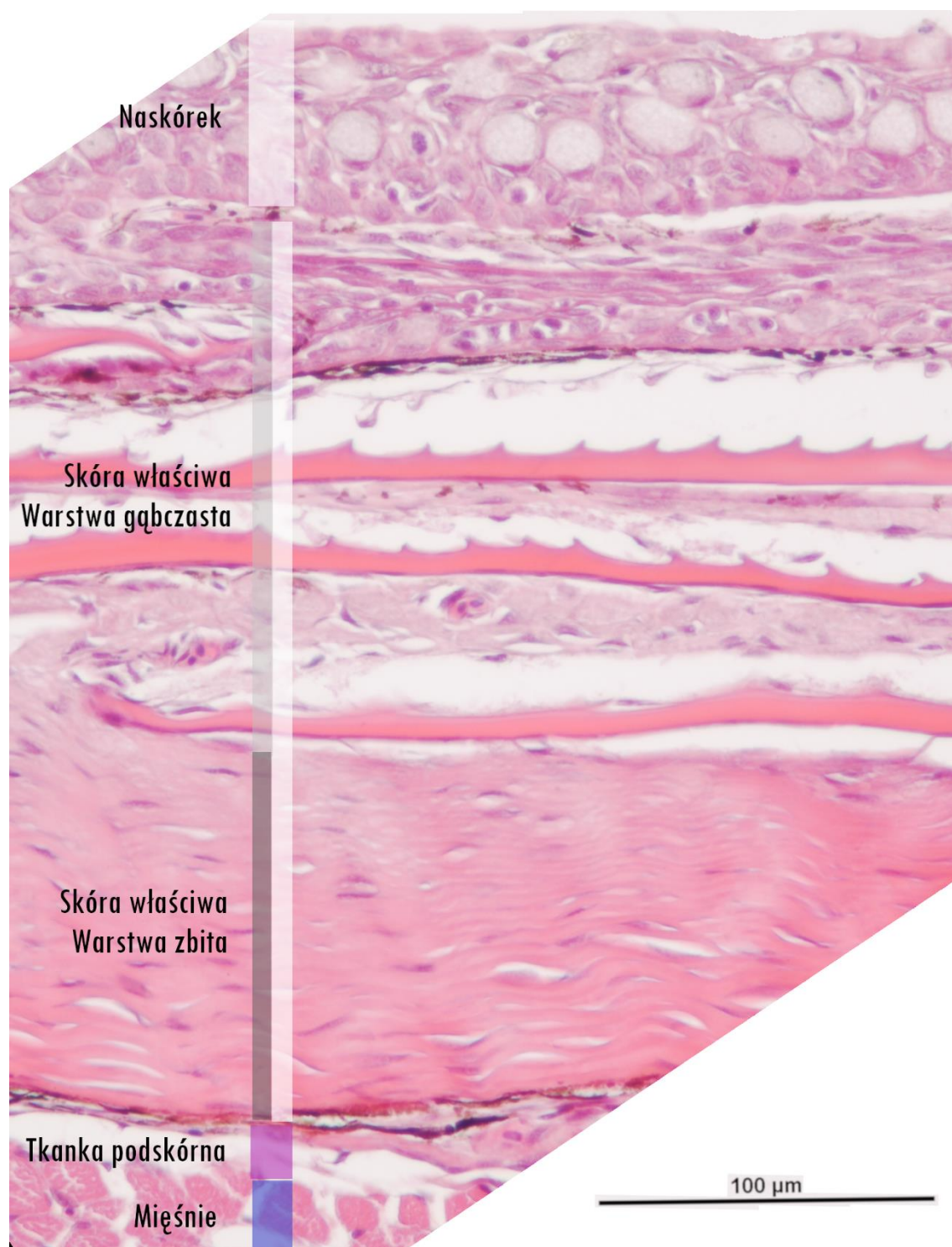
### 3.3.2. Budowa anatomiczna i histologiczna

Skóra ryb zbudowana jest z dwóch głównych warstw: powierzchniowo położonego naskórka (*epidermis*) o ektodermalnym pochodzeniu, oraz położonej głębiej skóry właściwej (*cutis vera*), rozwijającej się z mezodermy (Elliott, 2011a; Kilarski, 2012a). Wzajemne ułożenie i proporcje warstw skóry pstrąga tęczowego przedstawia Ryc. 20. Pod skórą znajduje się podskórna tkanka łączna (*hypodermis, tela subcutanea, subcutis*) pochodzenia mezodermalnego, zbudowana głównie z adipocytów, oddzielająca skórę od warstwy mięśni (Elliott, 2011a; Ferguson, 2006; Roberts i Ellis, 2012; Sveen i in., 2020).

Naskórek ma strukturę komórkową i składa się z wielowarstwowego nabłonka położonego na blaszce podstawnej, który zwykle zawiera wyspecjalizowane komórki (Elliott, 2011b). Liczba warstw komórkowych w naskórku ryb może się różnić od 2 u larw, do średnio 5-10 u dorosłych. Grubość naskórka zależy od gatunku, wieku, okolicy ciała, stopnia dojrzewania płciowego i warunków środowiskowych (Elliott, 2011b; Roberts i Ellis, 2012). U ryb łososiowatych naskórek jest grubszy w miejscach bezłuskich, takich jak głowa i wieczko skrzelowe, a także na płetwach, gdzie znajduje się szczególnie dużo zakończeń nerwowych i komórek śluzowych (Roberts i Ellis, 2012). U większości gatunków ryb naskórek jest cieńszy niż skóra właściwa (Elliott, 2011b). Ponadto inne czynniki, takie jak zmiany warunków otoczenia lub narażenie na niekorzystne warunki środowiskowe, niedobory żywieniowe i obecność patogenów lub innych stresorów, mogą wpływać na strukturę i skład komórkowy naskórka. Takie zmiany mogą być szczególnie widoczne u ryb hodowlanych (Elliott, 2011a).

Podobnie jak w naskórku innych kręgowców, podstawową jednostką strukturalną naskórka ryb są komórki nabłonkowe. Jest to jedyna stała cecha, ponieważ u różnych taksonów ryb występuje duża różnorodność typów komórek. Niektóre z nich obejmują holokrynne komórki buławkowate, wrzecionowate, workowate i różne inne komórki wydzielnicze, jonocyty, komórki czuciowe i komórki napływowe, takie jak leukocyty (białe krwinki). Komórka nabłonka, jest znana pod wieloma nazwami, w tym komórka Malpighiego, komórka naskórka, komórka zawierająca włókna, komórka nitkowata, komórka wielokątna, komórka wielościenna, keratocyt, keratynocyt, komórka główna i komórka wspólna. W przeciwieństwie do komórek nabłonka naskórka ssaków, u ryb doskonałokostnych komórki nabłonkowe we wszystkich warstwach naskórka są zdolne

do podziału mitotycznego, chociaż aktywne podziały komórkowe występują najczęściej w niższych warstwach. Ponadto nie ulegają one keratynizacji (poza nielicznymi wyjątkami), a sam naskórek bogaty jest w komórki kubkowe śluzowe (Elliott, 2011a; Ferguson, 2006; Kilariski, 2012a; Peterson, 2015; Roberts i Ellis, 2012).



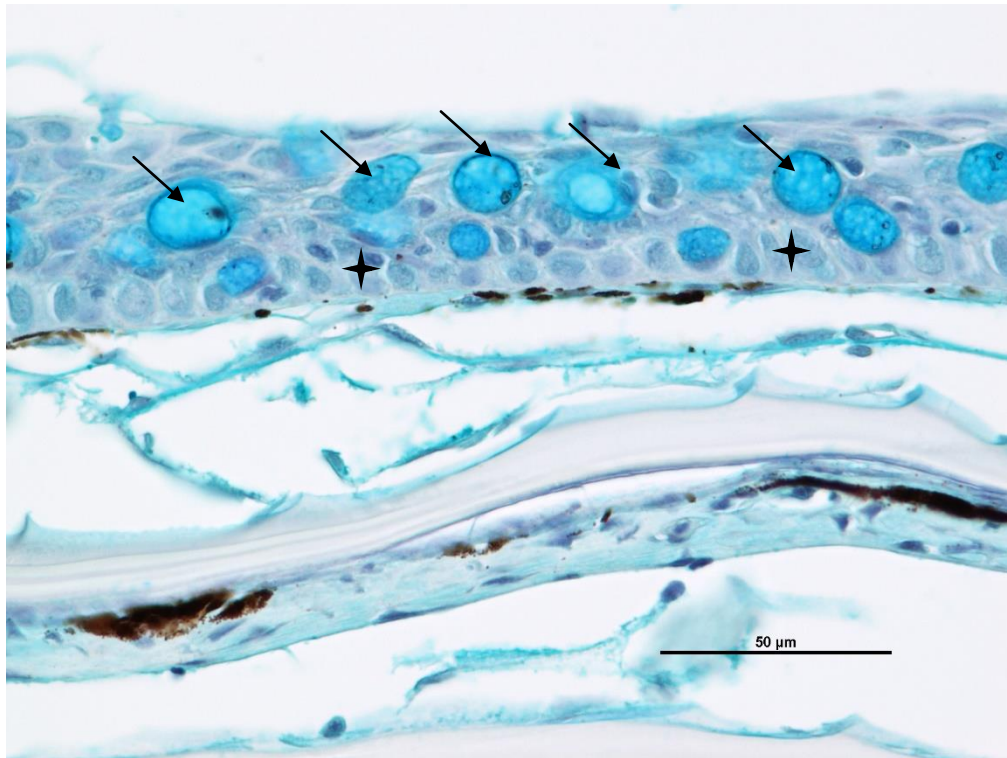
Ryc. 20) Pstrąg tęczowy, schematyczna budowa skóry. Pasek pionowy wskazuje na poszczególne warstwy skóry. Barwienie HE.

Komórki nabłonka posiadają na swojej powierzchni apikalnej dermatoglify, które zapewniają miejsca przyczepu dla wydzieliny śluzowej pokrywającej powierzchnię nabłonka. Ponadto komórki nabłonka posiadają zdolność fagocytarną, co umożliwia nie tylko eliminację patogenów, ale także eliminację ciał obcych z powierzchni, a gdy sfagocytowany materiał osiągnie maksymalną objętość, komórki ulegają złuszczeniu (Peterson, 2015). Martwe komórki są regularnie usuwane z powierzchni naskórka ryb i zastępowane żywymi komórkami znajdującymi się pod spodem. Translokacja komórek nabłonka z dolnych warstw naskórka do warstwy powierzchniowej, a następnie złuszczenie tych komórek następuje w ciągu około 4 dni (dla porównania, podobny proces translokacji i złuszczenia komórek nabłonka u ludzi trwa około 33–37 dni) (Elliott, 2011a).

Komórki nabłonkowe są zwykle małe w porównaniu z wieloma innymi typami komórek naskórka i mogą różnić się kształtem w zależności od głębokości położenia w naskórku. Komórki warstwy podstawnej, przylegające do bezkomórkowej blaszki podstawnej lub błony podstawnej, są sześciennie lub walcowate, podczas gdy komórki powierzchniowe są często spłaszczone, z cytoplazmą wypełnioną głównie degenerującymi mitochondriami i gęstymi wiązkami tonofilamentów. Kształt jądra komórki nabłonkowej odpowiada mniej więcej kształtowi komórki (Elliott, 2011a; Roberts i Ellis, 2012).

Śluzowe komórki kubkowe mają brylasty, prawie kulisty kształt i występują głównie w zewnętrznych i środkowych warstwach naskórka. Wytwarzając bogatą w glikoproteiny i mukopolisacharydy, lepka wydzielinę śluzową, która barwi się błękitem alcjanowym (Ryc. 21). Te wyspecjalizowane komórki różnicują się z komórek nabłonka podstawnego we wczesnym okresie życia larwalnego i przed rozpoczęciem aktywności wydzielniczej w sposób ciągły migrują do odpowiednich warstw naskórka i tracą zdolność podziałów mitotycznych. Zarówno liczba komórek kubkowych, jak i skład biochemiczny ich produktu, różni się w zależności od gatunku, płci i od warunków środowiskowych. Liczba komórek kubkowych może również zmieniać się sezonowo i podczas procesów, takich jak metamorfoza larw, dojrzewanie płciowe lub adaptacja do wody morskiej (Elliott, 2011a; Kilarski, 2012a; Peterson, 2015; Roberts i Ellis, 2012). U ryb łososiowatych komórki kubkowe są głównym źródłem pochodzenia śluzu (Elliott, 2011a).





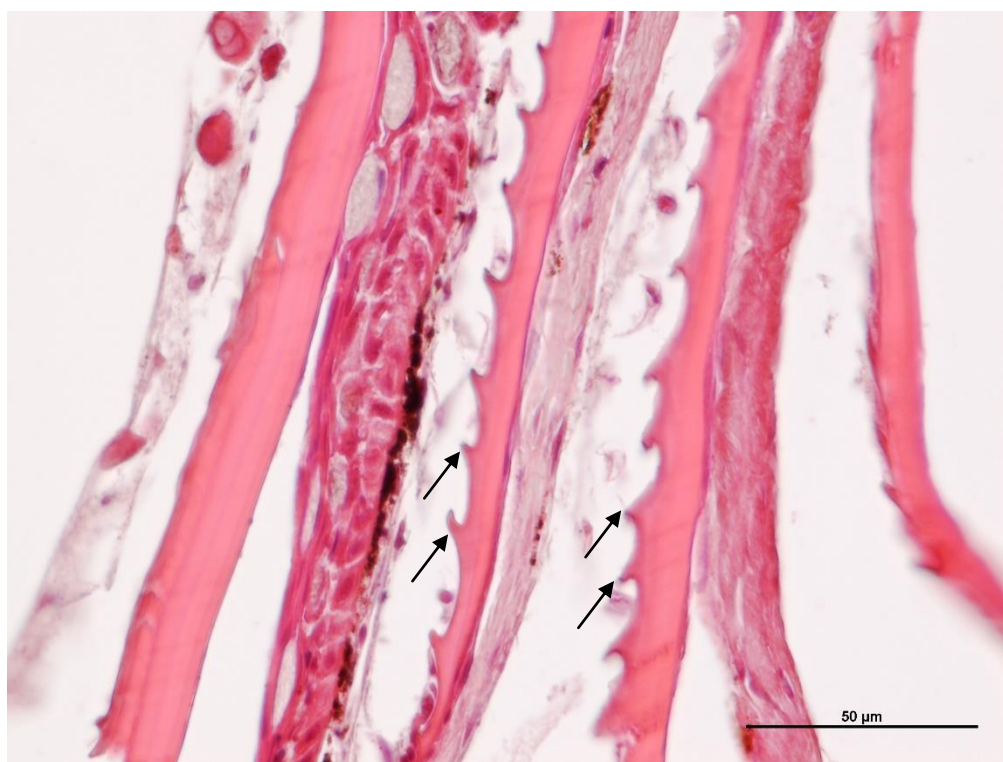
Ryc. 21) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Jaskrawo wybarwione komórki kubkowe (strzałki), nieznaczny rozrost naskórka (gwiazdki), liczba komórek śluzowych w normie. Barwienie AB/PAS.

Inne typy komórek, takie jak komórki surowicze, komórki kolbkowe, komórki wrzecionowate, komórki workowate, komórki Merkla, gruczoły jadowe, pojedyncze komórki czuciowe i narządy luminescencyjne, występujące w warstwie naskórka zostały opisane u różnych gatunków ryb; jednak komórki te nie występują w skórze pstrąga tęczowego (Kilarski, 2012a; Sveen i in., 2020).

Położona pod naskórkiem skóra właściwa u większości ryb jest podzielona na dwie główne warstwy. Warstwa górna (bardziej zewnętrzna) jest zbudowana głównie z luźnej sieci kolagenowej tkanki łącznej i nazywana jest warstwą gąbczastą lub luźną (*stratum spongiosum*, *stratum laxum*), podczas gdy głębiej położona warstwa składa się głównie z gęsto ułożonych ortogonalnych pasm kolagenowych i nazywana jest warstwą zbitą (*stratum compactum*). Względna grubość obu warstw zależy od obecności lub braku łusek, a ich rozróżnienie może być utrudnione w obszarach bez łusek. W skórze płetw warstwa zbita jest wyraźnie cieńsza niż w pozostałych obszarach. Warstwa luźna poza fibroblastami zawiera stosunkowo niewielką liczbę różnych typów komórek i tkanek, do których należą naczynia krwionośne, komórki nerwowe, chromatofory, irydofoxy, leukofory i komórki odpornościowe (Elliott, 2011a; Peterson, 2015; Sveen i in., 2020).

Skóra właściwa ryb wytwarza rozmaite twarde struktury, jak łuski, tarcze kostne lub kolce. Łuski powstają w unaczynionych uchyłkach warstwy luźnej skóry właściwej, wyścielonych fibrocytami nazywanych kieszonkami łuskowymi. Łuski mogą poprawiać lokomocję oraz zapewniać mechaniczną ochronę leżącym poniżej, delikatniejszym tkankom. Poszczególne łuski mają dużą odporność na penetrację, a dzięki dachówkowatemu zachodzeniu na siebie, rozpraszają działające siły na większe powierzchnie. U pstrąga tęczowego występują łuski elasmoidalne typu cykloidalnego. Łuski te są stosunkowo cienkie, elastyczne, półprzezroczyste i w ich budowie można wyróżnić trzy warstwy:

- płytkę podstawną - najgrubszą z warstw, złożoną z częściowo zmineralizowanej elasmodyny i z kilku warstw włókien kolagenowych nasyconych solami fosforanu wapnia w postaci kryształków hydroksyapatytu;
- warstwę zewnętrzną - cienką, dobrze zmineralizowaną warstwę składającą się z sieci przeplatających się włókien kolagenowych;
- warstwę skrajną (graniczną) - stanowiącą 16–59% objętości, całkowicie zmineralizowaną (skostniałą), która nie zawiera włókienek kolagenowych; pokrywającą łuskę od strony naskórka (Elliott, 2011a; Ferguson, 2006; Kilarski, 2012a; Roberts i Ellis, 2012; Sveen i in., 2020).



Ryc. 22) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Przekrój przez zachodzące na siebie łuski z widocznymi ząbkami listewek sklerytowych (strzałki). Barwienie HE.



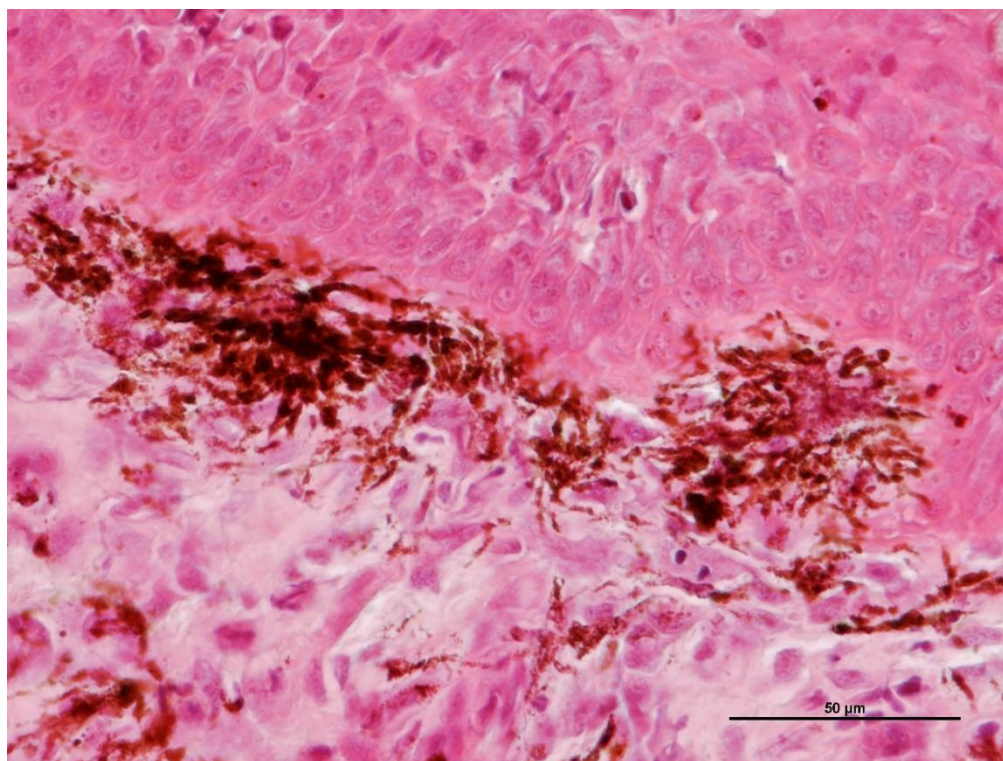
Powierzchnia łusek elasmoidalnych jest zwykle zaznaczona zwapniałymi, koncentrycznymi grzbietami zwanymi listewkami sklerytowymi (Ryc. 22). Listewki często posiadają na krawędziach ząbki skierowane do tyłu, które mogą pomóc w zakotwiczeniu łuski w pokrywającej ją skórze właściwej. Każda łuska posiada na środku centrum, od którego odchodzą promieniście niewapnione rowki zwane bruzdami lub promieniami, które zapewniają elastyczność (Elliott, 2011a; Ferguson, 2006; Kilarski, 2012a; Roberts i Ellis, 2012; Sveen i in., 2020).

Pigmentacja i wzory kolorystyczne ryb doskonałokostnych charakteryzują się największą złożonością i zróżnicowaniem spośród wszystkich kręgowców (Braasch i in., 2008). Kolory powstają w wyniku odbijania i pochłaniania światła przez chromatofory, irydofory i leukofory, znajdujące się w skórze właściwej i tkance podskórnej (Tab. 4). Chromatofory są nazwane od koloru ich pigmentu (ksantofory, erytrofory, melanofory i cyjanofory) i cechują się różnym stopniem dendrytycznego rozgałęzienia. Kontrastuje to z leukoforami, które są komórkami o spłaszczonym i wydłużonym kształcie (Burton, 2011; Elliott, 2011b, 2011a; Ferguson, 2006; Kilarski, 2012a; Roberts i Ellis, 2012; Sveen i in., 2020).

Tab. 4) Rodzaje chromatoforów występujących u ryb (za Burton, 2011, w modyfikacji własnej).

Chromatofory		Kolor	Organella	Barwniki
Absorbujące światło	<i>melanofory</i>	czarny, brązowy	melanosomy	melaniny
	Lipofory	<i>ksantofory</i>	ksantosomy, erytrosomy	karotenoidy, pterydyny
		<i>erytrofory</i>	ksantosomy, erytrosomy	karotenoidy, pterydyny
	<i>cyjanofory</i>	niebieski	cyjanosomy	
Odbijające światło	<i>leukofory</i>	białawy	leukosomy	puryny, kwas moczowy
	<i>irydofory</i>	irydyscentny		płytki purynowe

Wiele gatunków ryb, w tym pstrąg tęczowy, ma ciemny kolor skóry na grzbiecie i bladą powierzchnię brzuszną, co nazywane jest przeciwcieńiowaniem, stanowiącym rodzaj kamuflażu. Ciemne chromatofory (melanocyty) (Ryc. 23) znajdują się w warstwie gąbczastej skóry właściwej i tkance podskórnej w okolicy grzbietu, z kolei w okolicy brzusznej jest niewiele chromatoforów, zamiast tego liczne irydofory i leukofory nadają skórze brzucha blady kolor z efektami odbłaskowymi i opalizującymi. U ryb kolor skóry poza funkcją ochronną, uczestniczy w doborze partnera i termoregulacji. Zmiany koloru mogą być krótkotrwałe, fizjologiczne i długotrwałe, morfologiczne. Regulowane są przez działanie autonomicznego układu nerwowego oraz czynników endokrynologicznych i parakrynnych, mają na nie wpływ także środowisko, promieniowanie UV i temperatura. Wzory kolorystyczne zawdzięczone chromatoforom mogą wynikać ze zróżnicowania rodzajów komórek, ich dystrybucji i wewnątrzkomórkowego ruchu pigmentu. Dodatkowo wpływ na opalizację ma budowa skóry, a dokładniej układ włókien kolagenowych i mikrostruktura powierzchni. Pigmentacja skóry może również ulec zmianie w wyniku urazu, działalności pasożytów i infekcji skóry, pochodzenia grzybowego, wirusowego i bakteryjnego (Burton, 2011; Elliott, 2011b, 2011a; Ferguson, 2006; Kilarski, 2012a; Roberts i Ellis, 2012; Sveen i in., 2020).



Ryc. 23) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Centralnie widoczne dendrytycznie rozgałęzione melanofory warstwy gąbczastej skóry właściwej z rozproszonymi melanosomami. Barwienie HE.

## 3.4. Skrzela

### 3.4.1. Funkcje skrzeli

Skrzela są narządem pełniącym wiele funkcji, a wg Olson (2002) „są najbardziej zróżnicowanym fizjologicznie narządem kręgowców, a ich układ naczyniowy jest najbardziej skomplikowanym”. Skrzela ryb są głównym układem regulacyjnym między środowiskiem wewnętrznym i zewnętrznym oraz różnymi sygnałami neurokrynnymi, endokrynnymi, parakrynnymi i autokrynnymi, które koordynują i kontrolują ich funkcje (Olson, 2002).

Ich najważniejszą funkcją u większości gatunków ryb jest przeprowadzanie dyfuzyjnej i aktywnej wymiany gazów oddechowych (tlen i dwutlenek węgla). Pozyskiwanie tlenu ze środowiska obejmuje dyfuzję zgodnie z gradientem stężeń od obmywającego strumienia wody, przez nabłonek skrzeli, do krwi. Szybkość tego procesu można wyliczyć na podstawie przekształconego równania Ficka (Równanie 2):

Równanie 2) Przekształcone równanie Ficka (za Wegner, 2011).

$$\frac{\dot{V}_{O_2}}{\Delta P_{O_2}} = \frac{K \times A}{t} = D$$

gdzie  $\dot{V}_{O_2}$  oznacza szybkość pobierania tlenu ( $\text{ml O}_2 \text{ min}^{-1}$ ),  $K$  to współczynnik dyfuzji Krogha ( $\frac{\text{ml O}_2 \mu\text{m}}{\text{cm}^2 \text{ mmHg min}}$ ),  $A$  to całkowita powierzchnia oddechowa skrzeli ( $\text{cm}^2$ ),  $\Delta P_{O_2}$  to średnia różnica ciśnienia parcjalnego tlenu między krwią a wodą ( $\text{mmHg}$ ),  $t$  to dystans dyfuzji ( $\mu\text{m}$ ), a  $D$  to zdolność dyfuzji ( $\frac{\text{ml O}_2}{\text{min mmHg}}$ ).

Zdolność dyfuzji  $D$  jest parametrem niezależnym zarówno od tempa metabolizmu ryb, jak i gradientu dyfuzji tlenu przez skrzela, a zatem stanowi użyteczną miarę do porównywania gatunków ryb pod względem ich zdolności do pozyskiwania tlenu ze środowiska w oparciu o wymiary skrzeli, gdzie  $D$  zależy zarówno od powierzchni skrzeli, jak i grubości nabłonka oddechowego (zwanej również odległością bariery woda-krew) (Wegner, 2011).

Ponadto na podstawowym poziomie czynnościowym skrzela odpowiadają za aktywną jonoregulację, mającą na celu utrzymanie równowagi osmotycznej i kwasowo-zasadowej, zwłaszcza w odniesieniu do hipoosmotycznych lub hiperosmotycznych właściwości środowiska. Co więcej, sprawują znaczącą kontrolę hemodynamiczną nad całym układem krążenia poprzez wazokonstrykcję i wazorelaksację głównych naczyń. Dodatkowo w nabłonku skrzeli zachodzi eliminacja szkodliwych związków azotowych powstałych w procesach metabolicznych (Evans i in., 2005; Kilarski, 2012b; Peterson, 2015; Roberts i Ellis, 2012; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011).

### **3.4.2. Budowa anatomiczna i histologiczna**

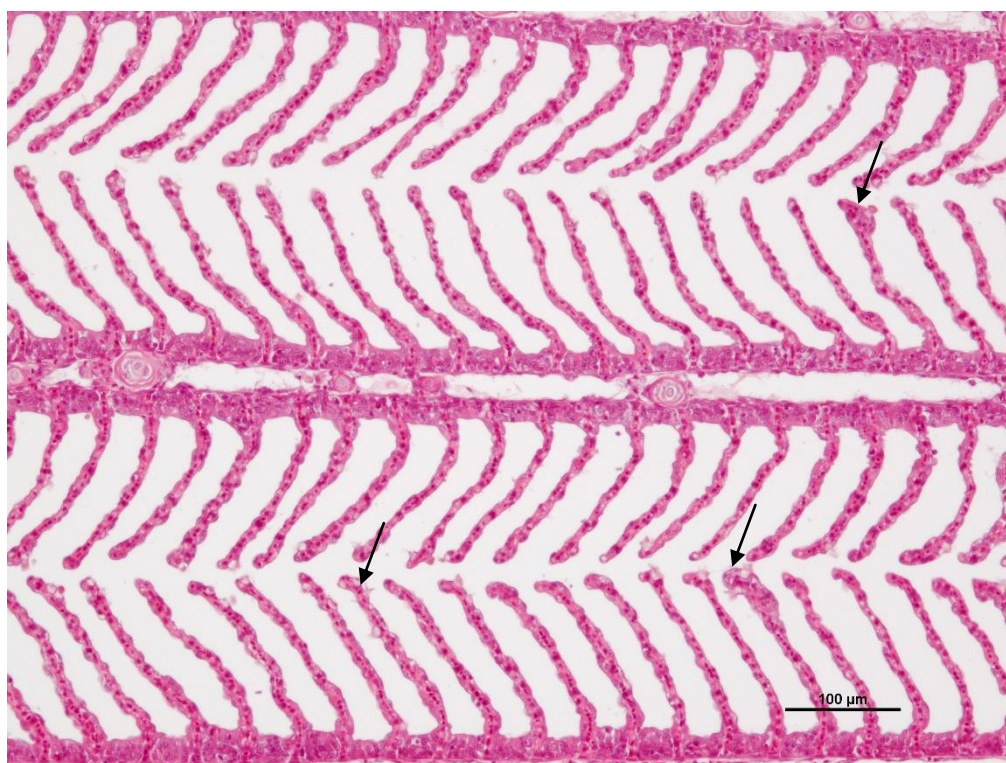
Pstrąg tęczowy posiada po cztery łuki skrzelowe umieszczone w jamie skrzelowej po obu stronach okolicy gardłowej, przykrytej wieczkiem skrzelowym, które powstaje z przekształconego piątego łuku skrzelowego. Każdy z łuków skrzelowych podtrzymuje dwa rzędy włókien nazywanych listkami skrzelowymi, długich struktur przypominających ostrza, które rozciągają się od łuku w kierunku tylnobocznym. Pojedynczy rząd nazywany jest półskrzелеm, a dwa rzędy listków skrzelowych tworzą razem skrzеле. Pomiędzy ich proksymalnymi częściami znajduje się w różnym stopniu rozwinięta przegroda. Pierwsze ontogenetycznie listki skrzelowe tworzą się w połowie długości łuku, który na środku jest dogłowowo wklęsło zagięty. Podczas wzrostu ryby, trwającego przez całe życie, nowe listki skrzelowe przyrastają odśrodkowo od zagięcia (dogłowowo i do brzusznie). Półskrzela wystają z zewnętrznej krawędzi łuku skrzelowego w taki sposób, że wolne krawędzie listków skrzelowych rozchodzą się i dotykają krawędzi listków skrzelowych sąsiednich łuków skrzelowych (Kilarski, 2012b; Koppang i in., 2015; Roberts i Ellis, 2012; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011; Wilson i Laurent, 2002).

Łuki i odchodzące od nich listki skrzelowe posiadają rdzenie zbudowane z tkanki chrzęstnej, która może ulegać kostnieniu. Kąt rozwarcia pomiędzy półskrzelami jest regulowany przez zestaw mięśni przywodzicieli, aby dostosować go do przepływu wody. Z krzywizny wewnętrznej łuków skrzelowych (po przeciwnej stronie niż listki skrzelowe) do jamy skrzelowej wyrastają wyrostki filtracyjne. Ich główną funkcją jest filtrowanie stałych części pokarmu wciąganego do przewodu pokarmowego, a także dodatkowe



przytrzymywanie schwytanego pokarmu (Kilarski, 2012b; Koppang i in., 2015; Roberts i Ellis, 2012; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011; Wilson i Laurent, 2002).

Pole powierzchni listków skrzelowych jest dodatkowo zwiększane przez wystające na ich powierzchni grzbietowej i brzusznej, regularnie rozmieszczone półksiężycowate fałdy – są to blaszki oddechowe (podstawowe jednostki oddechowe) (Ryc. 24). Blaszki na każdym z listków są ułożone w taki sposób, że wchodzi w przestrzeń pomiędzy blaszkami oddechowymi sąsiednich listków. W centrum każdej z blaszek znajduje się płytkowaty system rozgałęzionych naczyń mikrokrażenia, otoczony fałdą błony podstawnej i zwykle niskim nabłonkiem oddechowym (Kilarski, 2012b; Koppang i in., 2015; Roberts i Ellis, 2012; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011; Wilson i Laurent, 2002).



Ryc. 24) Pstrąg tęczowy, skrzela, grupa kontrolna. Listki skrzelowe z regularnie rozmieszczonymi blaszkami skrzelowymi. Zmiany histopatologiczne - zwiększenie liczby i objętości komórek kubkowych śluzowych dystalnych części blaszek oddechowych (strzałki). Barwienie HE.

Podczas oddychania woda przepływa od jamy gębowej, pomiędzy skrzelami w jamie skrzelowej, wypływając pod wieczkiem skrzelowym. U większości gatunków

przepływ jest napędzany przez naprzemienne rozszerzanie i kurczenie się komory jamy gębowej (mięśnie policzków) i komory jamy skrzelowej (ruchy wieczka skrzelowego). Powstająca w ten sposób siła ssąca utrzymuje ciągły przepływ wody przez skrzela, zawsze w kierunku z jamy gębowej do jamy skrzelowej. W porównaniu ze zwierzętami oddychającymi powietrzem, koszt energetyczny wentylacji skrzeli jest bardzo wysoki (Kilarski, 2012b; Roberts i Ellis, 2012).

Struktury chrzęstne i kostne otoczone są zrębem łącznotkankowym, w którym biegną naczynia krwionośne, nerwy i który stanowi dodatkową podporę dla pokrywających nabłonek i komórek odpornościowych. W zrębie listków skrzelowych, aorta brzuszna dzieli się na liczne drobne gałęzie aferentnych tętnic skrzelowych, które biegną wzdłuż zewnętrznej krawędzi listków skrzelowych. Krew wnika do przestrzeni krwionośnych blaszek przez krótkie doprowadzające tętnice blaszkowe. Ta odtlenowana krew płynie w przeciwnym kierunku niż woda obmywająca skrzela. Powoduje to wymianę przeciwpądową i prowadzi do przejścia 60–80% tlenu z wody do krwi. U pstrąga tęczowego dystans między krwią a wodą wynosi około 6  $\mu\text{m}$  (średnia grubość ściany blaszki). Natlenowana krew opuszcza blaszki przez tętnice blaszkowe odprowadzające, dalej do eferentnych tętnic skrzelowych, aby ostatecznie dostarczyć krew do aorty grzbietowej. W blaszkach natlenowana krew jest kierowana również do tkanki skrzeli przez obwód odżywczy, tworzący drugorzędowy układ krążenia, analogiczny do ssaczego układu limfatycznego (Kilarski, 2012b; Koppang i in., 2015; Olson, 2002; Roberts i Ellis, 2012; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011; Wilson i Laurent, 2002).

Skrzela pokryte są nabłonkiem, którego powierzchnia jest szacowana na 0,1–0,4  $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$  masy ciała. W zależności od wieku i gatunku zwierzęcia, jest więc porównywalna do znacząco większej niż całkowita powierzchnia skóry, czyniąc nabłonek skrzeli największą powierzchnią oddziałującą ze środowiskiem zewnętrznym i sprawia, że jego struktura ma istotny wpływ na homeostazę. U podstawy listków skrzelowych nabłonek jest najgrubszy. Zwykle składa się z trzech lub więcej warstw komórkowych, których komórki przy powierzchni mają głównie kształt płaski i sześcienny. Na błonie podstawnej znajdują się nieodróżnicowane komórki podstawne, wypełniające również przestrzeń pośrednią. Nabłonek na blaszkach przechodzi w oddechowy nabłonek płaski, zbudowany z jednej do trzech warstw komórek. Nabłonek

blaszek składa się z płaskich komórek powierzchniowych oraz nie zróżnicowanych komórek podstawnych i pośrednich.

Oprócz komórek nabłonkowych (PE, ang. pavement epithelium cells), w nabłonku występują komórki bogate w mitochondria (MRC, ang. mitochondria-rich cells, CC, ang. chloride cells; jonocyty, komórki chlorkowe) i komórki wytwarzające śluz, często nazywane komórkami kubkowymi, najliczniejsze w podstawie listków skrzelowych. Powierzchnia apikalna komórek nabłonka posiada przypominające dermatoglify krawędzie (jednak zdecydowanie niższe niż skórne), które powodują silniejsze przyleganie śluzu i dodatkowo zwiększają powierzchnię oddechową. Ich całkowita liczba i tempo wymiany, zależą od proliferacji, śmierci komórek, wzrostu narządu oraz odpowiedzi adaptacyjnych na zmiany środowiskowe. Podziały komórkowe w największym stopniu zachodzą w międzyblaszkowym nabłonku listków skrzelowych i w znacznie mniejszym stopniu w nabłonku blaszek. Dowiedziono, że całkowita wymiana komórek może nastąpić w ciągu kilku godzin w warunkach niedotlenienia (Elliott, 2011a; Kilarski, 2012b; Koppang i in., 2015; Roberts i Ellis, 2012; Smith i in., 2018; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011; Wilson i Laurent, 2002).

Konstrukcja blaszek skrzelowych jest wzmocniona przez zmodyfikowane komórki nabłonkowe - komórki podporowe, ułożone w rzędach co 9-10  $\mu\text{m}$ . Rozszerzają się klepsydrowo w miejscu kontaktu z śródmiąższową tkanką łączną, sąsiadującą z błoną podstawną nabłonka oddechowego blaszek. Łączą się połączeniami ścisłymi z sąsiadującymi komórkami podporowymi, wzmacniając śródbłonek kapilar blaszkowych. W cytoplazmie obwodowej zawierają liczne wiązki kurczliwych białkowych mikrofilamentów. Do ich błon komórkowych pozakomórkowo przyłączają się pęczki włókien kolagenowych, biegnące równolegle do mikrofilamentów, które splatają się z włóknami kolagenu w śródmiąższowej tkance łącznej po stronie naczyńnej blaszki podstawnej. Krew w kapilarach blaszek oddechowych ma wysokie ciśnienie, ponieważ pochodzi bezpośrednio z aorty brzusznej, dlatego obecność elementów włóknistych i kurczliwych przeciwdziała powstawaniu tętniaków (dokładniej teleangiektazji blaszkowych). Czasami pomiędzy komórkami nabłonka pokrywającego listki skrzelowe mogą znajdować się komórki kubków smakowych, chociaż najczęściej spotyka się je w nabłonku wyrostków filtracyjnych (Ryc. 25) (Elliott, 2011a; Kilarski, 2012b; Koppang i in., 2015; Roberts i Ellis, 2012; Speare i Ferguson, 2006; Wegner, 2011; Wilson i Laurent, 2002).





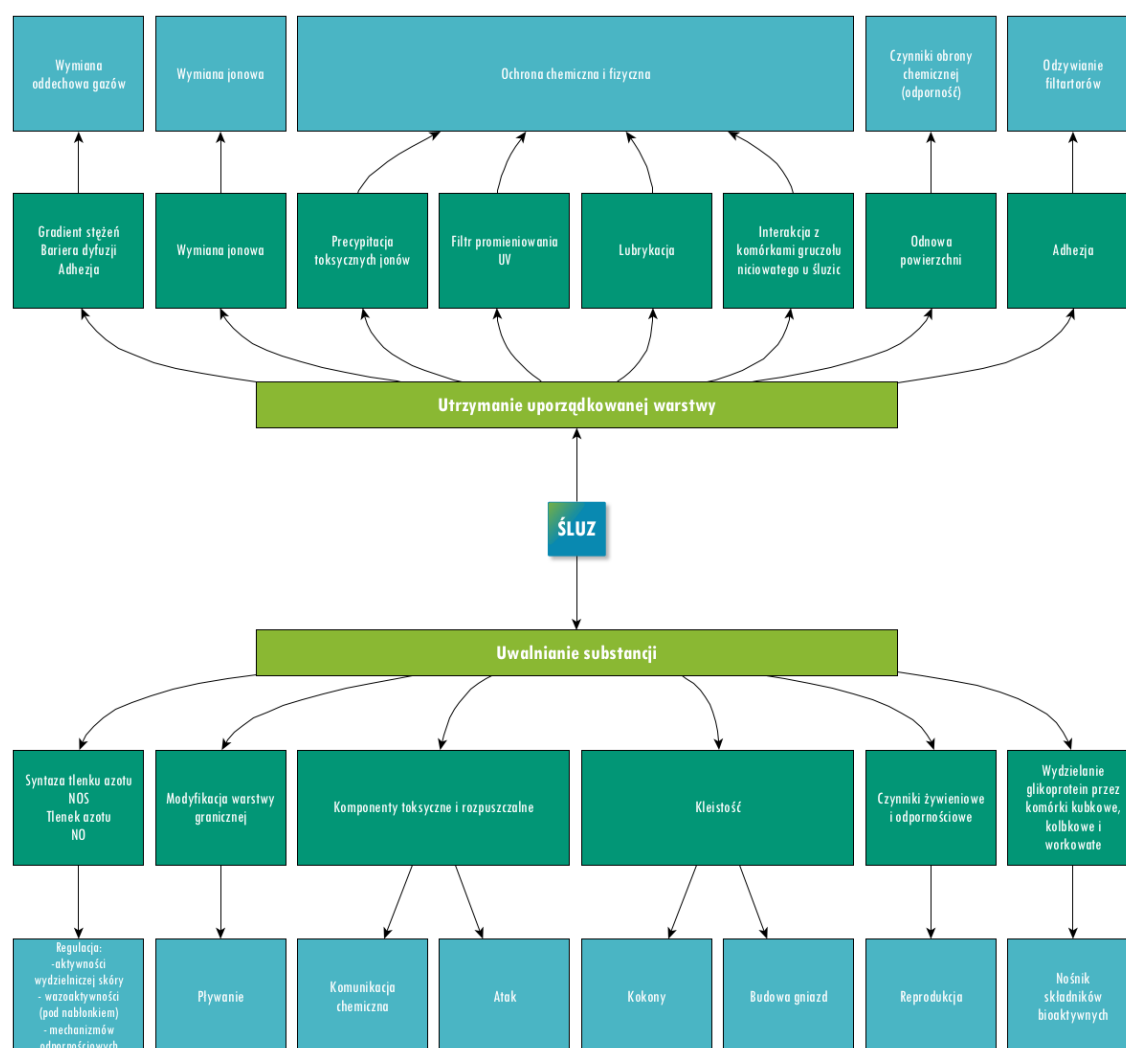
Ryc. 25) Pstrąg tęczowy, skrzela, wyrostki filtracyjne, grupa kontrolna. Nabłonek pokrywający powierzchnię kostnych wyrostków filtracyjnych bogaty w komórki śluzowe. Barwienie HE.

### 3.5. Śluz

Jest produkowany przez komórki kubkowe, kolbkowe, wrzecionowate, workowate naskórka skóry i nabłonka skrzeli, pokrywając cienką warstwą całą powierzchnię ciała. Składa się z macierzy glikoproteinowej mającej strukturę żelu, złożonej przede wszystkim z wielkocząsteczkowych i silnie glikozylowanych mucyn. Jego dokładny skład, struktura i grubość zależą od gatunku, stadium rozwoju, płci, stanu fizjologicznego, immunologicznego i warunków środowiskowych i jest ściśle związany z wieloma funkcjami, które pełni. Śluz zawiera liczne aktywne składniki, związane głównie z humoralnym układem odpornościowym. Zalicza się do nich enzymy (przede wszystkim lizozym, lektyny, enzymy proteolityczne, fosfatazy i esterazy), peptydy przeciwbakteryjne, przeciwciała (także przechodzące z układu krążenia przeciwciała klasy IgM), składniki układu dopełniacza oraz białko C-reaktywne (Alexander i Ingram, 1992; Benhamed i in., 2014; Cabillon i Lazado, 2019; Cordero i in., 2016; Dash i in., 2018; Elliott, 2011b; Esteban, 2012; Esteban i Cerezuela, 2015; Fast i in., 2002; Kilarski, 2012b, 2012a; Reverter i in., 2018; Sveen i in., 2020; Uribe i in., 2011).

Produkcja śluzu przez nabłonek ryb jest jedną z adaptacji do życia w środowisku wodnym. Śluz pełni wiele różnych funkcji (Ryc. 26), a jedną z najważniejszych jest funkcja ochronna. Śluz pomaga utrzymać powierzchnię skóry wolną od patogenów poprzez ciągłe złuszczenie i odnowę. Dzięki właściwościom precypitującym śluz może również pomóc w usuwaniu zawieszonego materiału ze skrzeli i skóry ryb w wodach silnie mętnych lub zanieczyszczonych. Ponadto zawiera związki, które mogą absorbować promieniowanie ultrafioletowe (UV), zarówno UVA, jak i UVB. Niektóre tropikalne gatunki papugoryb i wargaczowatych (Labridae) wydzielają śluzowy kokon, który otacza ich ciała nocą, zapewniając ochronę przed drapieżnikami polującymi za pomocą zmysłów węchu lub dotyku. Co więcej, wydzieliny śluzowe i zgrubiałe (lub rzadko zrogowaciałe) zewnętrzne warstwy skóry pomagają w ochronie przed otarciami u ryb norujących lub prowadzących półładowy tryb życia (np. poskoczek mułowy *Periophthalmus barbarus*). Śluz współuczestniczy również w procesach rozrodczych, m. in. jest wykorzystywany do budowania gniazd i karmienia larw. Pełni również znaczącą rolę w wymianie gazowej, osmotycznej i jonowej (Alexander i Ingram, 1992; Benhamed i in., 2014; Cabillon i Lazado, 2019; Cordero i in., 2016; Dash i in., 2018; Elliott, 2011b; Esteban, 2012; Esteban i Cerezuela, 2015; Kilarski, 2012a, 2012b; Sveen i in., 2020; Uribe i in., 2011).

Śluz poza funkcjami immunologicznymi, stanowi mechaniczną ochronę naskórka przed abrazją i bierze udział w procesach naprawczych. Zranione ryby wydzielają go w zwiększonej ilości. Śluz zapewnia fizyczną i przeciwdrobnoustrojową ochronę i zranionej powierzchni. Ponadto dzięki aktywności hemolitycznej i wpływowi na skurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych, przyspiesza gojenie ran. Aplikacja śluzu rybiego na rany ssaków może aktywować gojenie, ponadto śluz może zmniejszać stan zapalny, wzmacniać tworzenie się ziarniny i przyspieszać kurczenie się rany (Alexander i Ingram, 1992; Benhamed i in., 2014; Cabillon i Lazado, 2019; Cordero i in., 2016; Dash i in., 2018; Elliott, 2011b; Esteban, 2012; Esteban i Cerezuela, 2015; Kilarski, 2012a, 2012b; Sveen i in., 2020; Uribe i in., 2011).



Ryc. 26) Diagram niektórych z funkcji śluzu ryb, podzielonych na role, obejmujące wytwarzanie i utrzymywanie warstwy śluzu otaczającego rybę oraz uwalnianie substancji do wody (za Elliott, 2011b).

### 3.6. Składniki układu odpornościowego

U ryb w zwalczaniu patogenów uważana za kluczową jest odpowiedź odpornościowa wrodzona, ze względu na ograniczenia adaptacyjnego układu odpornościowego (m.in. ograniczona ilość immunoglobulin, powolna proliferacja i dojrzewanie limfocytów oraz silny wpływ czynników środowiskowych, takich jak temperatura). Wrodzony układ odpornościowy ryb można podzielić na trzy części: barierę śluzówkową/nabłonkową (tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi), składniki humoralne i składniki komórkowe. Ze względu na to, że większość patogenów rozpoczyna zakażenie na powierzchni błony śluzowej, to właśnie bariera śluzówkowa/nabłonkowa, zwłaszcza skóry i skrzel, jest kluczowa dla odporności organizmu. Tkankę limfatyczną związaną z błonami śluzowymi (MALT, ang. mucosal-associated lymphoid tissue) można podzielić według lokalizacji anatomicznej na:

- tkankę limfatyczną związaną ze skórą (SALT, ang. skin-associated lymphoid tissue),
- tkankę limfatyczną związaną ze skrzelami (GIALT, ang. gill-associated lymphoid tissue),
- tkankę limfatyczną związaną z jelitami (GALT, ang. gut-associated lymphoid tissue).

Błona śluzowa zasadniczo podzielona jest na dwa przedziały efektorowe, tj. nabłonek i blaszkę właściwą, które są oddzielone błoną podstawną. Błona podstawna jest przepuszczalna i umożliwia przepływ leukocytów z jednego przedziału do drugiego. Ruch ten odbywa się przez okienka błony podstawnej, które występują licznie w MALT (Bayne i Gerwick, 2001; Bjørgen i Koppang, 2021; Dalmo i in., 1997; Ellis, 2001; Esteban, 2012; Gomez i in., 2013; Koppang i in., 2015; Randelli i in., 2008; Rességuier i in., 2020; Salinas, 2015; Tort i in., 2003; Zhang i in., 2010).

Tkanka limfatyczna związana ze skórą (SALT) zawiera różnorodne leukocyty, w tym limfocyty (komórki T i B), komórki plazmatyczne, makrofagi i granulocyty. Leukocyty i inne komórki ameboidalne mają zdolność migracji przez śluz. Komórki tuczne, u ryb określane jako eozynofilowe komórki ziarniste (EGC, ang. eosinophilic granular cells), to komórki osiadłe w tkankach całego ciała, znajdujących się w pobliżu powierzchni stykających się ze środowiskiem zewnętrznym, szczególnie w okolicy struktur takich, jak naczynia krwionośne i nerwy. U ryb komórki tuczne znajdują się

w różnych tkankach, w tym w skórze, skrzelach, jelitach, mózgu oraz w okolicach naczyń krwionośnych. Funkcjonalnie wykazują bliskie podobieństwo do komórek tucznych ssaków. Komórki tuczne odgrywają ważną rolę w odpowiedzi zapalnej, ponieważ produkują różne funkcjonalne białka, w tym peptydy przeciwdrobnoustrojowe (AMP, ang. antimicrobial peptides), które działają przeciwko szerokiemu spektrum patogenów (Bayne i Gerwick, 2001; Bjørgen i Koppang, 2021; Dalmo i in., 1997; Ellis, 2001; Gomez i in., 2013; Koppang i in., 2015; Randelli i in., 2008; Rességuier i in., 2020; Salinas, 2015; Tort i in., 2003; Zhang i in., 2010).

W skórze pstrąga tęczowego scharakteryzowano komórki podobne do ssaczych komórek Langenharsa, charakteryzujące się ekspresją CD8<sup>+</sup>. U ssaków komórki dendrytyczne (DC, ang. dendritic cell) są komórkami prezentującymi antygen, łączącymi reakcje odpowiedzi wrodzonej i nabytej. Gdy patogen zostanie sfagocytowany, antygeny są transportowane do wtórnych tkanek limfoidalnych i ulegają ekspresji, co stymuluje produkcję specyficznych limfocytów T. Chociaż DC mają fundamentalne znaczenie w odpowiedzi immunologicznej ssaków, ich obecność i funkcja u innych gatunków ryb dotychczas zostały słabo zbadane (Bayne i Gerwick, 2001; Bjørgen i Koppang, 2021; Dalmo i in., 1997; Ellis, 2001; Esteban, 2012; Gomez i in., 2013; Koppang i in., 2015; Randelli i in., 2008; Rességuier i in., 2020; Salinas, 2015; Tort i in., 2003; Zhang i in., 2010).

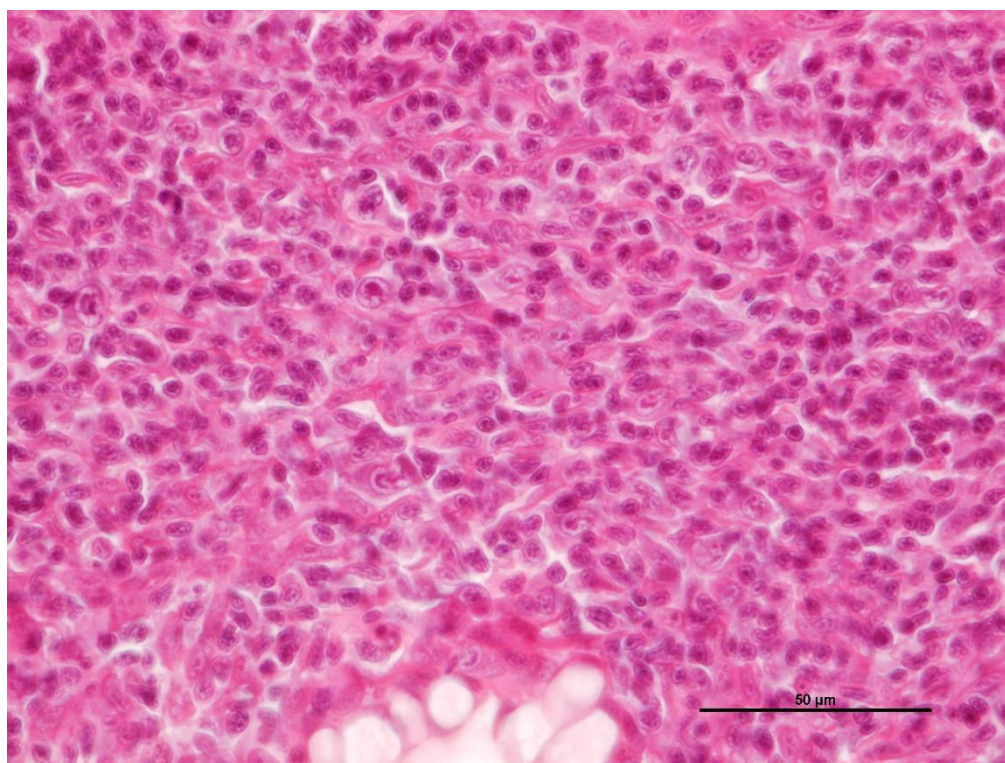
Makrofagi i różne typy granulocytów, takich jak neutrofile, są również obecne w SALT, odgrywając kluczową rolę we wrodzonej odpowiedzi odpornościowej. Są to fagocytarne komórki linii mieloidalnej, biorące udział w różnych procesach, takich jak mechanizmy homeostatyczne, gojenie się ran oraz wykrywanie i usuwanie ciał obcych, patogenów oraz komórek nowotworowych i komórek zakażonych wirusem. Ponadto makrofagi i neutrofile wytwarzają setki bioaktywnych cząsteczek, które odgrywają istotną rolę w procesach rozpoznawania i niszczenia patogenów, komunikacji i aktywacji komórkowej, inicjacji adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej oraz ustępowaniu odpowiedzi zapalnej i naprawie tkanek (Bayne i Gerwick, 2001; Bjørgen i Koppang, 2021; Dalmo i in., 1997; Ellis, 2001; Esteban, 2012; Gomez i in., 2013; Koppang i in., 2015; Randelli i in., 2008; Rességuier i in., 2020; Salinas, 2015; Tort i in., 2003; Zhang i in., 2010).

Limfocyty B i T są komórkami linii limfoidalnej, będącymi elementami odporności nabytej, obecnymi zarówno w skórze ryb chrzęstnych, jak i doskonałokostnych. Najważniejszą rolą limfocytów B w odporności nabytej wydaje się być rozpoznawanie antygenów w ich natywnej postaci i wytwarzanie przeciwciał przeciwko tym antygenom. Ponieważ limfocyty B są w stanie wytwarzać trzy typy immunoglobulin Ig (IgM, IgD i IgT/IgZ), istnieją różne populacje komórek B wyróżnione na podstawie wytwarzanych przez nie immunoglobulin. U pstrąga tęczowego dotychczas scharakteryzowano dwie populacje:  $\text{IgD}^+/\text{IgM}^+/\text{IgT}^-$  i  $\text{IgD}^-/\text{IgM}^-/\text{IgT}^+$ . Choć zarówno limfocyty B  $\text{IgT}^+$ , jak i  $\text{IgM}^+$  są obecne w niskim odsetku w skórze pstrąga, to główną populację limfocytów B w tej tkance stanowiły limfocyty B  $\text{IgT}^+$ . Limfocyty T odgrywają zasadniczą rolę w odporności komórkowej, a ponieważ wchodzi w interakcje z bakteriami obecnymi na powierzchni błony śluzowej, pełnią istotną rolę w tolerancji lub odporności przeciwko mikrobiocie komensalnej. Komórki T charakteryzują się obecnością receptora komórek T (TCR), dzięki któremu rozpoznają antygeny. W przeciwieństwie do limfocytów B, limfocyty T rozpoznają antygeny tylko po ekspozycji w kontekście głównego układu zgodności tkankowej (MHC), klasy I lub II. U ssaków występują różne podzbiory limfocytów T (cytotoksyczne, Th1, Th2, Treg i Th17), a niektóre z nich opisano również u doskonałokostnych. Naskórek pstrąga tęczowego jest tkanką bogatą w większość podtypów limfocytów T, a poziom transkrypcji czynników związanych z limfocytami T i liczebność limfocytów T, są porównywalne do tych występujących w śledzionie. SALT ryb przy braku węzłów chłonnych, zachowuje się jak wtórne narządy limfatyczne. Ciekawym jest, że limfocyty T nie są równomiernie rozmieszczone, ponieważ ich największa liczba występuje w 1/3 przedniej części ciała (Bayne i Gerwick, 2001; Bjørgen i Koppang, 2021; Dalmo i in., 1997; Ellis, 2001; Gomez i in., 2013; Koppang i in., 2015; Leal i in., 2016; Parra i in., 2015; Randelli i in., 2008; Rességuier i in., 2020; Salinas, 2015; Tort i in., 2003; Wang i Secombes, 2013; Xu i in., 2013; Zhang i in., 2010).

Komórki nabłonkowe są aktywnymi koordynatorami homeostazy, kolonizacji komensalnej oraz wrodzonej i wtórnej odpowiedzi immunologicznej poprzez ekspresję PRR, w tym lektyn, receptorów typu NOD (NLR) i receptorów Toll-podobnych (TLR). Ponadto są zdolne do bezpośredniej interakcji z patogenami i bakteriami komensalnymi (Bjørgen i Koppang, 2021; Ellis, 2001; Esteban, 2012; Gomez i in., 2013; Koppang i in., 2015; Rességuier i in., 2020; Salinas, 2015; Tort i in., 2003).



Nabłonek śluzowy pokrywający skrzela jest jednym z najważniejszych elementów układu odpornościowego, a skrzela charakteryzują się znaczną ilością komórek odpornościowych. Ponadto w 2008 r. u łososia atlantyckiego (*Salmo salar*) zidentyfikowano wyspecjalizowaną tkankę limfoepitelialną zwaną śródskrzelową tkanką limfatyczną (ILT, ang. interbranchial lymphoid tissue) (Haugarvoll i in., 2008), której występowanie potwierdzono też u innych ryb łososiowatych. Śródskrzelowa tkanka limfatyczna jest zlokalizowana w dystalnej (doogonowej) części przegrody międzyskrzelowej ryb łososiowatych. ILT składa się głównie z limfocytów T osadzonych w siatce komórek nabłonkowych i jest pozbawiona naczyń krwionośnych (Ryc. 27). Struktura wydaje się bogata w komórki posiadające ekspresję głównego układu zgodności tkankowej (MHC) klasy II+ oraz transkrypty IgT. W ILT do tej pory wykryto niewiele limfocytów produkujących immunoglobuliny (Ig)M+ i nieznaczną ilość limfocytów B. ILT należy traktować jako część tkanki limfatycznej związanej ze skrzelami (GIALT). Co więcej, wykazano, że ILT wykazuje konstytutywną ekspresję cytokiny CCL19, normalnie związanej z ekspresją w narządach limfatycznych, co sugeruje, że ILT należy uznać za samodzielny narząd odpornościowy (Aas i in., 2017; Bjørgen i in., 2019; Bjørgen i Koppang, 2021; Haugarvoll i in., 2008; Koppang i in., 2015; Parra i in., 2015; Rességuier i in., 2020).



Ryc. 27) Pstrąg tęczowy, skrzela, grupa kontrolna. Struktura śródskrzelowej tkanki limfatycznej. Barwienie HE.



Komórki podporowe i inne komórki śródbłónka tętnic blaszek skrzelowych pstrąga tęczowego wykazują wysoką ekspresję białka MHC klasy I, co sugeruje, że komórki te są aktywnie zaangażowane w prezentację antygeny adaptacyjnemu układowi odpornościowemu. Z drugiej strony, wyraźna ekspresja MHC klasy I u zdrowych ryb może pomóc w utrzymaniu komórek NK podobnych w fazie anergii poprzez inhibicję receptorów komórek NK. Jednak w stanach zapalnych (np. gdy komórki śródbłónka są aktywowane przez TNF- $\alpha$ ), może to skutkować wzrostem MHC klasy II i CD83 (Björger i Koppang, 2021; Koppang i in., 2015; Rességuier i in., 2020; Uribe i in., 2011).

Często w podnabłonkowej tkance zrębu łącznotkankowego wyrostków filtracyjnych znajdują się liczne agregaty limfocytarne, które prawdopodobnie stanowią strukturę analogiczną do migdałków u ssaków, odpowiadającą za pierwotny kontakt organizmu z antygenami (Björger i Koppang, 2021; Koppang i in., 2015; Rességuier i in., 2020).

Dodatkowo poza komórkami należącymi do skrzeli, ze względu na doskonałe unaczynienie, w skrzelach będą się znajdowały komórki uczestniczące w reakcjach odpornościowych, pochodzące z krwi obwodowej. Składają się na nie populacje komórek o różnym stopniu zróżnicowania i aktywności, co przekłada się na różne pełnione przez nie funkcje i różnice w ich morfologii. Największą frakcję komórek odpornościowych krwi obwodowej u pstrąga tęczowego stanowią leukocyty (PBL, ang. peripheral blood leucocytes), które ze względu na morfologię dzieli się na komórki polimorfojądrowe (PMNC, ang. polymorphonuclear cells) reprezentowane przez granulocyty, oraz komórki jednojądrzaste (MNC, ang. mononuclear cells; PBMC, ang. peripheral blood mononuclear cells), do których należą limfocyty, monocyty i makrofagi (choć niektóre makrofagi mogą mieć segmentowane jądro). Monocyty, makrofagi, neutrofile, heterofile, eozynofile, bazofile, eozynofilowe komórki ziarniste (EGC), limfocyty B, komórki plazmatyczne, limfocyty T, komórki NK-podobne, niespecyficzne komórki cytotoksyczne (NCC, ang. nonspecific cytotoxic cells), komórki pręcikowe (ang. rodlet cells), eozynofilowe komórki workowate, komórki zawierające melaninę (melanomakrofagi i komórki melanocytopodobne), w skrzelach są określane wspólną nazwą komórek zapalnych, gdyż współuczestniczą w powstaniu reakcji zapalnej (Claver i Quaglia, 2009; Evans i in., 2001; Evans i Jaso-Friedmann, 1992; Hu i in., 2018; Huffman

i in., 1997; Koppang i in., 2015; Morrison i Odense, 1978; Reite, 2005; Reite i Evensen, 2006; Wolke, 1992; Zapata i in., 2006).

Rolę odpornościową pełnią również występujące we krwi trombocyty, mające zdolność fagocytowania drobnych cząsteczek i gruzu komórkowego. Ponadto trombocyty wykazują ekspresję MHC klasy I oraz IL1b i  $TNF\alpha$ , a ich liczba może wzrosnąć po stymulacji antygenowej. Również erytrocyty, które u większości ryb, w tym pstrąga tęczowego, są jądrzaste, biorą udział w odpowiedzi immunologicznej. Erytrocyty wystawione na działanie różnych antygenów wykazują ekspresję transkryptów mRNA receptorów rozpoznających patogen (PRR, ang. pathogen recognition receptor), a stymulacja przez kwas poliinozyno-policytydylowy (poli I:C, poli(I:C), PIC) może skutkować wydzielaniem cząsteczek modyfikujących przeciwwirusową odpowiedź makrofagów. Innym mechanizmem odpornościowym erytrocytów jest produkcja białek oddechowych, które mogą pośredniczyć w wytwarzaniu reaktywnych form tlenu po aktywacji przez proteazy drobnoustrojowe i wzorce molekularne związane z patogenami (PAMPS, ang. pathogen-associated molecular patterns) (Jiang i in., 2007; Koppang i in., 2015; Morera i in., 2011; Nombela i in., 2018, 2019; Puente-Marin i in., 2019; Tavares-Dias, 2006; Tavares-Dias i in., 2007).

#### 4. UZASADNIENIE I CELE PRACY

Pstrąg tęczowy jest głównym gatunkiem hodowlanym wśród ryb w Polsce oraz jednym z ważniejszych w Europie i na świecie. W związku zwiększającą się ludzką populacją, a w efekcie wzrostem zapotrzebowania na białko, szacuje się, że popyt na białko pochodzenia rybiego będzie rósł. Zwiększona świadomość w zakresie dobrostanu oraz warunków hodowli zwierząt doprowadziła do zmian legislacyjnych, obejmujących również zwierzęta akwakultury, które to zmiany kładą szczególny nacisk na działania profilaktyczne. Ponadto rola działań profilaktycznych jest tym bardziej istotna, że ze względu na postępujące zmiany klimatyczne oraz transmisję transgraniczną związaną z handlem globalnym, zwiększają się zasięgi występowania patogenów. Podstawowym rodzajem działania profilaktycznego w protokołach postępowania zdrowotnego gospodarstw akwakultury są kąpiele profilaktyczne. W praktyce lekarsko-weterynaryjnej dostępna jest dość ograniczona liczba substancji możliwych do zastosowania, niektóre z nich stosowane są częściej niż inne. Do takich substancji zaliczany jest chlorek sodu, który cieszy się opinią panaceum. Jednakże aby nie zaszkodzić zwierzętom i aby nie powodować nadmiernych kosztów środowiskowych związanych z utylizacją użytych substancji, kąpiel profilaktyczna powinna być dostosowana do sytuacji, przy rozważeniu wszystkich argumentów przemawiających zarówno przeciwko, jak i za jej zastosowaniem. W związku z przedstawionymi faktami, oraz brakiem w literaturze badań porównawczych, zaistniała konieczność określenia wpływu kąpiei profilaktycznych na stan zdrowia pstrąga tęczowego. Analizę w tym kierunku przeprowadzono na podstawie oceny obrazu patomorfologicznego wybranych narządów wymienionego gatunku.

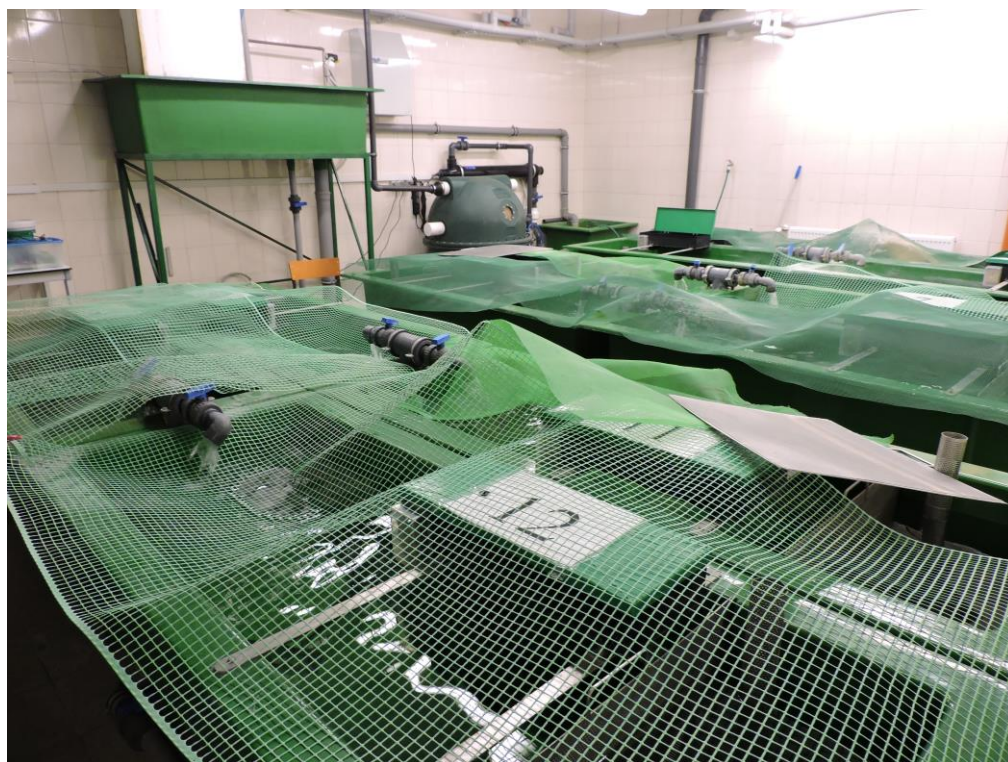
Przeprowadzone badania mają na celu:

- określenie wpływu kąpiei profilaktycznej z formaldehydem na obraz patomorfologiczny skóry i skrzelu klinicznie zdrowych ryb,
- określenie wpływu kąpiei profilaktycznej z chlorkiem sodu na obraz patomorfologiczny skóry i skrzelu klinicznie zdrowych ryb,
- określenie wpływu kąpiei profilaktycznej z siarczanem miedzi (II) na obraz patomorfologiczny skóry i skrzelu klinicznie zdrowych ryb,
- porównanie wpływu jednorazowego i wielokrotnego stosowania kąpiei profilaktycznych z chlorkiem sodu, formaldehydem i siarczanem miedzi (II) na obraz patomorfologiczny skóry i skrzelu klinicznie zdrowych ryb.

## 5. MATERIAŁY I METODY

### 5.1. Zwierzęta

W doświadczeniu wykorzystano narybek pstrąga tęczowego w wieku 0+ o średniej masie  $88,87 \pm 32,53$  g (min. 26 g, max. 246 g) i średniej całkowitej długości ciała  $20,35 \pm 2,53$  cm (min. 13 cm, max. 29,5 cm). Zwierzęta pochodziły z „Ośrodka Hodowli Pstrąga” w Kurkach, należącego do Gospodarstwa Rybackiego spółki Szwaderki. Zwierzęta po transporcie zostały umieszczone losowo w 12 basenach (baseny numerowane od 1 do 12), po  $n = 30$  osobników w każdym z basenów (Ryc. 28). Ryby adaptowane były przez 7 dni w obiegu przepływowym w „Pracowni Diagnostyki Chorób Ryb, Płazów i Gadów” Katedry Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Na 48 godzin przed rozpoczęciem doświadczenia zaprzestano podawania pokarmu. W okresie adaptacyjnym średnia temperatura wody w obiegu wynosiła  $10,2 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , pH  $8,2 \pm 0,1$ , średnie natlenienie  $8,88 \pm 0,96$  mg  $\text{O}_2$   $\text{l}^{-1}$  przy saturacji  $80,7 \pm 8,5\%$ , średnie zasolenie całkowite  $0,29 \pm 0,01$  ppt, przy średniej przewodności  $611 \pm 17$   $\mu\text{S cm}^{-2}$ .



Ryc. 28) Obieg doświadczalny.

## 5.2. Grupy doświadczalne

Zaplanowano podział pstrągów tęczowych na 12 grup doświadczalnych po  $n = 10$  osobników, w trzech powtórzeniach, co daje sumaryczną liczbę zwierząt  $n = 360$ . Poszczególne baseny zostały przydzielone do grup doświadczalnych losowo przy pomocy rzutu kością czterościenną z wykorzystaniem aplikacji „RPG Simple Dice” (<https://play.google.com/store/apps/details?id=com.ccp.rpgsimpledice&hl=pl> wersja z dn. 14. grudnia 2017 r.). Schematyczne przedstawienie rozmieszczenia grup doświadczalnych w basenach przedstawiono na Ryc. 29.

Przyjęto następujące oznaczenie literowe grup:

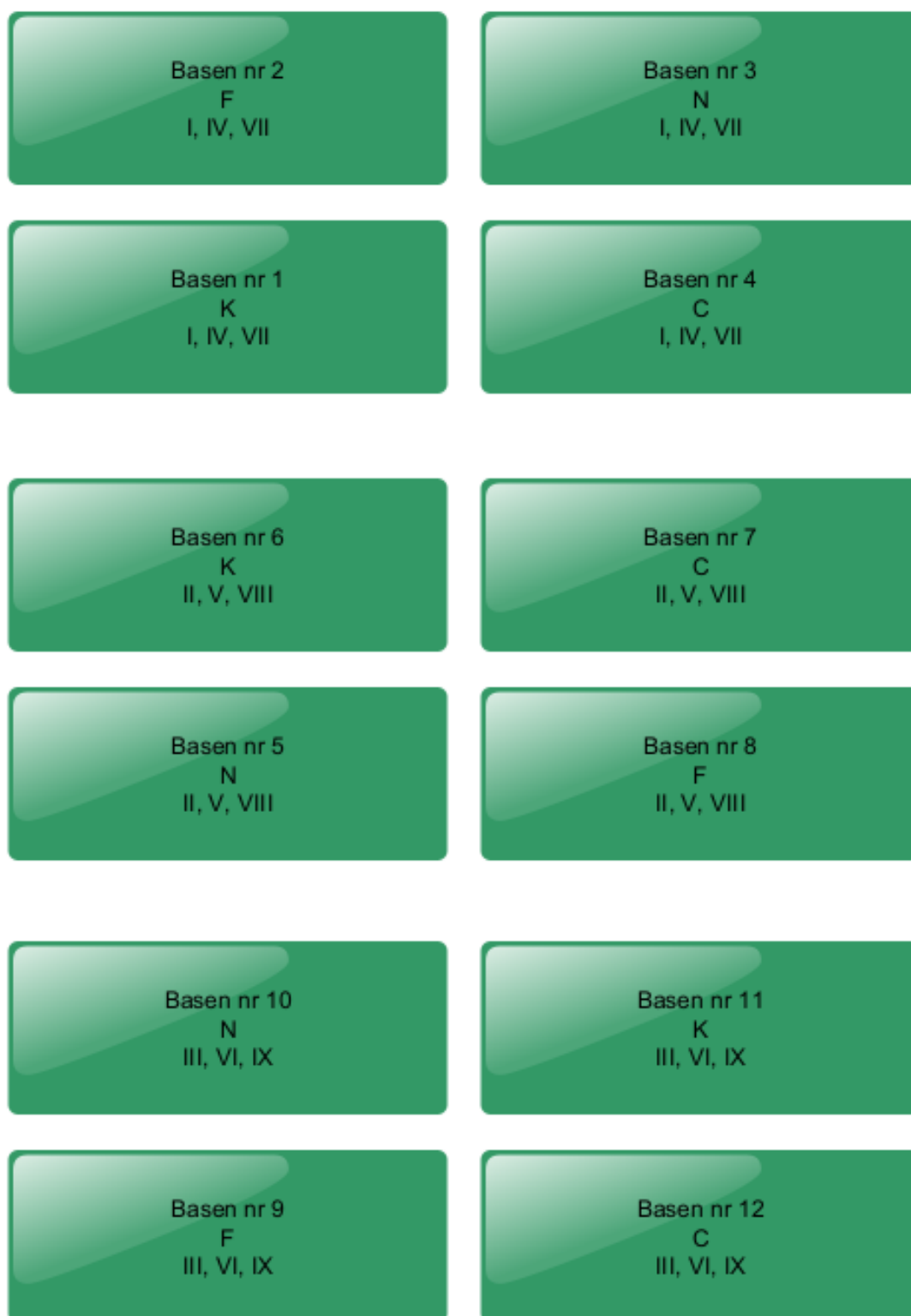
- grupa kontrolna – K,
- kąpiel z chlorkiem sodu ( $\text{NaCl}$ ) – N,
- kąpiel z formaldehydem ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) – F,
- kąpiel z siarczanem miedzi (II) ( $\text{CuSO}_4$ ) – C.

Ponadto każda grupa otrzymała oznaczenie liczbą rzymską, zależną od czasu pobrania próby:

- 0 – I, II, III,
- 24 godziny – IV, V, VI,
- 48 godzin – VII, VIII, IX.

Oznacza to, że w pojedynczym basenie wykorzystana była tylko jedna substancja i z każdego zbiornika ryby pobierano trzykrotnie, co 24 godziny. Dodatkowo czas pobrania próby odpowiada wielokrotności zastosowania badanego środka:

- 0 – jednokrotnie,
- 24 – dwukrotnie,
- 48 – trzykrotnie.

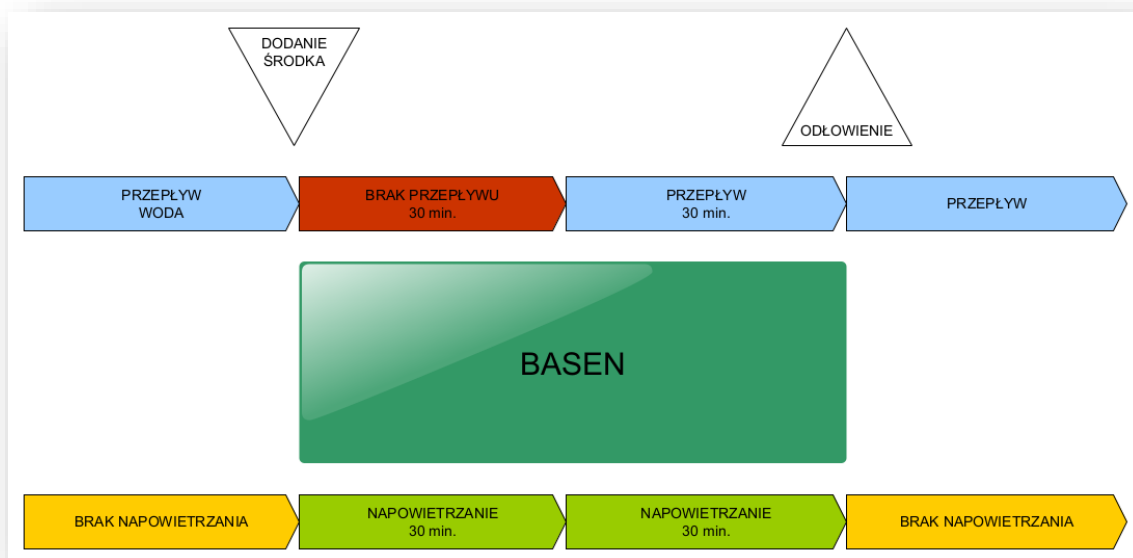


Ryc. 29) Diagram rozmieszczenia ryb w poszczególnych grupach doświadczalnych w basenach.

### 5.3. Przebieg kąpieli

Kąpiel doświadczalną przeprowadzono w basenach według następującej procedury (Ryc. 30):

- zamknięcie przepływu na 30 minut i włączenie napowietrzania,
- dodanie badanego środka i wymieszanie wody,
- włączenie przepływu na 30 minut.



Ryc. 30) Diagram procedury kąpieli.

Zastosowano dawki standardowo stosowane w praktyce rybackiej do przeprowadzania kąpieli profilaktycznych (Antychowicz, 2007; Noga, 2010; Terech-Majewska i in., 2010):

- brak dodawanego środka – K,
- dodatek NaCl  $20 \text{ kg m}^{-3}$  ( $20 \text{ g l}^{-1}$ , 20‰) – N,
- dodatek  $\text{CH}_2\text{O}$   $0,25 \text{ kg m}^{-3}$  ( $250 \text{ ml m}^{-3}$ ,  $0,25 \text{ ml l}^{-1}$ , 250 ppm) – F,
- dodatek  $\text{CuSO}_4$   $0,003 \text{ kg m}^{-3}$  ( $3 \text{ g m}^{-3}$ ,  $3 \text{ mg l}^{-1}$ , 3 ppm) – C.

Procedura zamknięcia przepływu wody na 30 minut i włączenia napowietrzania, wymieszania wody i włączenia przepływu na 30 minut została zachowana także w grupie kontrolnej. W trakcie kąpieli w piętnastominutowych odstępach monitorowano przy pomocy sondy HACH SL1000 oraz analizatora AZ 8603 podstawowe parametry wody (temperaturę, pH, zawartość tlenu, saturację tlenu, zasolenie całkowite, przewodność).



#### 5.4. Pomiary biometryczne i wskaźniki narządowe

Po zakończeniu procedury kąpieli, ryby odławiano i poddawano eutanazji przy pomocy mesylanu trikainy (metanosulfonian 3-aminobenzoesu etylu, MS-222) w dawce  $250 \text{ mg l}^{-1}$ . Mesylan trikainy jest preparatem zalecanym przez American Veterinary Medical Association do wykonywania eutanazji ryb łososiowatych oraz dopuszczonym do stosowania u ryb (Noga, 2010; Velisek i in., 2011; Żelazny i Gomułka, 2015). Ryby następnie były ważone (waga laboratoryjna RADWAG WPT 6CF) i mierzone (Ryc. 31). Każdemu zwierzęciu przypisano indywidualny kod, umożliwiającą integrację wszystkich otrzymanych wyników.



Ryc. 31) Procedura ważenia i mierzenia ryb po eutanazji.

Po pobraniu tkanek do analizy histopatologicznej ryby wytrzewiano na szalki Petriego. Przy użyciu wagi laboratoryjnej z zewnętrzną kalibracją RADWAG WPS 110/C/2 ważono całą zawartość jamy trzewnej, oraz oddzielnie wątrobę i śledzionę. Ze względu na wiek ryb, gonady u wszystkich były we wczesnej fazie rozwoju, w związku z tym masa gonad była niemierzalna i niemożliwe było ustalenie płci na

podstawie morfologii gonad. Na podstawie zebranych danych wyliczono narządowe wskaźniki kondycji. Wyliczono współczynnik kondycji  $K$ , zwany też współczynnikiem Fultona (Równanie 3), wyrażający stosunek masy ciała ( $W$ ) w gramach do długości ( $l$ , w centymetrach). Współczynnik Fultona świadczy o kondycji zwierząt i ich ogólnym stanie odżywienia. Jest powszechnie stosowany u ryb łososiowatych, a jego wartość u pstrąga tęczowego powinna być bliska jedności (Opuszyński, 1983).

Równanie 3) Wzór na współczynnik Fultona (za Opuszyński, 1983).

$$K = \frac{W \times 100}{l^3}$$

Na podstawie całkowitej masy narządów wewnętrznych wyliczono wskaźnik trzewny (Równanie 4), zwany wiscerosomatycznym  $VSI$  (ang. viscerosomatic index), wyrażający stosunek masy trzewi ( $W_V$ , w gramach) do masy ciała ( $W$ , w gramach).

Równanie 4) Wzór na wskaźnik trzewny  $VSI$  (za Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Morgan i Iwama, 1997).

$$VSI = \frac{W_V \times 100}{W}$$

Ponadto obliczono wskaźnik wątrobowy (Równanie 5), zwany hepatosomatycznym  $HSI$  (ang. hepatosomatic index), wyrażający stosunek masy wątroby ( $W_H$ , w gramach) do masy ciała ( $W$ , w gramach).

Równanie 5) Wzór na wskaźnik wątrobowy  $HSI$  (za Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Morgan i Iwama, 1997).

$$HSI = \frac{W_H \times 100}{W}$$

Obliczono też wskaźnik śledzionowy (Równanie 6), zwany splenosomatycznym  $SSI$  (ang. splenosomatic index), wyrażający stosunek masy śledziony ( $W_S$ , w gramach) do masy ciała ( $W$ , w gramach).

Równanie 6) Wzór na wskaźnik śledzionowy  $SSI$  (za Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Morgan i Iwama, 1997).

$$SSI = \frac{W_S \times 100}{W}$$

## 5.5. Pobór tkanek i obróbka histopatologiczna

W jak najkrótszym czasie od śmierci pobierano do badań histopatologicznych fragment trzeciego lewego łuku skrzelowego oraz fragment skóry na wysokości końca płetwy grzbietowej, 1 cm nad i pod linią naboczną, które umieszczano w numerowanych kasetkach histologicznych i utrwalano przez 24 godziny w roztworze Davidsona (formulacja wg Fournie i in., 2000). Jest to utrwalacz zaliczany do grupy tzw. kwaśnych utrwalaczy, będący mieszaniną formalinowo-kwasowo-alkoholową (ang. FAA, Formalin–Acid–Alcohol). Jest to roztwór dedykowany tkankom ryb, o łagodnych właściwościach odwapniających i zachowujący morfologię tkanek zdecydowanie lepiej niż buforowana formalina czy płyn Bouina (Fournie i in., 2000; Miki i in., 2018; Ulucan i in., 2019; Wolf i in., 2015). Utrwalone skrawki poddano standardowej obróbce histopatologicznej, a kolejność procesów przedstawiono na Ryc. 32.



Ryc. 32) Diagram blokowy procesu obróbki histopatologicznej skóry i skrzelu ryb.

Utrwalone tkanki trzykrotnie przepłukano w 70% roztworze alkoholu (procedura według Zawistowskiego, 1975) i poddano odwodnieniu w szeregu alkoholi od stężenia początkowego 70% z wykorzystaniem automatycznego procesora tkankowego (Leica TP102), według skróconego programu czasowego:

- alkohol 70% – 2 godziny,
- alkohol 85% – 2 godziny,
- alkohol absolutny – 2 godziny,
- ksylen + alkohol absolutny (1:1) – 2 godziny,
- ksylen – 2 godziny,
- ksylen – 2 godziny,
- ksylen – 2 godziny,
- parafina – 2 godziny,
- parafina – 2 godziny.

Po wyjęciu z procesora kasetki były umieszczane w wypełnionych płynną parafiną porcelanowych parowniczkach w cieplarni laboratoryjnej (Pol-Eko CL32) w temperaturze 60°C, a następnie zatapiane w bloczki parafinowe przy użyciu centrum do zatapiania bloczków parafinowych (Leica EG1150 H) i stolika chłodzącego (Leica EG1150 C). Każdy bloczek został zakodowany przez przydzielenie losowo pięciocyfrowego numeru identyfikacyjnego. Gotowe bloczki parafinowe mrożono w temperaturze -20°C przez 24 godziny, po czym skrajano na mikrotomie rotacyjnym (Leica RM2255) w skrawki grubości 5 µm i nanoszono na szkiełka. Następnie szkiełka umieszczano w cieplarni laboratoryjnej (Pol-Eko CL32) w temperaturze 60°C na 20 minut, po czym barwiono hematoksyliną-eozyną (HE) w programowalnym aparacie barwiącym (Leica ST5010 Autostainer XL) zgodnie z zaleceniami Bancroft i Layton (2019), przy zastosowaniu programu:

- ksylen – 5 minut,
- ksylen – 5 minut,
- ksylen – 5 minut,
- alkohol 96% - 3 minuty,
- alkohol 80% – 3 minuty,
- alkohol 50% – 3 minuty,
- woda demineralizowana – 1 minuta,
- hematoksylina – 20 minut,
- woda demineralizowana – 15 minut,
- woda demineralizowana – 15 minut,
- eozyna – 5 minut,
- woda demineralizowana – 5 minut,
- alkohol 50% – 20 sekund,
- alkohol 80% – 2 minuty,
- alkohol 96% – 3 minuty,
- aceton – 20 sekund,
- ksylen – 2 minuty,
- ksylen – 2 minuty,
- ksylen – 2 minuty.

Skrawki skóry ponadto barwiono błękitem alcjańskim z kwasem nadjodowym i odczynnikiem Schiffa (AB/PAS, ang. alcian blue/periodic acid-Schiff) według zmodyfikowanego protokołu Layton i Bancroft (2019), przy zastosowaniu programu:

- ksylen – 3 minuty,
- ksylen – 2 minuty,
- ksylen – 2 minuty,
- alkohol 96% - 2 minuty,
- alkohol 80% – 2 minuty,
- alkohol 50% – 2 minuty,
- woda demineralizowana – 2 minuty,
- błękit alcjański pH 2,5 – 10 minut,
- płukanie wodą demineralizowaną – 5 minut,
- woda demineralizowana – 1 minuta,
- kwas nadjodowy – 5 minut,
- płukanie wodą demineralizowaną – 5 minut,
- odczynnik Schiffa – 20 minut,
- płukanie wodą demineralizowaną – 10 minut,
- hematoksylina Mayera – 2 minuty,
- woda demineralizowana – 1 minuta,
- płukanie wodą demineralizowaną – 5 minut,
- alkohol 50% – 20 sekund,
- alkohol 80% – 2 minuty,
- alkohol 96% – 3 minuty,
- aceton – 20 sekund,
- ksylen – 2 minuty,
- ksylen – 2 minuty,
- ksylen – 2 minuty.

Wybarwione preparaty następnie pokrywano syntetyczną żywicą niepolarną (DPX, Sigma-Aldrich) i nakrywano szkiełkami nakrywkowymi. Wszystkim preparatom przypisano losowy, pięciocyfrowy kod.

## 5.6. Ocena preparatów

Przed dokonaniem oceny preparatów, wykalibrowano ustawienia programu NIS-Elements Br (Nikon) dla poszczególnych powiększeń obiektywów, które przedstawia Tab. 5.

Tab. 5) Ustawienia programu NIS-Elements Br dla poszczególnych powiększeń obiektywu.

Narzędzie	Powiększenie obiektywu	Czas naświetlania [ms]	Czułość matrycy	Balans bieli					Współczynnik Y
				Czerwony <i>R</i>	Zielony <i>G</i>	Niebieski <i>B</i>	Wartość czerni	Wartość bieli	
Skóra	4 x	3	1	1,79	1,00	1,17	55	230	1
	10 x	4	1	1,76	1,00	1,18	25	235	1
	20 x	8	1	1,77	1,00	1,20	40	255	1
	40 x	20	1	1,85	1,00	1,16	10	255	1
Skrzela	4 x	2	1	1,83	1,00	1,18	65	215	1
	10 x	4	1	1,80	1,00	1,19	60	240	1
	20 x	8	1	1,77	1,00	1,20	120	250	1
	40 x	15	1	1,83	1,00	1,15	20	235	1

Gotowe preparaty analizowano i oceniano przy użyciu mikroskopu świetlnego (Nikon Eclipse 80i) według metody półilościowej wg Bernet i in., 1999. Ocenie poddano najpierw zakodowane skrawki z grup kontrolnych, aby wyznaczyć wzorzec normy. Następnie wymieszano je z pozostałymi zakodowanymi skrawkami i oceniono „na ślepo” wszystkie skrawki. W ten sposób zwiększono obiektywność badania, a podwójna analiza preparatów z grupy kontrolnej wykazała powtarzalność oceny.

Półilościowa metoda oceny wg Bernet i in., 1999, polega na przypisaniu każdej obserwowanej zmiany histopatologicznej do odpowiedniego wzorca reakcji, a następnie określenia jej wskaźnika istotności oraz dokonania oceny stopnia nasilenia zmiany i rozmieszczenia jej w preparacie. Spis możliwych zmian histopatologicznych występujących w skórze, zebrano w Tab. 6, z kolei zmian występujących w skrzelach – w Tab. 7. Dodatkowo podkreśleniem zaznaczono zmiany morfologiczne, które mają istotne znaczenie diagnostyczne, ale wpisują się w poszczególne wzorce reakcji tkanki. Ze względu na przedstawiony fakt, dla tych zmian przeprowadzona jest wyłącznie ocena punktowa i nie wchodzi one w skład wyliczanych współczynników.



Wzorzec reakcji  $r_p$  określa, jaki charakter patomorfologiczny ma dana zmiana i wyróżnia:

- zaburzenia krążenia (indeks  $c$ , ang. circulatory disturbances),
- zmiany wsteczne (indeks  $r$ , ang. regressive changes),
- zmiany postępowe (indeks  $p$ , ang. progressive changes),
- zmiany zapalne (indeks  $i$ , ang. inflammation),
- zmiany nowotworowe (indeks  $t$ , ang. tumour).

Wskaźnik istotności zmiany  $w_{org\ r_p\ alt}$  (gdzie  $org$  to oceniany narząd,  $r_p$  to wzorzec reakcji, a  $alt$  to oceniana zmiana) odzwierciedla znaczenie danej zmiany dla funkcjonowania tkanki. Dla danego rodzaju zmiany jest stały i przyjmuje wartość od 1 do 3:

- 1 – minimalne znaczenie patologiczne; zmiana w pełni odwracalna, jeżeli czynnik wywołujący ustąpi;
- 2 – umiarkowane znaczenie patologiczne; zmiana w większości przypadków odwracalna, jeżeli czynnik wywołujący ustąpi;
- 3 – znaczna istotność patologiczna; zmiana jest praktycznie nieodwracalna, prowadzi do całkowitej lub częściowej utraty funkcjonalności przez narząd.

Ocena punktowa  $a_{org\ r_p\ alt}$  uwzględnia nasilenie i rozmieszczenie zmiany w preparacie, przyznawana jest przez oceniającego w skali od 0 do 6:

- 0 – brak,
- 2 – łagodne,
- 4 – umiarkowane,
- 6 – intensywne.

Na wyniki oceny punktowej dodatkowo nałożono mapę cieplną, wykorzystującą automatycznie generowaną skalę kolorystyczną typu YlOrRd dla 7 odcieni ([http://soliton.vm.bytemark.co.uk/pub/cpt-city/cb/seq/tn/YlOrRd\\_07.png.index.html](http://soliton.vm.bytemark.co.uk/pub/cpt-city/cb/seq/tn/YlOrRd_07.png.index.html), dostęp 14. lutego 2021 r.). Im wyższa ocena punktowa, tym intensywniejszy kolor tła.

Po uzupełnieniu tabeli dla każdego preparatu możliwe jest obliczenie poszczególnych współczynników wzorców reakcji, współczynnika reakcji narządu, całkowitych współczynników wzorców reakcji, oraz całkowitego współczynnika reakcji.

Tab. 6) Półilościowa ocena zmian występujących w skórze (za Bernet i in., 1999).

Wzorzec reakcji	Jednostka funkcjonalna tkanki	Zmiana	Wskaźnik istotności	Ocena punktowa	Współczynnik wzorca reakcji
<i>Zaburzenia krążenia</i>		Krwotok/ przekrwienie/ tętniak	$W_{SC1} = 1$	$\alpha_{SC1}$	$I_{SC}$
		Obrzęk	$W_{SC2} = 1$	$\alpha_{SC2}$	
<i>Zmiany wsteczne</i>	Nabłonek	Zmiany strukturalne	$W_{SR1} = 1$	$\alpha_{SR1}$	$I_{SR}$
		Zmiany w cytoplazmie	$W_{SR2} = 1$	$\alpha_{SR2}$	
		Gromadzenie substancji	$W_{SR3} = 1$	$\alpha_{SR3}$	
		Zmiany w jądrach komórkowych	$W_{SR4} = 2$	$\alpha_{SR4}$	
		Zanik	$W_{SR5} = 2$	$\alpha_{SR5}$	
		Martwica	$W_{SR6} = 3$	$\alpha_{SR6}$	
	Błona podstawna	Uszkodzenia	$W_{SR7} = 2$	$\alpha_{SR7}$	
	Tkanka podporowa	Zmiany strukturalne	$W_{SR8} = 1$	$\alpha_{SR8}$	
		Zmiany w cytoplazmie	$W_{SR9} = 1$	$\alpha_{SR9}$	
		Gromadzenie substancji	$W_{SR10} = 1$	$\alpha_{SR10}$	
		Zmiany w jądrach komórkowych	$W_{SR11} = 2$	$\alpha_{SR11}$	
		Zanik	$W_{SR12} = 2$	$\alpha_{SR12}$	
		Martwica	$W_{SR13} = 3$	$\alpha_{SR13}$	
<i>Zmiany postępowe</i>	Nabłonek	Przerost	$W_{SP1} = 1$	$\alpha_{SP1}$	$I_{SP}$
		Rozrost	$W_{SP2} = 2$	$\alpha_{SP2}$	
		<u>Rozrost komórek śluzowych</u>			
	Tkanka podporowa	Przerost	$W_{SP3} = 1$	$\alpha_{SP3}$	
<i>Zmiany zapalne</i>		Rozrost	$W_{SP4} = 2$	$\alpha_{SP4}$	
		Wysięk	$W_{SI1} = 1$	$\alpha_{SI1}$	$I_{SI}$
		Aktywacja układu fagocytarnego	$W_{SI2} = 1$	$\alpha_{SI2}$	
<i>Zmiany nowotworowe</i>		Naciek zapalny	$W_{SI3} = 2$	$\alpha_{SI3}$	
		Nowotwór łagodny	$W_{ST1} = 2$	$\alpha_{ST1}$	$I_{ST}$
		Nowotwór złośliwy	$W_{ST3} = 3$	$\alpha_{ST3}$	
					$I_{\Sigma}$

Tab. 7) Półilościowa ocena zmian występujących w skrzelach (za Bernet i in., 1999).

Wzorzec reakcji	Jednostka funkcjonalna tkanki	Zmiana	Wskaźnik istotności	Ocena punktowa	Współczynnik wzorca reakcji
<i>Zaburzenia krążenia</i>		Krwotok/ przekrwienie/ tętniak	$W_{GC1} = 1$	$a_{GC1}$	$I_{GC}$
		Przesięk	$W_{GC2} = 1$	$a_{GC2}$	
<i>Zmiany wsteczne</i>	Nabłonek	Zmiany strukturalne	$W_{GR1} = 1$	$a_{GR1}$	$I_{GR}$
		Zmiany w cytoplazmie	$W_{GR2} = 1$	$a_{GR2}$	
		Gromadzenie substancji	$W_{GR3} = 1$	$a_{GR3}$	
		Zmiany w jądrach komórkowych	$W_{GR4} = 2$	$a_{GR4}$	
		Zanik	$W_{GR5} = 2$	$a_{GR5}$	
		Martwica	$W_{GR6} = 3$	$a_{GR6}$	
		<u>Uszkodzenie komórek podporowych</u>			
	Tkanka podporowa	Zmiany strukturalne	$W_{GR7} = 1$	$a_{GR7}$	
		Zmiany w cytoplazmie	$W_{GR8} = 1$	$a_{GR8}$	
		Gromadzenie substancji	$W_{GR9} = 1$	$a_{GR9}$	
<i>Zmiany postępowe</i>		Zmiany w jądrach komórkowych	$W_{GR10} = 2$	$a_{GR10}$	
		Zanik	$W_{GR11} = 2$	$a_{GR11}$	
		Martwica	$W_{GR12} = 3$	$a_{GR12}$	
	Nabłonek	Przerost	$W_{GP1} = 1$	$a_{GP1}$	$I_{GP}$
		Rozrost	$W_{GP2} = 2$	$a_{GP2}$	
	Tkanka podporowa	Przerost	$W_{GP3} = 1$	$a_{GP3}$	
		Rozrost	$W_{GP4} = 2$	$a_{GP4}$	
	<i>Zmiany zapalne</i>	Wysięk	$W_{GI1} = 1$	$a_{GI1}$	$I_{GI}$
		Aktywacja układu fagocytarnego	$W_{GI2} = 1$	$a_{GI2}$	
		Naciek zapalny	$W_{GI3} = 2$	$a_{GI3}$	
<i>Zmiany nowotworowe</i>		Nowotwór łagodny	$W_{GT1} = 2$	$a_{GT1}$	$I_{GT}$
		Nowotwór złośliwy	$W_{GT3} = 3$	$a_{GT3}$	
					$I_{G\Sigma}$

Współczynnik wzorca reakcji  $I_{org,rp}$  jest sumą iloczynów wskaźnika istotności i oceny punktowej poszczególnych zmian w obrębie danego wzorca reakcji (Równanie 7). Oznacza się go w indeksie dolnym nazwą badanego narządu (w skórze przyjmuje oznaczenie  $s$  od pierwszej litery ang. skin czyli skóra, a w skrzelach  $G$  od ang. gills czyli skrzel) i odpowiednią nazwą danego wzorca reakcji  $rp$ .

Równanie 7) Współczynnik wzorca reakcji (za Bernet i in., 1999).

$$I_{org,rp} = \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

gdzie  $org$  = narząd (const.);  $rp$  = wzorzec reakcji;  $alt$  = zmiana;  $a$  = ocena punktowa;  $w$  = wskaźnik istotności.

Suma wszystkich współczynników wzorców reakcji w jednym narządzie jest równa współczynnikowi reakcji narządu  $I_{org}$ , a sposób jego obliczania przedstawia (Równanie 8):

Równanie 8) Współczynnik reakcji narządu (za Bernet i in., 1999).

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

gdzie  $org$  = narząd (const.);  $rp$  = wzorzec reakcji;  $alt$  = zmiana;  $a$  = ocena punktowa;  $w$  = wskaźnik istotności.

Współczynnik reakcji narządu  $I_{org}$  odzwierciedla stopień zniszczenia danego narządu. Jest sumą iloczynów wskaźników istotności i ocen punktowych wszystkich zmian obserwowanych w danym narządzie. Wysoka wartość współczynnika  $I_{org}$  świadczy o znacznym uszkodzeniu narządu, a jej obliczenie umożliwia porównanie stopnia uszkodzenia danego narządu pomiędzy poszczególnymi osobnikami. Współczynnik reakcji narządu dla skóry przyjmuje oznaczenie  $I_{s\Sigma}$ , a dla skrzel przyjmuje oznaczenie  $I_{G\Sigma}$ .

W przypadku oceny więcej niż jednego narządu możliwe jest również obliczenie całkowitego współczynnika danego wzorca reakcji  $I_{rp}$  (Równanie 9). Współczynnik ten przedstawia rodzaj zmian histologicznych we wszystkich badanych narządach pojedynczej ryby. Stanowi sumę odpowiednich współczynników wzorców reakcji

wszystkich badanych organów ryby. Korzystanie z tego współczynnika umożliwia porównanie różnych osobników.

Równanie 9) Całociowy współczynnik wzorca reakcji (za Bernet i in., 1999).

$$I_{rp} = \sum_{org} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

gdzie org = narząd (const.); rp = wzorzec reakcji; alt = zmiana; a = ocena punktowa; w = wskaźnik istotności.

Ponadto w sytuacji oceniania więcej niż jednego narządu możliwe jest obliczenie całociowego współczynnika oceny histologicznej Tot I (Równanie 10). Stanowi on miarę ogólnego stanu zdrowia w oparciu o zmiany histologiczne. Oblicza się go przez zsumowanie wszystkich współczynników reakcji narządów pojedynczej ryby. W związku z faktem, że całociowy współczynnik oceny histologicznej jest obliczany w ten sam sposób dla każdej ryby, to również umożliwia porównanie stanu zdrowia między badanymi osobnikami.

Równanie 10) Całociowy współczynnik oceny histologicznej (za Bernet i in., 1999).

$$Tot\ I = \sum_{org} \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

gdzie org = narząd (const.); rp = wzorzec reakcji; alt = zmiana; a = ocena punktowa; w = wskaźnik istotności.

## 5.7. Analizy statystyczne

Analizy statystyczne przeprowadzono w programie Statistica 13.3 (StatSoft Polska Sp. z o.o. 2021). Parametry wody odnotowywane w trakcie trwania doświadczenia przeanalizowano korzystając z testu Shapiro-Wilka i testu Levene'a, którymi wykazano odpowiednio brak normalności rozkładu i jednorodności wariancji. Porównania statystyczne parametrów wody przeprowadzono wykorzystując nieparametryczny test analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, a w przypadkach stwierdzenia istotności statystycznej, przeprowadzono dalszą analizę statystyczną przy użyciu testu *post-hoc* porównań wielokrotnych Dunna, w celu znalezienia dokładnych różnic pomiędzy parametrami wody w badanych grupach. Założono poziom istotności testów  $\alpha = 0,05$ . Wzajemne powiązania pomiędzy zasoleniem i przewodnością, oraz natlenieniem i saturacją obliczono na podstawie korelacji liniowej prostej ( $r$  Pearsona), założono poziom istotności testów  $\alpha = 0,05$ .

W przypadku pomiarów biometrycznych i wskaźników narządowych obliczono podstawowe statystyki opisowe. Wskaźniki narządowe z założenia należą do cech jakościowych; w związku z czym do porównań statystycznych ryb w badanych grupach wykorzystano nieparametryczny test analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Założono poziom istotności testów  $\alpha = 0,05$ .

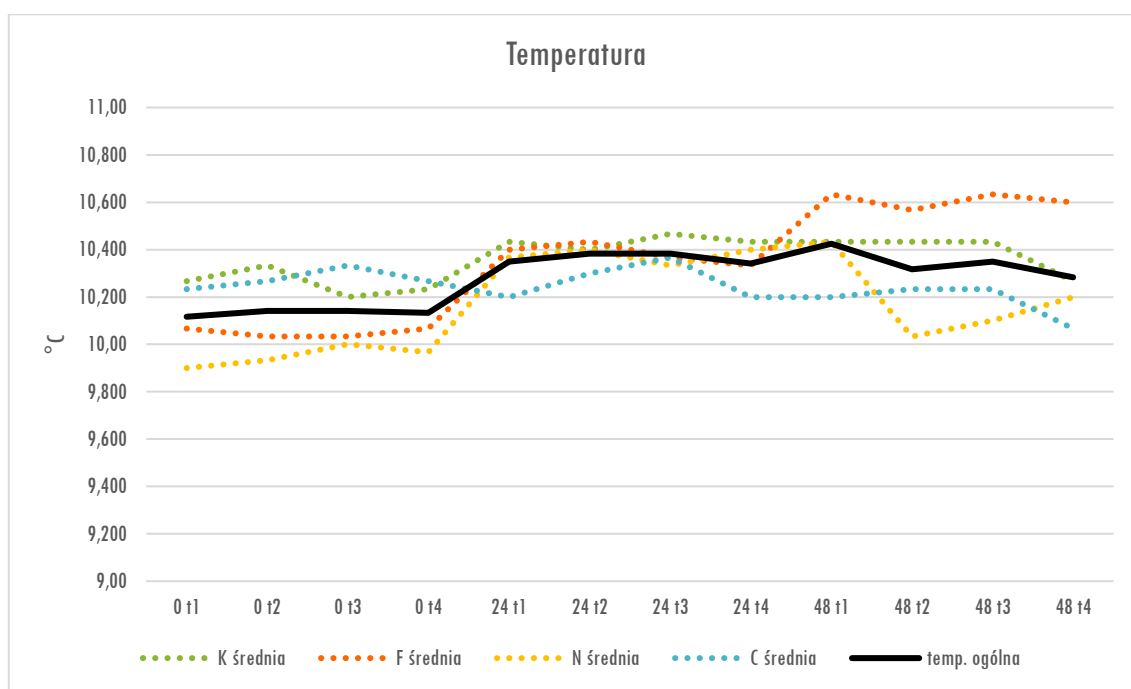
Dane uzyskane na podstawie oceny histopatologicznej wg Bernet i in. (1999), z założenia należą do cech jakościowych; testem Shapiro-Wilka i testem Levene'a potwierdzono odpowiednio brak normalności rozkładu i jednorodności wariancji. Porównania statystyczne współczynników wzorców reakcji  $I_{org,rp}$ , całkowitych współczynników danego wzorca reakcji  $I_{rp}$ , współczynników reakcji narządu  $I_{org}$ , oraz całościowego współczynnika oceny histologicznej Tot I przeprowadzono wykorzystując nieparametryczny test analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, a w przypadkach stwierdzenia istotności statystycznej, przeprowadzono dalszą analizę statystyczną przy użyciu testu *post-hoc* porównań wielokrotnych Dunna, w celu znalezienia dokładnych różnic pomiędzy pstrągami tęczowymi w badanych grupach. Założono poziom istotności testów  $\alpha = 0,05$ .



## 6. WYNIKI

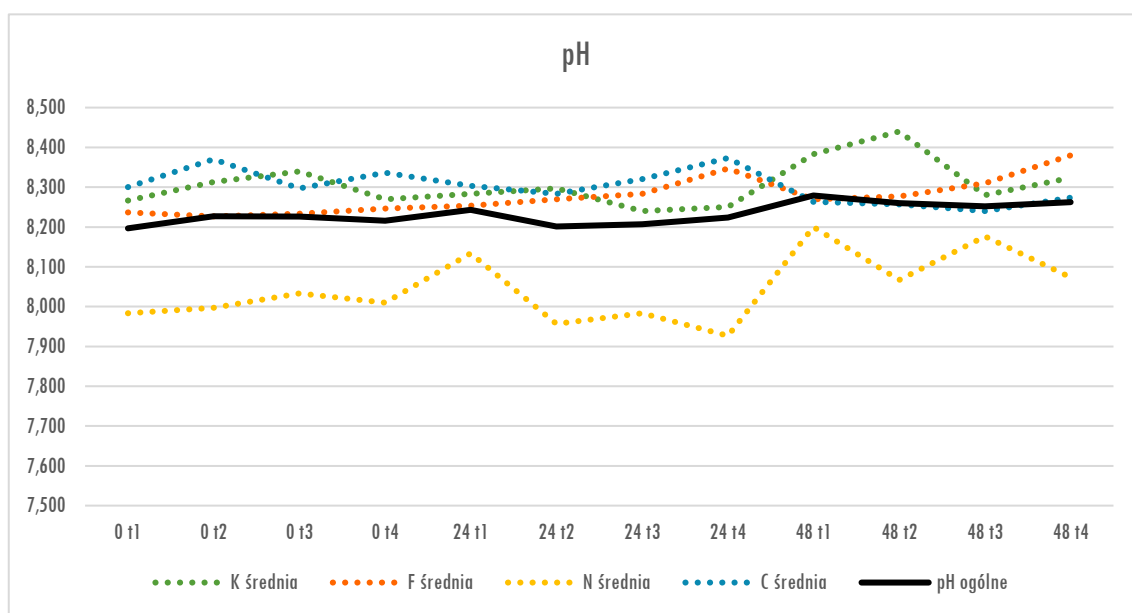
### 6.1. Parametry wody w trakcie doświadczenia

Podstawowe parametry wody monitorowano w trakcie kąpieli w piętnastominutowych odstępach, oznaczonych na Ryc. 33-38 czasem pobrania próby (0, 24, 48) i wyróżnikiem t1-t4. Średnie zmiany temperatury wody w trakcie trwania doświadczenia przedstawiono na Ryc. 33. Zaobserwowano nieznaczny wzrost uśrednionej temperatury, jednakże nie był on istotny statystycznie:  $H(df = 3, N = 48) = 9,16, p = 0,03$ .



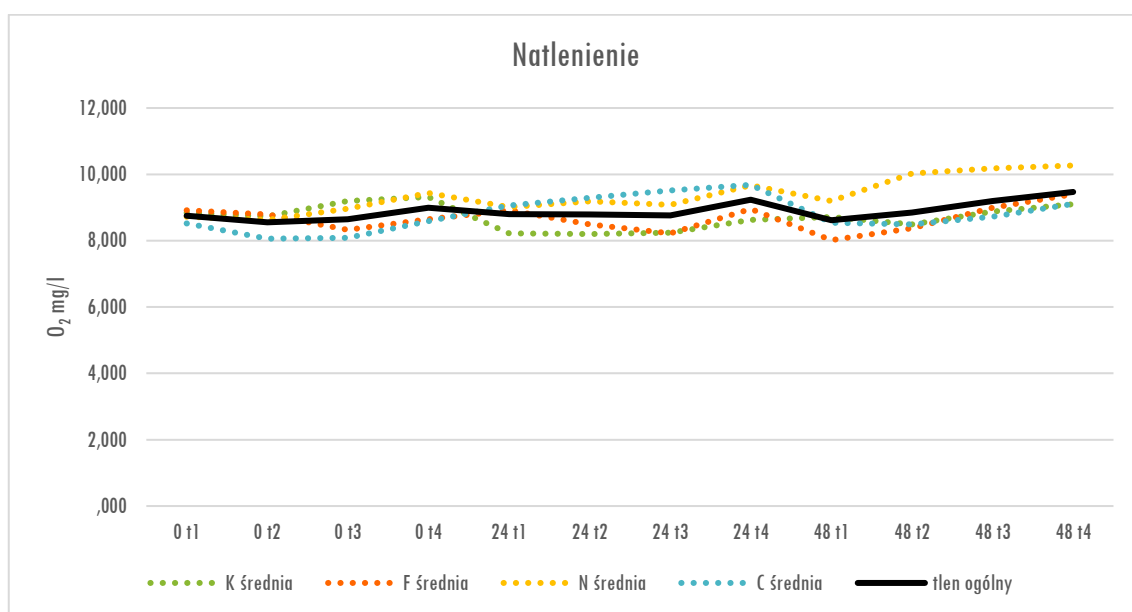
Ryc. 33) Wykres zmian temperatury wody w trakcie trwania doświadczenia.

Średnie wahania pH wody w trakcie trwania doświadczenia przedstawiono na Ryc. 34. Zaobserwowano nieznaczny wzrost uśrednionego pH. Pomędzy grupami kontrolnymi, grupami z kąpielą z dodatkiem formaldehydu i grupami z dodatkiem siarczanu miedzi (II) nie wykazano istotnych statystycznie różnic, ale średnie pH w grupie z dodatkiem NaCl było istotnie niższe niż w pozostałych grupach,  $H(df = 3, N = 48) = 28,16, p = 0,00001$ .



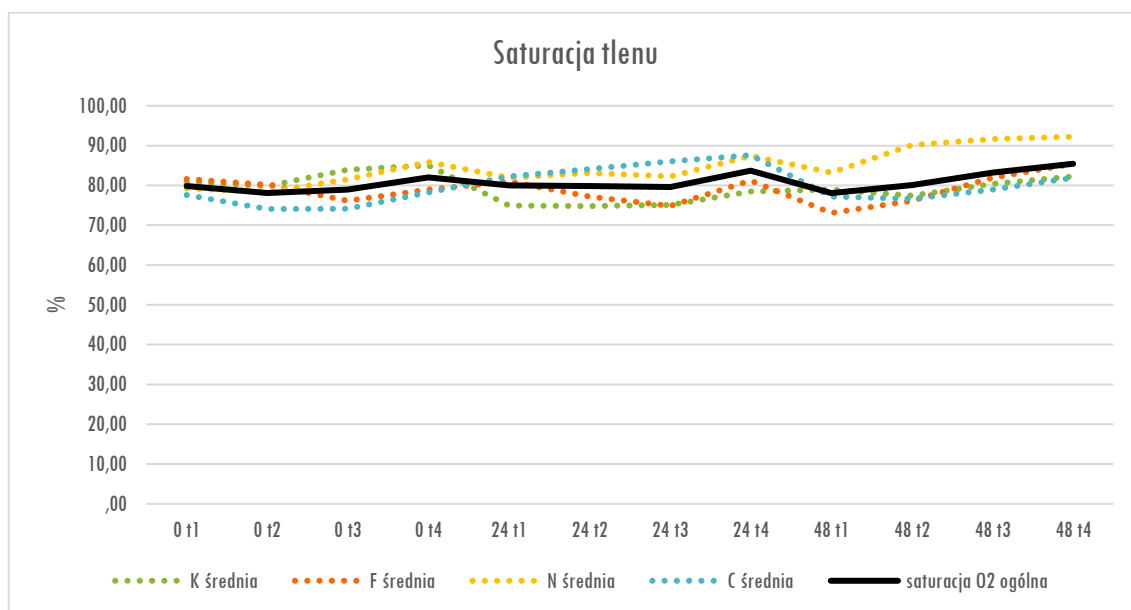
Ryc. 34) Wykres zmian pH wody w trakcie trwania doświadczenia.

Średnie natlenienie wody wyrażone w  $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$  w trakcie trwania doświadczenia przedstawiono na Ryc. 35. Zaobserwowano nieznaczny wzrost uśrednionego natlenienia. Pomiędzy grupami kontrolnymi, grupami z kąpielą z dodatkiem formaldehydu i grupami z dodatkiem siarczanu miedzi (II) nie wykazano istotnych statystycznie różnic, średnie pH w grupie z dodatkiem NaCl było istotnie wyższe niż w pozostałych grupach:  $H (df = 3, N = 48) = 11,04, p = 0,012$ .



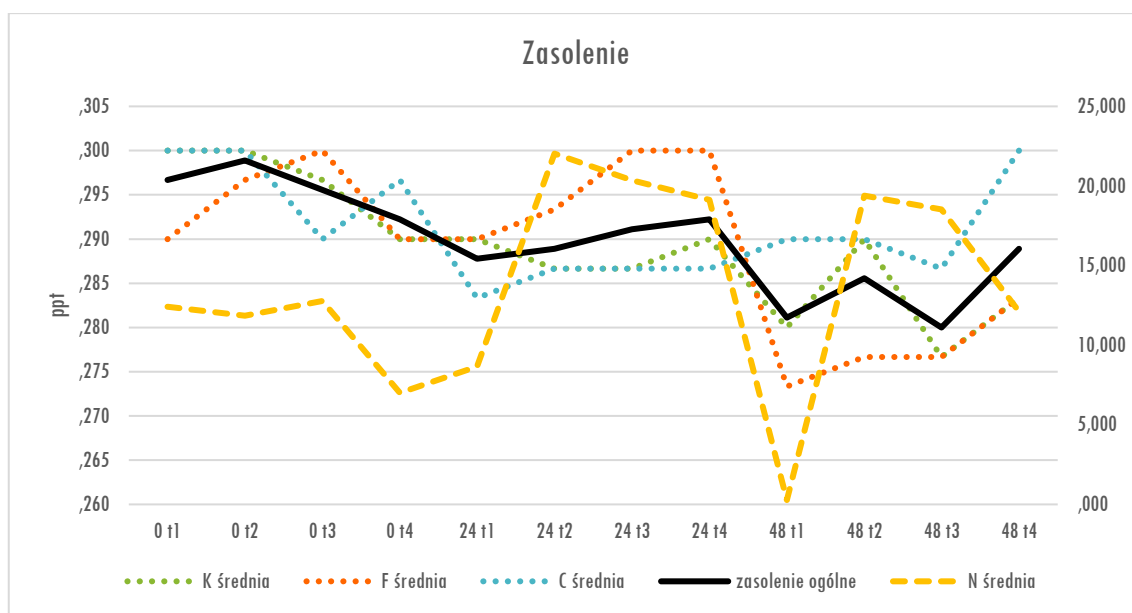
Ryc. 35) Wykres zmian natlenienia wody w trakcie trwania doświadczenia.

Średnia saturacja wody tlenem wyrażona w % w trakcie trwania doświadczenia została przedstawiona na Ryc. 36. Zaobserwowano nieznaczny wzrost uśrednionej saturacji, korelujący z natlenieniem ( $N = 48$ ,  $r = 0,99$ ,  $p = 0,001$ ). Pomiędzy grupami kontrolnymi, grupami z kąpielą z dodatkiem formaldehydu i grupami z dodatkiem siarczanu miedzi (II) nie wykazano istotnych statystycznie różnic, średnia saturacja w grupie z NaCl była istotnie wyższa jedynie od grup z dodatkiem formaldehydu:  $H(df = 3, N = 48) = 10,74$ ,  $p = 0,013$ .



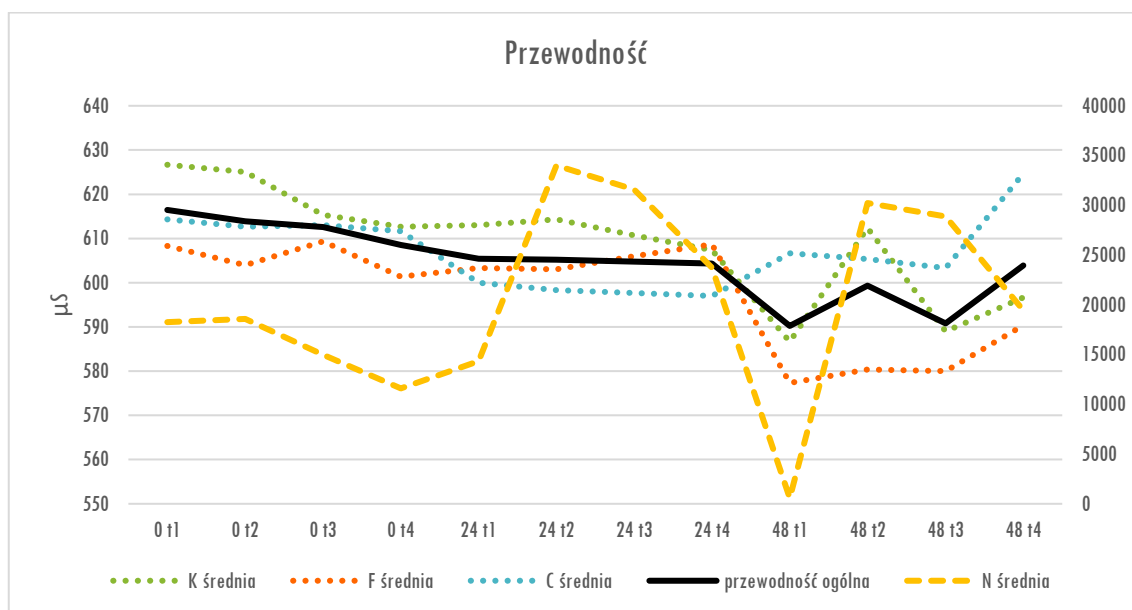
Ryc. 36) Wykres zmian saturacji wody tlenem w trakcie trwania doświadczenia.

Średnie zasolenie ogólne wody wyrażone w ppt w trakcie trwania doświadczenia zostało przedstawione na Ryc. 37. Dla grupy z dodatkiem NaCl zastosowano dodatkową prawą skalę Y. Zaobserwowano nieznaczny spadek uśrednionego zasolenia. Pomiędzy grupami kontrolnymi, grupami z kąpielą z dodatkiem formaldehydu i grupami z dodatkiem siarczanu miedzi (II) nie wykazano istotnych statystycznie różnic. Ze względu na dodatek NaCl średnie zasolenie wody w grupie z NaCl było znacząco wyższe niż w pozostałych grupach:  $H(df = 3, N = 48) = 18,94$ ,  $p = 0,0003$ .



Ryc. 37) Wykres zmian zasolenia wody w trakcie trwania doświadczenia.

Średnia przewodność wody wyrażona w  $\mu\text{S cm}^{-2}$  w trakcie trwania doświadczenia została przedstawiona na Ryc. 38. Dla grupy z dodatkiem NaCl zastosowano dodatkową prawą skalę Y. Przewodność zgodnie z oczekiwaniami korelowała z zasoleniem ( $N = 48$ ,  $r = 0,99$ ,  $p = 0,001$ ). Zaobserwowano nieznaczny spadek uśrednionej przewodności. Pomiędzy grupami kontrolnymi, grupami z kąpielą z dodatkiem formaldehydu i grupami z dodatkiem siarczanu miedzi (II) nie wykazano istotnych statystycznie różnic. Ze względu na dodatek NaCl średnia przewodność w grupie z NaCl była znacząco wyższa niż w pozostałych grupach:  $H(df = 3, N = 48) = 22,19$ ,  $p = 0,0001$ .



Ryc. 38) Wykres zmian przewodności wody w trakcie trwania doświadczenia.

## 6.2. Pomiary biometryczne i wskaźniki narządowe

Średnia masa badanych ryb wynosiła  $88,87 \pm 32,53$  g, a współczynnik zmienności CV wyniósł 36,51%. Szczegółowe dane z podziałem na grupy przedstawia Tab. 8.

Tab. 8) Statystyki opisowe masy badanych ryb z podziałem na grupy.

CZAS	GRUPA	K	F	N	C
0	Średnia	92,17	75,40	83,87	92,73
	Minimum	32,00	26,00	26,00	42,00
	Maksimum	166,00	154,00	168,00	158,00
	Odchylenie standardowe	33,77	33,83	31,87	25,57
24	Średnia	93,40	92,67	84,60	77,80
	Minimum	46,00	46,00	42,00	50,00
	Maksimum	134,00	152,00	150,00	146,00
	Odchylenie standardowe	23,40	31,12	29,18	20,60
48	Średnia	99,47	98,07	88,53	87,73
	Minimum	30,00	38,00	40,00	42,00
	Maksimum	246,00	180,00	148,00	152,00
	Odchylenie standardowe	47,71	39,48	27,71	33,54

Średnia długość badanych ryb wynosiła  $20,35 \pm 2,53$  cm, a współczynnik zmienności CV wyniósł 12,45%. Szczegółowe dane z podziałem na grupy przedstawia Tab. 9.

Tab. 9) Statystyki opisowe długości badanych ryb z podziałem na grupy.

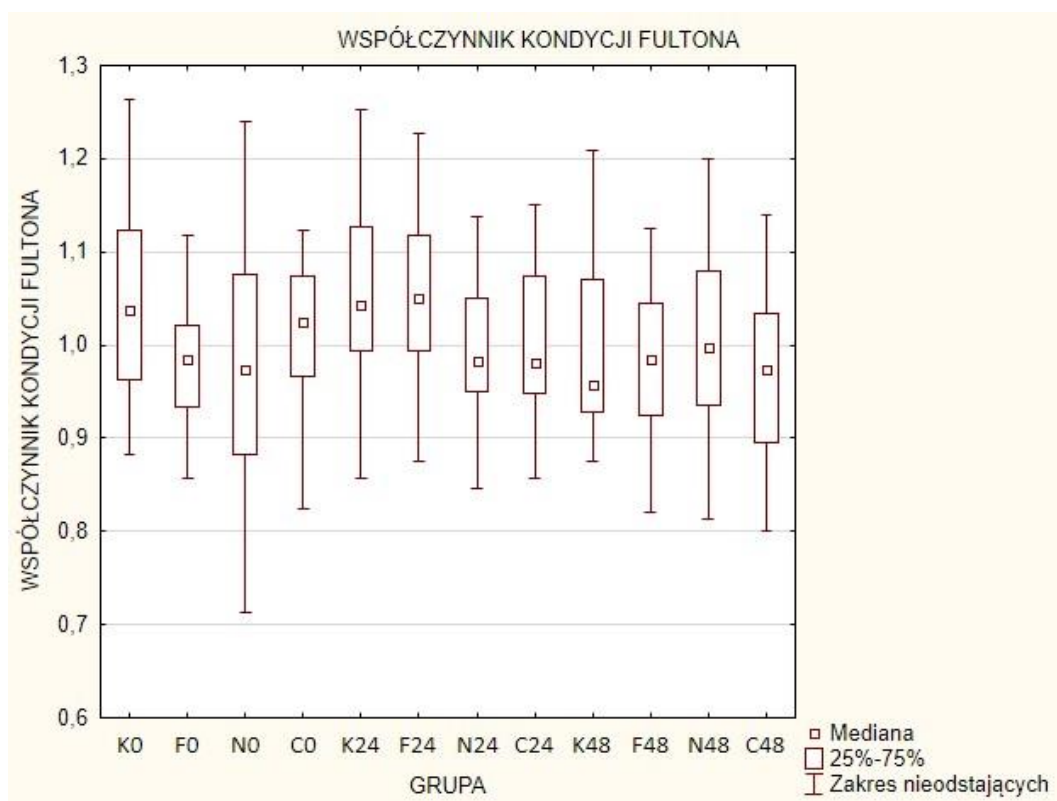
CZAS	GRUPA	K	F	N	C
0	Średnia	20,3	19,3	20,2	20,8
	Minimum	14,0	13,0	14,5	16,0
	Maksimum	25,5	25,0	25,0	24,5
	Odchylenie standardowe	2,7	2,8	2,5	1,9
24	Średnia	20,4	20,4	20,2	19,6
	Minimum	15,0	15,0	16,0	15,0
	Maksimum	25,0	24,5	24,0	24,5
	Odchylenie standardowe	2,2	2,4	2,1	1,9
48	Średnia	21,1	21,1	20,4	20,5
	Minimum	14,0	15,0	17,0	17,0
	Maksimum	29,5	26,0	24,5	26,0
	Odchylenie standardowe	3,4	3,2	2,1	2,6

Mediana współczynnika kondycji Fultona badanych pstrągów tęczowych wynosiła 0,998, a współczynnik zmienności CV = 13,19%. Szczegółowe dane z podziałem na grupy przedstawia Ryc. 39. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami:  $H(df = 11, N = 360) = 33,028, p = 0,08$ .

Mediana współczynnika wiscerosomatycznego badanych pstrągów tęczowych wynosiła 9,50, a współczynnik zmienności CV = 14,15%. Szczegółowe dane z podziałem na grupy przedstawia Ryc. 40. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami:  $H(df = 11, N = 360) = 21,443, p = 0,29$ .

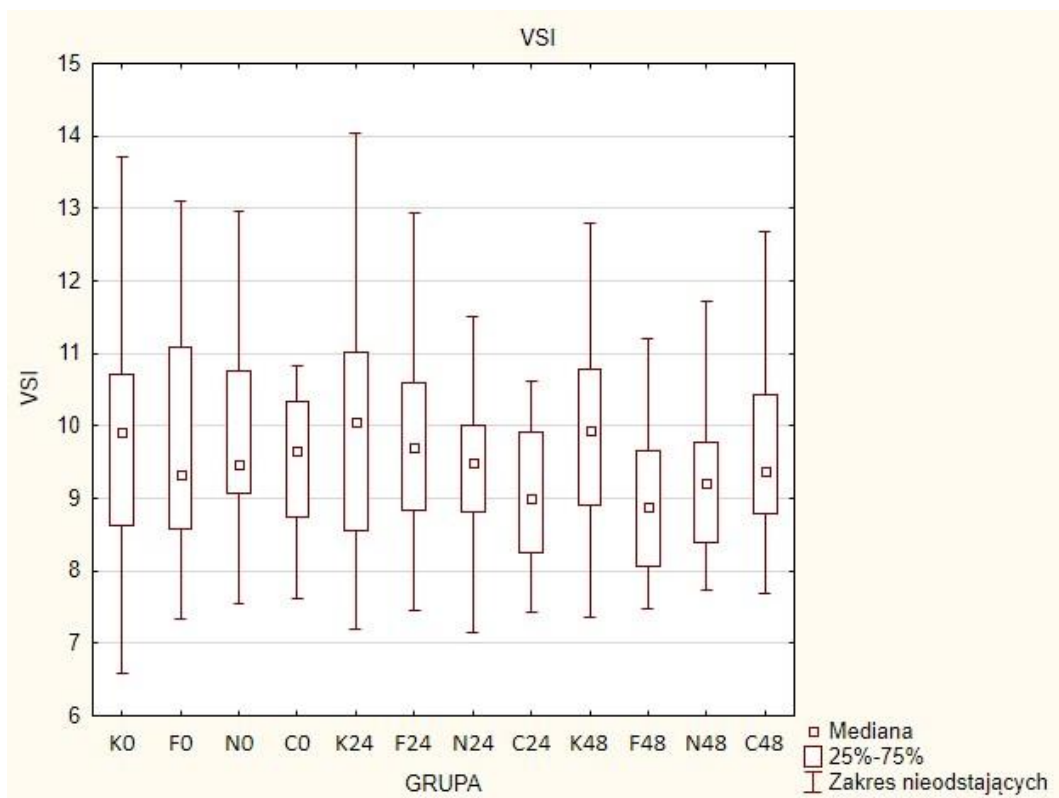
Mediana współczynnika hepatosomatycznego badanych pstrągów tęczowych wynosiła 1,43, a współczynnik zmienności CV = 21,31%. Szczegółowe dane z podziałem na grupy przedstawia Ryc. 41. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami:  $H(df = 11, N = 360) = 6,86, p = 0,81$ .

Mediana współczynnika splenosomatycznego badanych pstrągów tęczowych wynosiła 0,16, a współczynnik zmienności CV = 47,95%. Szczegółowe dane z podziałem na grupy przedstawia Ryc. 42. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami:  $H(df = 11, N = 360) = 10,19, p = 0,51$ .

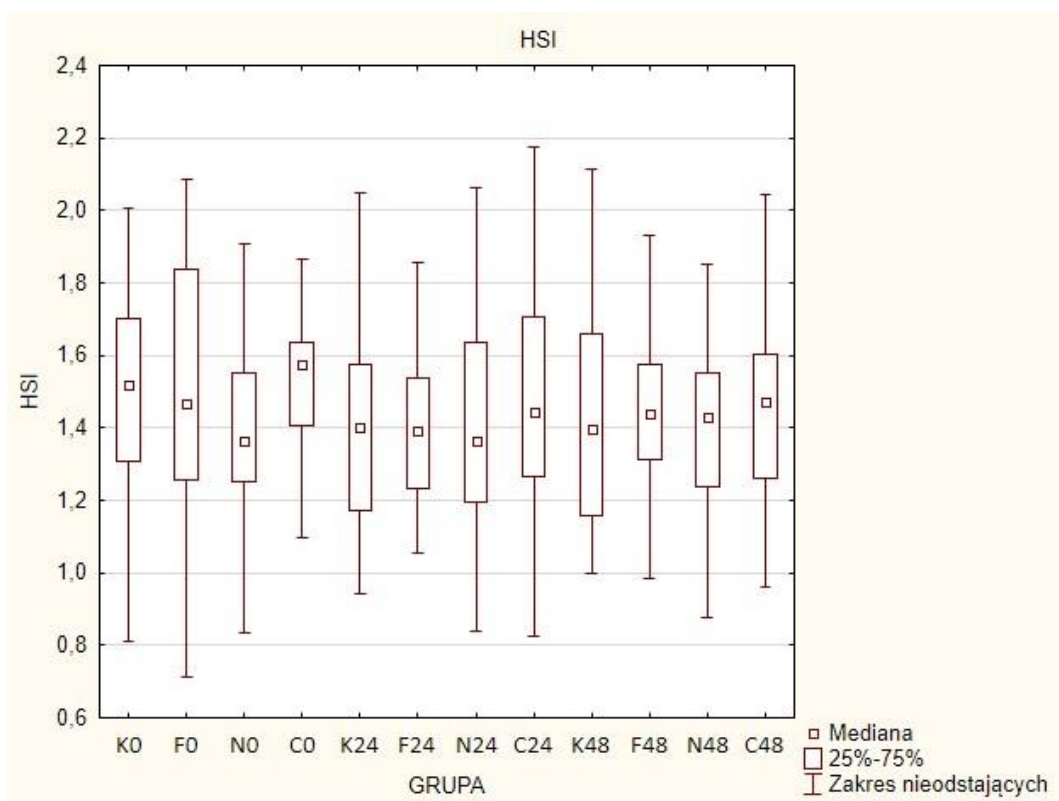


Ryc. 39) Współczynnik kondycji Fultona badanych ryb z podziałem na grupy.

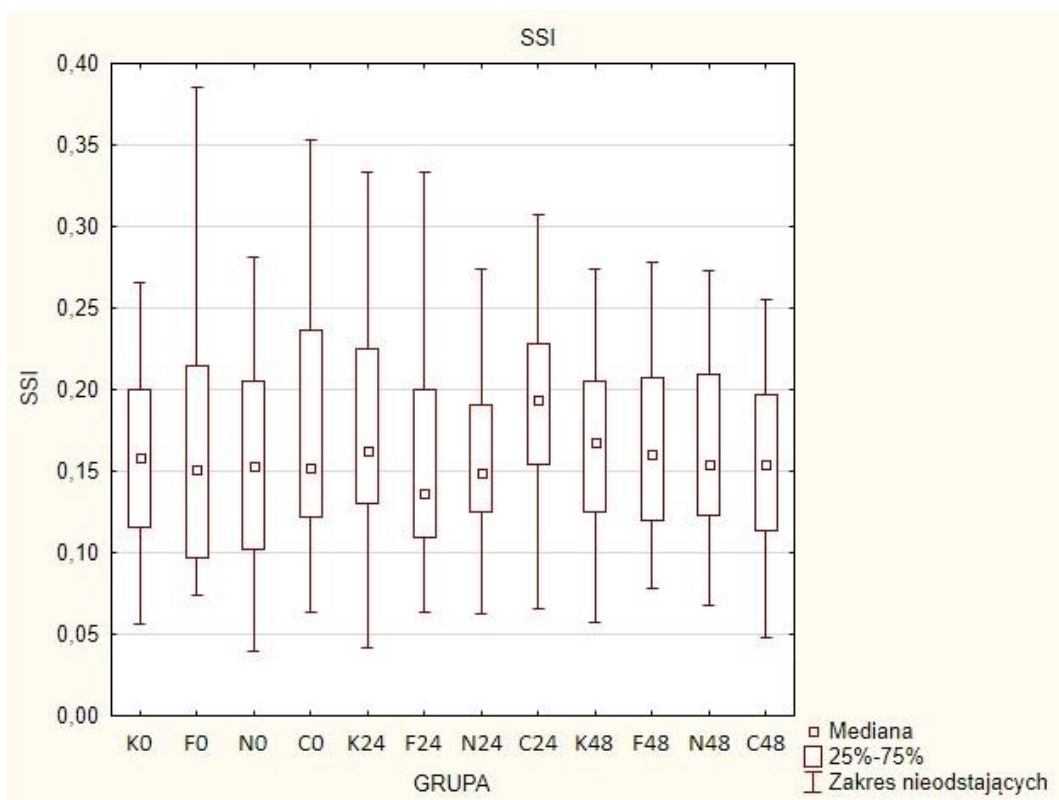




Ryc. 40) Współczynnik wiscerosomatyczny badanych ryb z podziałem na grupy.



Ryc. 41) Współczynnik hepatosomatyczny badanych ryb z podziałem na grupy.



Ryc. 42) Współczynnik splenosomatyczny badanych ryb z podziałem na grupy.

## 6.3. Ocena histopatologiczna skóry

### 6.3.1. Mapy cieplne zmian

Tab. 10 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K0, na którą składają się powtórzenia KI, KII, KIII. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zmiany wsteczne w obrębie skóry właściwej oraz postępowe w obrębie naskórka. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach kontrolnych przedstawiono na Ryc. 43-44.

Tab. 10) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia		Zmiany wsteczne										Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowo-tworowe					
		Naskórek					Blona podsta-wna	Skóra właściwa					Naskórek		Skóra właściwa									
Krwotok /przekrwienie/ tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zanik	Mortwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Mortwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek słuzowych	Przerost	Rozrost	Przerost	Wysięk	Aktywacja układu fagocytycznego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
1	1	1	2	0	0	2	2	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
1	2	1	2	0	1	2	2	2	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
1	1	2	1	0	1	2	2	2	1	1	0	1	2	1	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1	2	1	1	0	1	1	1	1	2	2	0	1	0	0	1	2	2	1	0	1	2	0	0	0
1	1	2	1	0	1	1	0	1	1	2	0	1	0	1	1	3	2	1	0	0	1	0	0	0
4	4	1	2	0	1	1	2	4	4	4	0	2	2	4	2	1	2	4	2	4	6	2	0	0
2	3	1	2	1	2	1	1	3	3	3	0	2	2	2	3	2	2	2	1	2	4	2	0	0
1	2	2	2	0	1	2	1	2	2	2	0	1	0	1	3	1	3	2	1	1	2	1	0	0
1	1	2	2	0	2	2	4	3	3	4	0	2	2	4	3	2	3	2	2	2	4	3	0	0
1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	2	1	0	0	1	1	0	0
3	1	2	2	0	1	2	1	2	2	1	0	1	0	0	2	4	1	1	1	2	3	4	0	0
1	0	2	1	0	1	2	1	1	1	1	0	1	1	0	2	1	0	1	0	1	1	2	0	0
2	1	3	1	0	2	2	4	3	2	1	0	2	3	2	3	0	0	2	1	2	3	3	0	0
2	1	2	2	0	2	2	3	3	3	3	1	3	2	3	3	5	0	2	5	3	4	4	0	0
2	1	2	2	0	2	3	3	3	3	2	0	2	3	2	1	1	0	3	1	2	2	2	0	0
4	2	2	2	1	3	2	3	3	3	2	0	3	2	3	4	4	3	3	1	1	3	3	0	0
1	2	3	1	0	1	4	1	2	1	1	0	1	2	1	3	1	2	3	1	2	1	1	0	0
2	2	3	1	0	1	3	1	2	2	2	0	2	1	2	2	1	1	3	1	2	2	2	0	0
3	4	3	2	1	2	3	2	3	2	2	1	2	3	2	2	3	1	2	1	1	2	2	0	0
1	1	1	1	0	2	1	2	2	1	2	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0
2	3	1	3	1	3	1	1	2	2	4	1	2	0	1	3	2	3	3	1	1	3	2	0	0
1	3	2	2	1	3	1	2	2	2	3	0	1	1	2	3	2	2	3	1	1	2	2	0	0
1	3	2	1	2	2	2	3	3	4	5	0	2	2	2	2	2	3	3	2	1	2	2	0	0
1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	2	0	2	1	1	3	2	3	2	1	2	2	2	0	0
1	3	1	1	2	2	2	1	2	2	4	1	1	1	1	3	4	5	3	2	1	2	3	0	0
1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	0	0	1	2	0	0
1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	0	1	2	1	2	0	1	2	0	1	2	1	0	0
2	3	2	2	0	2	2	4	2	2	2	0	1	1	2	1	0	1	2	1	2	3	2	0	0
1	3	2	3	1	4	2	3	3	2	3	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	2	3	0	0
2	3	1	1	2	2	1	1	2	2	4	2	1	1	1	3	3	3	4	2	1	1	1	0	0

Tab. 11 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K24, na którą składają się powtórzenia KIV, KV, KVI. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zmiany związane z zaburzeniami krążenia, wsteczne w obrębie naskórka oraz postępowe w obrębie skóry właściwej.

Tab. 11) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia		Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowo-tworowe		
		Naskórek						Błona podsta-wna	Skóra właściwa						Naskórek		Skóra właściwa								
Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cypłach	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cypłach	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywacja układu fagocytyarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy	
1	1	1	0	2	2	2	2	2	1	2	0	1	1	1	1	1	0	2	3	0	1	1	1	0	0
1	3	1	1	0	2	2	0	2	2	3	1	2	1	1	1	0	0	1	3	1	1	2	2	0	0
2	2	1	2	1	2	1	2	3	2	3	1	1	1	1	3	1	2	1	1	1	3	3	0	0	
0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
2	1	1	1	1	1	0	1	2	1	1	1	1	0	1	2	1	1	2	1	0	1	1	1	0	0
2	1	2	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1	0	0	1	3	2	2	3	0	1	1	1	0	0
1	1	1	2	1	1	1	1	2	2	2	0	2	1	0	2	2	2	2	2	0	1	2	0	0	
3	3	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2	2	3	0	0	
1	2	3	2	0	1	4	1	3	2	2	2	2	1	0	2	2	1	1	3	1	0	1	1	0	0
1	1	2	1	2	2	2	1	3	1	2	1	1	1	2	2	1	0	1	0	1	1	2	0	0	
2	3	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
3	3	1	1	2	1	2	0	3	2	2	1	2	1	1	3	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0
1	2	1	1	0	1	1	0	2	2	2	0	1	0	0	2	1	1	2	1	1	0	1	1	0	0
1	3	2	1	1	2	1	1	2	2	2	1	2	1	2	2	4	1	3	2	2	2	3	0	0	
1	2	1	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	0	0	1	1	0	0
1	2	0	0	1	1	2	0	2	1	2	0	1	0	0	1	0	2	2	1	0	0	1	1	0	0
2	3	1	1	1	2	2	1	2	2	3	1	2	1	2	1	1	3	3	2	1	2	2	0	0	
3	2	1	1	1	2	1	1	2	2	3	1	2	1	1	2	1	2	3	1	2	2	2	0	0	
2	4	3	2	2	3	2	3	3	3	3	2	2	2	2	1	2	1	3	2	2	2	2	0	0	
2	3	3	2	2	2	2	4	3	1	1	1	1	1	2	2	3	3	2	1	2	2	3	0	0	
1	1	1	2	1	2	1	2	2	2	3	1	2	1	1	1	2	3	3	1	1	1	1	1	0	0
2	3	2	2	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	3	2	1	1	2	2	0	0	
2	3	2	2	2	2	1	3	3	1	2	1	2	1	2	1	1	3	2	1	1	2	3	0	0	
3	3	2	2	2	2	1	3	3	2	3	1	2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	2	0	0	
2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	1	2	0	0	
1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	1	0	0	1	1	1	0	0
3	3	2	3	1	2	1	2	2	2	3	1	2	1	2	1	2	1	3	1	1	1	1	1	0	0
4	4	3	2	1	3	2	4	3	2	2	1	2	2	3	1	1	2	1	1	1	2	2	0	0	
1	2	2	2	2	2	1	1	2	2	3	3	2	1	1	4	1	2	1	1	0	1	2	0	0	
1	1	3	1	2	3	2	3	3	1	1	2	1	2	2	1	2	2	1	1	0	1	2	0	0	

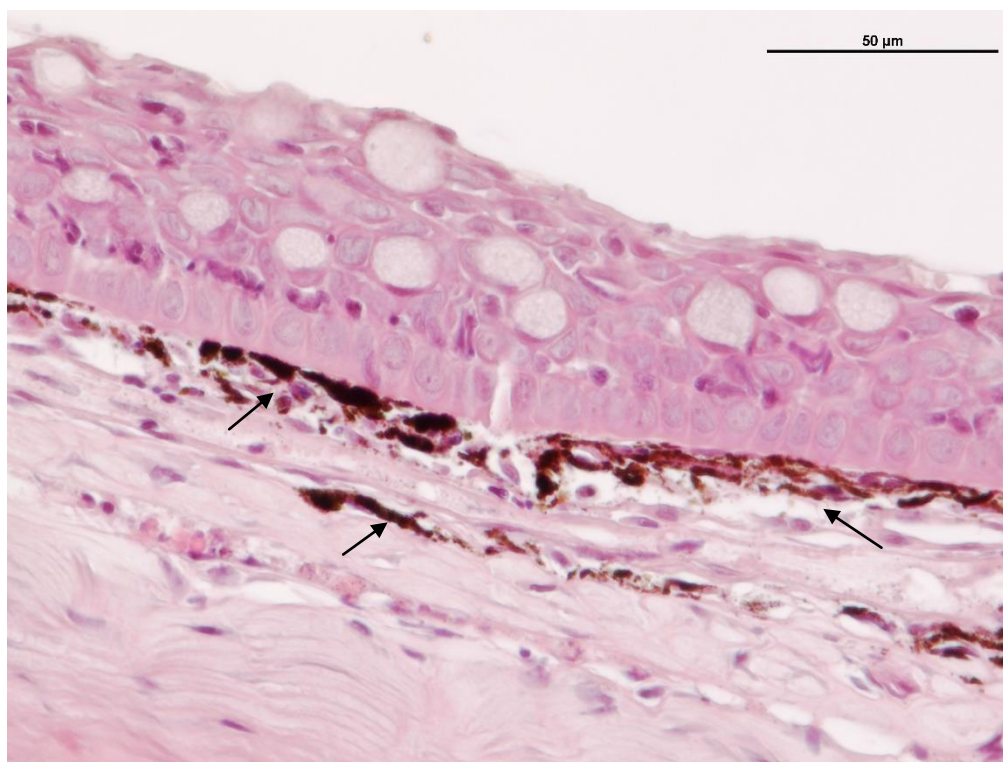
Tab. 12 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K48, na którą składają się powtórzenia KVII, KVIII, KIX. Najintensywniejsze są zmiany związane z zaburzeniami krążenia, zmiany wsteczne w obrębie naskórka obrębie skóry właściwej oraz postępowe.

Tab. 12) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne															Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe			
	Naskórek							Błona podstawa wna	Skóra właściwa							Naskórek		Skóra właściwa								
	Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cypłach	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik		Martwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cypłach	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost		Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywacja układu fagocytyarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny
1	3	3	1	2	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0	
1	2	3	1	3	3	2	3	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1	2	1	0	0	1	1	2	0	0
1	2	2	1	2	2	2	3	2	1	2	1	1	0	0	1	1	3	2	2	0	1	1	2	0	0	
1	3	1	1	3	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	3	3	2	1	1	2	3	0	0	
1	2	1	2	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	3	1	2	2	0	0	
1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	0	0	1	0	0	
1	2	1	1	1	2	1	2	2	3	2	1	2	2	3	2	2	1	1	2	1	1	2	4	0	0	
1	2	1	2	2	2	1	1	2	2	3	1	2	1	2	2	2	1	2	1	2	1	2	3	0	0	
2	2	2	1	1	2	2	3	3	1	2	0	1	1	1	1	2	1	1	1	0	0	1	2	0	0	
1	2	1	1	2	2	2	3	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	0	0	
3	2	1	2	2	2	1	1	2	3	2	2	2	1	3	2	2	2	1	1	1	2	1	2	0	0	
1	1	2	2	2	2	2	3	3	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	0	2	2	3	0	0	
1	1	2	1	2	3	1	3	3	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2	3	0	0	
3	2	1	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	3	1	3	1	0	2	2	3	0	0	
2	4	2	2	2	3	0	1	2	2	3	2	2	1	0	0	2	1	3	3	2	1	2	2	0	0	
3	2	3	2	2	2	1	2	2	2	3	2	2	1	1	1	3	4	2	2	2	2	2	4	0	0	
5	2	3	2	3	2	3	2	3	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	3	2	1	2	3	0	0	
2	3	2	2	2	3	2	2	3	3	1	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	0	1	2	0	0	
1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	2	1	0	0	
2	3	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2	3	2	2	1	2	3	0	0	
6	4	3	2	2	2	1	3	3	2	3	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	4	0	0	
1	1	1	1	1	2	0	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	0	1	2	0	0	
1	2	1	1	1	2	1	0	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	3	0	1	0	1	2	0	0	
1	1	1	1	1	2	2	1	0	2	1	2	2	1	1	1	2	2	3	1	1	0	1	2	0	0	
1	1	1	1	1	2	2	1	0	2	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	0	1	2	0	0	
1	2	1	2	2	2	1	1	3	1	2	2	1	1	1	1	1	3	2	1	1	1	2	3	0	0	
2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	0	0	2	3	2	1	1	2	2	3	0	0	
1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	2	2	1	1	1	1	2	2	0	0	
2	3	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2	3	2	1	1	2	1	2	2	3	0	0	
1	2	1	2	2	1	1	1	2	1	3	2	2	1	1	1	2	1	2	2	1	1	1	2	0	0	



Ryc. 43) Skóra, grupa kontrolna, centralnie przekrój przez kanał linii nabocznej. Łagodnie zaznaczony przerost naskórka, łagodnie wyrażone zmiany wsteczne w cytoplazmie fibroblastów warstwy luźnej podnaskórkowej oraz włókien kolagenowych warstwy zwartej skóry właściwej. Barwienie HE.



Ryc. 44) Skóra, grupa kontrolna, naskórek. W warstwie luźnej podnaskórkowej widoczne melanocyty w formie dendrytycznej z rozproszonymi melanosomami (strzałki). Barwienie HE.



Tab. 13 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczy w grupie F0, na którą składają się powtórzenia FI, FII, FIII. Najintensywniejsze są zmiany zapalne oraz zmiany wsteczne, zarówno w obrębie naskórka i skóry właściwej. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach z kąpielą z dodatkiem formaldehydu przedstawiono na Ryc. 45-48.

Tab. 13) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczy w grupie F0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne												Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe					
	Naskórek						Błona podstawa	Skóra właściwa						Naskórek		Skóra właściwa		Wyśięk	Aktywność układu fagocytyarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy			
	Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zanik		Mathwica	Zmiany w jądach komórkowych	Gromadzenie substancji	Zmiany w cytoplazmie	Zmiany strukturalne	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost								
2	1	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	1	1	1	2	1	2	3	2	0	0	
4	3	2	2	2	2	1	1	2	1	3	2	2	1	2	2	2	3	1	2	3	2	0	0		
2	3	2	2	2	4	2	2	3	2	4	3	2	1	2	2	1	2	1	2	3	2	0	0		
3	2	2	2	2	4	2	2	4	3	2	3	4	2	1	1	2	3	2	2	1	2	2	0	0	
3	2	2	2	3	3	3	2	3	2	2	2	3	2	1	1	2	3	1	1	1	2	3	3	0	0
4	2	2	2	2	4	2	1	1	2	3	2	3	2	1	1	3	2	2	1	2	2	2	0	0	
2	1	2	2	2	3	3	1	1	2	2	3	3	2	1	1	2	2	1	1	1	2	3	4	0	0
4	2	2	2	3	3	2	2	1	2	3	3	2	2	1	2	2	3	3	1	2	3	3	4	0	0
2	1	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	1	1	2	1	2	3	3	0	0
3	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	3	2	1	1	2	1	3	1	1	2	3	2	0	0
2	2	3	2	2	2	2	2	3	3	2	3	3	3	1	2	1	2	1	1	1	2	3	3	0	0
2	1	2	2	2	2	2	1	1	2	3	3	3	2	2	2	2	3	2	1	2	1	3	3	0	0
3	3	1	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	3	3	0	0
2	2	1	2	2	2	2	2	3	2	3	3	4	3	1	2	2	1	1	1	2	2	3	3	0	0
4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	4	3	1	2	2	2	1	1	2	2	3	3	0	0
2	1	2	2	2	4	2	2	4	3	2	3	4	2	1	1	2	1	1	1	1	1	3	3	0	0
3	3	2	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	3	1	1	2	1	1	1	1	2	3	3	0	0
2	1	2	2	2	3	3	2	4	3	3	3	4	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	3	0	0
2	1	1	2	2	4	3	2	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	2	2	2	3	2	0	0
2	2	1	2	2	3	3	2	1	2	2	2	4	3	1	2	2	1	2	1	2	2	3	4	0	0
3	3	2	2	2	3	3	2	4	2	2	2	3	2	1	2	3	2	3	2	1	3	4	4	0	0
3	3	2	2	2	3	3	2	3	2	2	2	3	2	1	2	3	2	3	2	1	2	3	3	0	0
3	3	2	2	2	2	2	1	2	2	2	3	3	3	1	2	1	3	2	1	1	2	3	3	0	0
2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	3	3	2	1	2	1	3	2	1	1	2	3	4	0	0
2	3	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	3	3	2	1	3	3	4	0	0
2	2	2	2	2	3	2	1	1	2	2	3	3	2	1	2	2	2	2	2	1	2	3	3	0	0
2	2	2	2	2	3	2	1	1	2	2	3	3	2	1	2	3	4	3	1	1	2	3	3	0	0
2	3	2	2	2	3	2	1	2	2	2	3	3	2	2	2	2	3	2	1	1	2	3	3	0	0
2	3	2	2	2	3	2	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	2	2	1	1	2	2	0	0
2	2	3	2	2	3	2	2	4	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	3	3	0	0

Tab. 14 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie F24, na którą składają się powtórzenia FIV, FV, FVI. Najintensywniejsze są zmiany zapalne oraz zmiany wsteczne, zarówno w obrębie naskórka i skóry właściwej.

Tab. 14) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie F24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowo- tworowe			
	Naskórek								Błona podsta- wna	Skóra właściwa						Naskórek		Skóra właściwa							
	Krwotok / przekrwienie / tętno	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica		Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost	Wyсіk	Aktywacja układu fagocytyarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny
2	2	3	2	4	2	3	1	2	2	3	3	2	1	2	3	2	1	1	1	1	2	3	3	0	0
2	2	3	2	3	2	2	3	3	2	2	2	2	1	2	2	4	2	2	1	1	3	4	5	0	0
4	2	2	2	2	3	2	1	1	2	2	4	3	2	1	1	2	3	3	1	1	2	3	3	0	0
2	3	3	2	3	3	3	2	2	3	2	3	3	2	1	2	3	2	1	2	1	2	3	3	0	0
2	3	2	3	3	4	3	4	2	2	3	4	2	3	1	2	1	1	1	3	2	2	3	2	0	0
2	3	2	3	3	4	2	1	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	4	0	0
3	3	2	3	3	3	3	2	2	3	1	4	3	3	2	2	1	1	1	3	2	2	3	3	0	0
2	1	2	3	3	3	3	1	2	3	3	4	3	1	2	1	1	1	2	2	2	2	3	3	0	0
3	3	3	3	3	3	3	2	4	3	2	3	3	2	1	2	2	2	3	2	2	2	3	4	0	0
3	2	3	2	4	3	2	1	2	2	2	3	4	3	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	0	0
2	2	2	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	3	2	2	2	1	1	3	3	2	4	4	0	0
2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	4	3	2	2	3	2	1	3	2	2	4	5	0	0
2	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	3	3	3	2	2	2	1	1	2	2	1	2	3	0	0
2	2	2	2	2	3	3	2	2	2	3	3	4	3	2	2	2	1	1	3	2	2	3	2	0	0
2	2	3	2	3	4	2	2	2	2	2	3	4	3	1	2	2	4	1	2	2	2	3	4	0	0
2	2	2	2	2	3	3	2	3	2	3	3	3	3	1	1	2	1	1	1	1	2	3	3	0	0
3	3	3	3	2	3	3	2	4	3	2	3	3	3	1	1	1	3	1	1	1	2	2	3	0	0
2	2	3	2	3	3	2	3	3	2	3	4	3	3	1	2	2	2	1	2	2	1	3	2	0	0
3	3	3	3	2	3	3	2	4	3	2	3	4	3	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	0	0
3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	3	4	3	3	2	2	2	3	2	2	1	2	3	4	0	0
3	2	2	3	3	3	2	1	3	2	3	4	3	3	1	1	3	2	1	2	1	1	3	2	0	0
3	2	2	3	3	3	2	2	3	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	3	4	5	0	0
2	2	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	3	1	2	3	3	2	2	1	2	3	3	0	0
2	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2	3	4	3	1	2	3	3	2	1	1	2	3	4	0	0
2	2	3	3	4	3	3	2	3	2	2	3	3	3	1	2	2	2	1	1	1	1	2	2	0	0
2	1	3	4	3	4	2	3	3	2	2	2	3	2	1	1	2	4	1	1	1	3	4	4	0	0
2	1	3	3	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2	1	2	3	2	2	1	1	2	4	3	0	0
2	1	2	3	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2	1	1	3	2	2	1	1	1	3	2	0	0
4	3	2	3	4	4	2	2	2	2	2	3	4	3	2	2	3	4	2	2	1	2	4	4	0	0
3	2	3	2	3	3	2	1	2	2	3	4	2	2	2	2	3	6	2	2	1	2	5	6	0	0

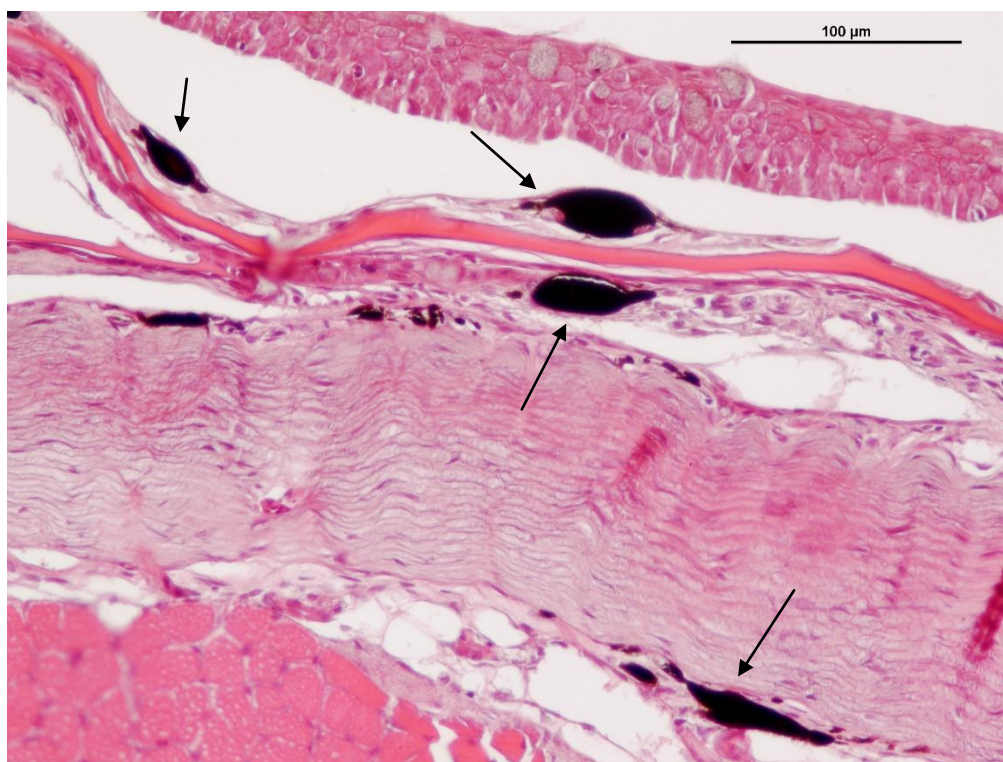
Tab. 15 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pszczołków tęczowych w grupie F48, na którą składają się powtórzenia FVII, FVIII, FIX. Najintensywniejsze są zmiany zapalne oraz zmiany wsteczne, zarówno w obrębie naskórka i skóry właściwej, widać też nasilenie zmian postępowych naskórka w stosunku do grup z jednorazową i dwukrotną kąpielą.

Tab. 15) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pszczołków tęczowych w grupie F48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe						Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe	
	Naskórek								Błona podstawa	Skóra właściwa						Naskórek			Skóra właściwa						
	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Defekt	Zmiany strukturalne		Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek słuzowych	Przerost	Rozrost						
Krwotoki / przekrwienie / tętnik									Przesięk											Wysięk	Aktywność układu fagocytycznego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy	
2	1	3	3	4	3	3	3	2	3	3	3	1	2	2	2	1	2	1	1	3	2	0	0		
2	2	3	3	4	2	2	4	3	2	3	3	3	1	2	3	2	1	2	3	3	0	0			
2	1	3	3	3	3	2	4	3	2	3	4	3	2	2	3	3	2	2	1	2	3	3	0	0	
3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	4	3	2	2	3	3	2	2	2	2	4	3	0	0	
2	1	3	3	3	3	2	4	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	2	2	3	3	0	0	
3	2	3	3	3	3	2	3	3	3	3	4	3	2	2	3	3	2	2	1	2	4	3	0	0	
3	3	3	3	4	3	2	4	3	2	3	3	3	2	2	3	3	2	1	1	2	4	3	0	0	
3	2	3	3	4	3	2	2	3	2	3	4	3	2	2	3	4	3	1	1	2	4	3	0	0	
3	4	2	3	3	3	1	2	3	2	3	4	3	2	2	2	2	3	2	2	2	3	3	0	0	
2	2	2	3	3	3	4	2	2	2	3	4	3	1	2	4	2	1	2	1	2	3	3	0	0	
3	2	2	3	4	3	2	2	2	2	3	4	3	2	2	3	3	2	2	1	2	3	3	0	0	
4	3	2	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	1	2	4	2	1	2	2	2	3	3	0	0	
3	5	2	3	3	3	2	2	2	2	3	4	3	1	2	2	4	3	2	1	2	4	3	0	0	
3	4	3	3	3	3	2	2	2	2	2	3	3	1	2	4	2	1	1	1	2	3	3	0	0	
5	3	2	3	4	3	2	3	3	3	3	4	3	2	3	4	3	2	2	1	2	3	3	0	0	
2	3	2	3	4	3	3	4	3	3	3	5	3	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	0	0	
2	3	2	3	4	3	2	2	2	3	3	4	3	2	3	2	4	2	3	2	2	4	4	0	0	
3	3	3	3	4	3	2	4	3	2	3	4	3	2	2	3	2	1	2	2	3	3	3	0	0	
2	2	2	3	3	3	2	2	2	3	3	4	3	2	3	3	3	2	2	2	2	4	4	0	0	
4	3	3	3	4	3	2	3	3	3	3	4	3	2	3	3	3	2	2	2	2	4	3	0	0	
3	3	2	2	3	2	2	2	3	3	2	4	2	1	2	2	2	1	1	1	1	3	2	0	0	
2	2	2	3	3	3	2	3	3	3	2	4	2	1	3	3	4	2	3	2	2	5	5	0	0	
3	3	2	2	3	3	2	4	2	4	3	4	3	1	4	2	3	1	2	2	2	4	4	0	0	
2	2	2	3	3	3	2	3	2	3	3	4	3	2	3	3	3	1	2	2	2	4	3	0	0	
2	3	2	2	4	3	2	1	2	3	3	5	3	2	3	2	2	3	2	2	2	3	3	0	0	
2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	4	5	4	2	3	3	2	2	3	2	2	4	4	0	0	
3	2	2	3	4	3	3	4	3	3	4	5	4	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	0	0	
2	2	2	3	3	3	2	1	2	2	3	4	3	2	3	2	4	3	3	2	2	5	6	0	0	
2	3	2	3	4	3	3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	3	2	3	2	2	3	3	0	0	
2	3	3	3	3	3	2	3	3	2	3	4	3	2	3	2	2	1	2	2	2	4	3	0	0	

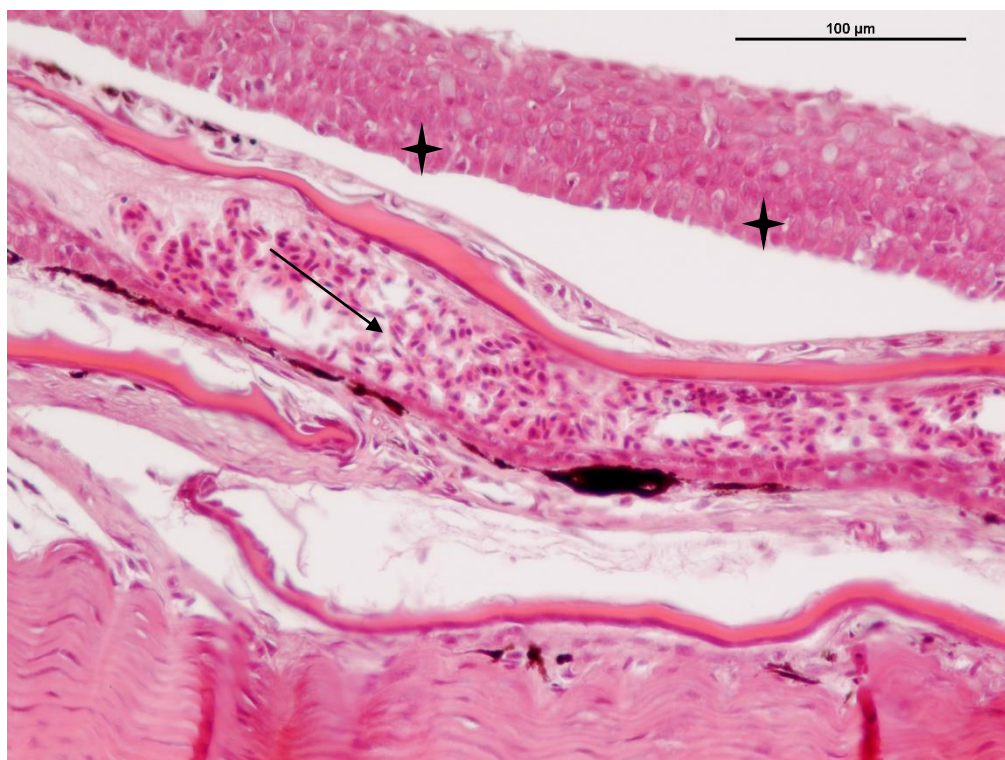


Ryc. 45) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z formaldehydem; przekrój przez kanał linii nabocznej. Znaczny rozrost naskórka (gwiazdka) oraz naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów, obejmujący naskórek, skórę właściwą oraz warstwę podskórną. Barwienie HE.

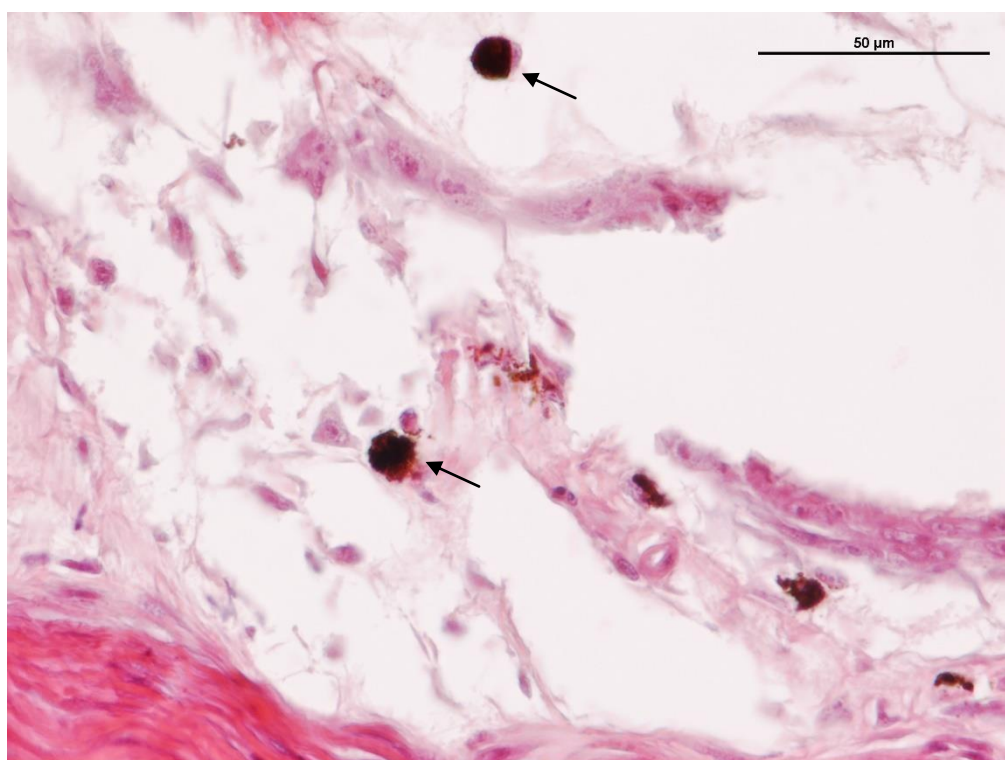


Ryc. 46) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Melanocyty w formie skupionej, zlokalizowane w warstwie luźnej podnaskórkowej oraz w tkance podskórnej (strzałki). Barwienie HE.





Ryc. 47) Skóra, grupa z jednokrotną kąpielą z formaldehydem. Rozrost naskórka (gwiazdki) oraz wynaczynienie (strzałka) w warstwie luźnej skóry właściwej. Barwienie HE.



Ryc. 48) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z formaldehydem, warstwa luźna skóry właściwej. Ognisko martwicy, resztki wysięku zapalnego oraz okrągłe melanocyty (strzałki). Barwienie HE.

Tab. 16 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N0, na którą składają się powtórzenia NI, NII, NIII. Najintensywniejsze są zaburzenia krążenia i zmiany zapalne, oraz zmiany postępowe w obrębie naskórka. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach z kąpielą z dodatkiem chlorku sodu przedstawiono na Ryc. 49-52.

Tab. 16) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia		Zmiany wsteczne											Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe				
		Naskórek						Błona podstawa	Skóra właściwa					Naskórek		Skóra właściwa								
Kwiołok/ przekrwienie/ tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w grzopłazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Mortwica		Zmiany w jądach komórkowych	Gromadzenie substancji	Zmiany w grzopłazmie	Zmiany strukturalne	Defekty	Prerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Prerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywność układu fagocytyarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy	
3	2	1	3	2	2	1	1	2	2	2	3	2	1	1	3	1	2	1	1	1	3	2	0	0
4	4	1	3	3	3	2	1	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	2	1	1	3	2	0	0
4	4	1	2	2	2	1	1	2	2	2	3	2	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	0	0
3	3	1	3	2	3	1	2	2	2	3	2	2	1	1	3	2	2	2	1	1	3	3	0	0
2	3	2	3	2	3	2	3	2	1	2	2	2	1	2	3	3	2	2	1	1	3	3	0	0
2	3	2	3	2	3	2	3	2	1	2	2	2	1	2	4	3	2	2	2	2	4	4	0	0
2	4	1	3	3	3	2	3	3	2	2	3	2	1	2	4	3	2	1	1	1	3	3	0	0
3	4	2	3	4	3	2	3	3	2	3	3	3	1	2	4	3	2	1	2	1	3	2	0	0
4	4	3	3	4	3	3	3	3	2	3	4	3	2	2	3	2	2	1	2	2	4	5	0	0
3	5	2	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3	2	2	4	3	2	2	2	2	4	4	0	0
2	4	1	3	4	3	2	2	2	1	2	4	2	1	1	3	2	1	1	1	2	4	3	0	0
2	3	2	2	3	3	3	3	3	1	2	3	2	1	1	3	2	2	2	1	1	3	2	0	0
3	5	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	2	1	1	3	3	1	2	1	2	4	4	0	0
3	4	2	2	3	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2	2	4	5	0	0
2	2	2	3	4	3	2	2	2	2	3	4	2	1	1	3	3	3	1	1	1	4	3	0	0
2	2	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3	2	1	2	1	2	4	4	0	0
4	5	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3	2	1	1	1	1	2	3	2	2	4	4	0	0
2	3	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3	2	1	1	4	2	2	2	1	1	3	2	0	0
3	4	1	3	3	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	1	2	1	1	3	3	0	0
2	3	3	3	3	3	4	2	3	1	2	3	2	1	1	2	1	1	2	1	1	3	3	0	0
3	3	1	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3	2	2	1	3	1	3	2	1	3	3	0	0
3	4	2	3	3	3	2	2	2	2	3	4	3	2	2	2	5	2	3	2	2	4	4	0	0
3	4	2	3	3	3	2	2	2	2	3	3	3	2	2	2	4	1	2	1	2	3	3	0	0
3	4	2	3	3	3	3	3	3	2	3	4	3	1	2	2	3	1	2	2	2	4	3	0	0
4	3	1	3	3	4	2	2	2	2	3	3	2	1	2	3	4	4	2	1	2	3	3	0	0
4	3	2	3	3	3	1	2	2	2	3	4	3	1	2	3	4	4	3	2	2	4	3	0	0
4	3	2	3	3	3	2	2	2	2	3	4	3	2	2	3	4	3	3	2	2	3	3	0	0
3	4	2	3	3	3	2	2	3	2	3	4	3	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	0	0
3	4	2	3	3	4	2	2	2	2	3	4	3	2	2	3	2	1	3	2	2	3	3	0	0
3	3	3	3	3	4	3	2	3	3	4	3	4	2	2	3	4	3	3	2	2	4	3	0	0

Tab. 17 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pszczoł tęczowych w grupie N24, na którą składają się powtórzenia NIV, NV, NVI. Podobnie jak w grupie N0 najintensywniejsze są zaburzenia krążenia i zmiany zapalne, jednakże w obrębie naskórka dominują zmiany wsteczne.

Tab. 17) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pszczoł tęczowych w grupie N24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

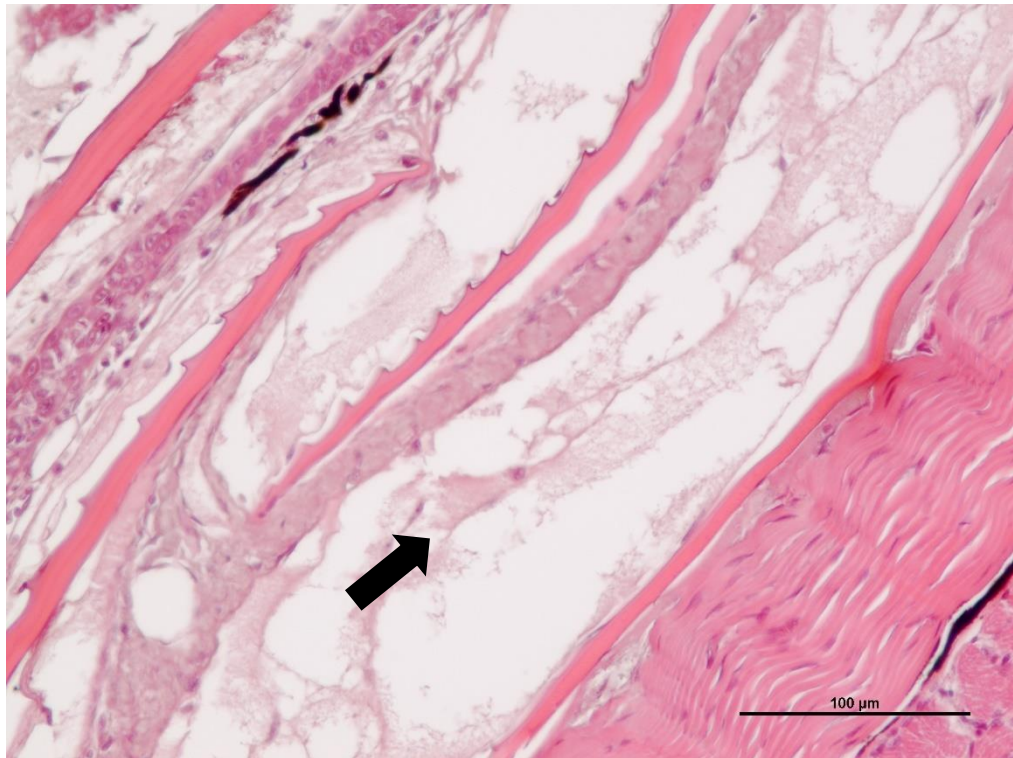
Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe			
	Naskórek							Błona podstawa wna	Skóra właściwa							Naskórek			Skóra właściwa						
	Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cypłach	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik		Martwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cypłach	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywacja układu fagocytyarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny
3	5	3	3	3	3	4	2	3	2	3	3	3	3	1	2	3	2	1	1	2	2	4	4	0	0
2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	3	3	3	1	2	3	4	1	2	1	2	2	4	4	0	0
3	5	3	3	3	3	3	3	2	2	4	3	3	1	2	3	2	2	3	2	1	4	3	0	0	
2	4	2	3	3	3	4	2	2	2	4	3	3	1	2	2	2	2	3	2	1	3	3	0	0	
3	6	2	3	4	3	4	2	2	2	4	4	3	2	2	3	3	3	3	2	2	4	4	0	0	
3	4	2	3	4	4	3	2	2	2	3	4	3	1	2	3	2	2	2	2	2	4	4	0	0	
2	3	1	3	4	4	2	1	2	2	2	4	2	1	1	3	3	3	3	2	1	5	3	0	0	
2	4	2	3	3	3	3	2	2	2	2	3	2	2	2	3	3	3	2	2	2	4	3	0	0	
3	4	3	3	4	4	2	3	3	2	2	4	2	2	2	3	3	3	3	2	2	4	4	0	0	
3	4	2	3	3	3	3	2	2	2	2	4	2	2	2	3	2	1	2	1	2	4	3	0	0	
3	3	2	3	4	3	2	3	2	3	2	3	2	2	2	2	3	1	3	2	2	4	3	0	0	
3	4	2	3	3	3	2	4	2	3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	1	2	4	4	0	0	
3	3	2	3	3	3	1	2	2	2	3	3	3	2	3	3	3	1	3	2	2	3	3	0	0	
2	4	2	3	3	3	1	2	2	3	3	4	3	2	3	4	3	2	1	3	2	4	4	0	0	
3	5	2	3	4	3	2	3	3	3	3	4	3	2	3	3	2	1	3	2	2	4	4	0	0	
3	5	2	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	4	3	2	1	2	1	2	4	4	0	0	
2	4	2	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2	2	1	1	2	1	2	3	3	0	0	
3	4	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	4	2	1	2	3	2	4	3	0	0	
3	3	2	3	3	3	3	4	2	2	3	3	3	2	2	4	3	2	2	3	2	4	3	0	0	
4	3	1	3	4	4	2	2	2	1	2	3	2	2	2	4	2	2	1	2	2	3	3	0	0	
3	3	2	3	4	4	2	2	2	1	2	3	2	2	2	4	2	2	1	3	2	5	4	0	0	
3	3	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	4	3	2	1	2	2	4	4	0	0	
3	3	2	3	4	4	3	3	2	2	3	3	3	2	2	2	1	3	3	2	2	5	4	0	0	
2	4	2	3	3	3	3	3	2	1	2	3	2	2	2	3	2	1	1	2	2	4	4	0	0	
2	4	2	3	3	3	1	2	2	1	2	3	2	1	1	3	4	3	3	2	2	4	3	0	0	
2	3	1	3	3	3	2	1	2	1	2	3	2	1	1	3	4	3	1	2	2	4	3	0	0	
3	4	2	3	3	3	2	1	2	1	2	3	2	2	2	4	2	2	3	2	2	4	4	0	0	
3	3	3	3	4	3	3	4	3	2	3	4	2	2	3	3	4	2	3	2	2	5	4	0	0	
3	5	3	3	4	3	2	3	3	2	3	4	2	2	3	3	3	2	3	2	2	4	4	0	0	
2	3	3	3	3	3	4	2	2	2	3	4	3	2	2	4	3	2	2	1	2	5	3	0	0	



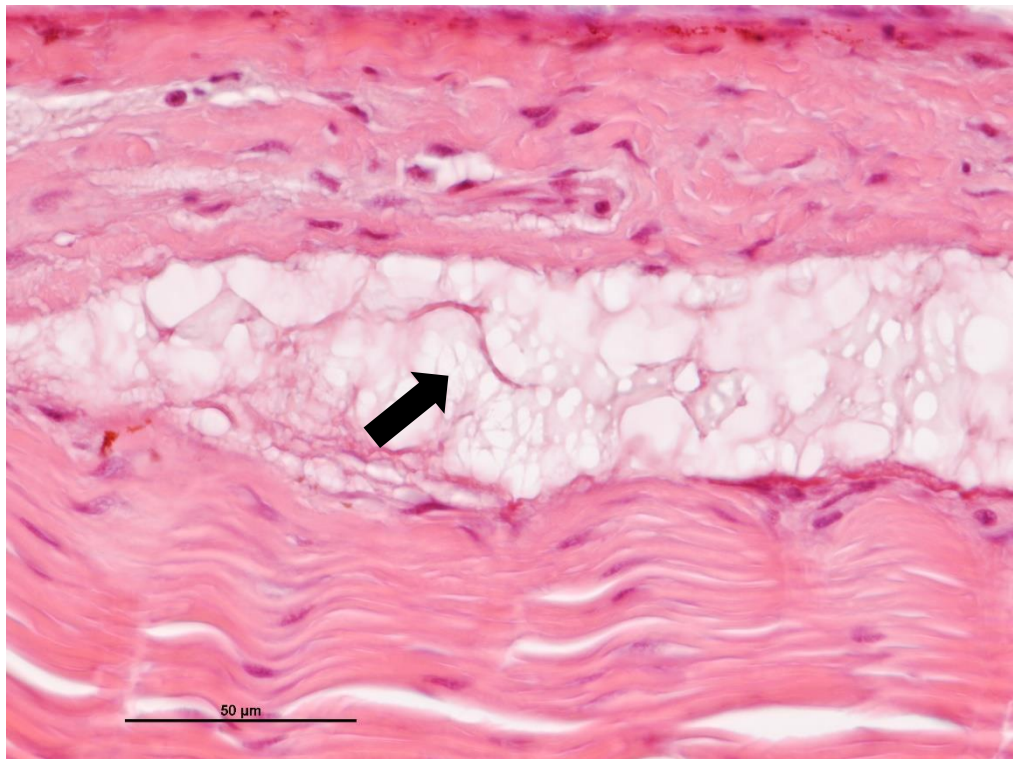
Tab. 18 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N48, na którą składają się powtórzenia NVII, NVIII, NIX. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zmiany wsteczne w obrębie naskórka oraz zaburzenia krążenia.

Tab. 18) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia		Zmiany wsteczne												Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe			
		Naskórek						Błona podstawa	Skóra właściwa						Naskórek			Skóra właściwa						
Krwotoki / przekrwienie / tętno	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost	Wyсіk	Aktywacja układu fagocytyarnego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
2	4	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	1	1	2	4	1	2	2	2	6	4	0	0
4	3	3	3	4	3	3	2	2	1	2	3	2	1	1	3	2	2	1	2	2	4	3	0	0
2	3	3	3	4	3	1	2	2	1	3	4	2	1	1	4	3	3	2	2	2	4	3	0	0
3	3	3	3	4	4	2	2	2	2	3	3	3	2	2	3	4	3	2	2	2	3	3	0	0
6	4	3	3	3	4	3	4	3	3	3	4	3	2	2	3	4	3	2	2	2	4	3	0	0
3	4	3	3	3	3	3	3	3	2	3	4	3	2	2	3	3	2	2	1	2	4	3	0	0
2	3	2	3	3	4	3	2	2	2	3	3	3	2	2	4	3	2	3	2	2	5	4	0	0
3	3	2	3	3	3	4	2	2	2	3	3	3	2	2	3	2	2	2	2	1	4	3	0	0
4	3	2	3	3	3	4	2	2	2	3	4	3	2	2	3	2	2	2	2	2	4	4	0	0
3	3	2	3	4	3	4	2	2	2	3	4	3	2	2	2	3	1	1	1	2	6	4	0	0
4	3	2	3	4	3	3	2	3	2	3	4	3	2	1	2	2	2	1	1	2	5	4	0	0
4	3	2	3	4	4	3	5	4	2	3	4	3	2	1	3	2	1	1	1	2	4	4	0	0
3	3	2	2	3	3	3	4	3	2	3	3	3	2	2	3	2	1	1	2	3	4	4	0	0
2	3	3	2	3	3	2	4	4	2	2	3	2	1	3	3	2	1	1	2	2	4	3	0	0
2	4	3	2	3	4	3	4	3	2	2	3	2	2	2	2	3	1	1	2	2	3	3	0	0
2	3	2	2	3	4	4	3	2	2	3	4	3	2	2	2	2	1	1	2	2	3	3	0	0
2	3	2	2	3	4	3	3	2	2	3	4	3	2	2	2	2	1	1	1	2	3	3	0	0
2	4	2	3	3	4	3	3	3	2	3	4	3	2	3	3	2	1	2	2	2	4	3	0	0
2	4	3	3	4	3	3	3	3	2	4	4	3	2	3	3	2	2	2	2	2	4	3	0	0
3	3	3	3	3	4	2	3	3	2	3	3	3	2	2	3	4	2	2	2	3	6	6	0	0
3	3	2	3	4	3	2	2	2	2	3	4	3	2	2	3	1	2	3	2	3	4	4	0	0
2	3	2	3	4	3	2	3	3	2	3	4	3	2	2	3	4	3	2	2	2	5	4	0	0
2	3	2	3	4	3	1	2	2	2	3	4	3	2	2	3	4	1	1	2	2	5	4	0	0
2	4	2	2	3	2	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	3	2	4	4	0	0
3	4	3	3	3	3	4	3	4	3	3	4	3	2	2	2	1	1	3	2	2	4	4	0	0
4	4	3	3	2	3	3	4	3	2	3	4	3	2	2	3	1	1	2	2	2	4	3	0	0
3	3	3	3	3	3	4	4	4	2	3	4	3	2	2	3	1	1	2	2	2	3	3	0	0
4	4	3	3	3	3	4	4	4	2	3	3	3	2	3	3	3	2	2	2	2	4	3	0	0
2	4	2	3	4	3	3	3	3	2	3	4	3	2	3	2	1	1	2	2	2	4	4	0	0



Ryc. 49) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z chlorkiem sodu, warstwa luźna. Prześięk prowadzący do obrzęku warstwy luźnej skóry właściwej (strzałka). Barwienie HE.

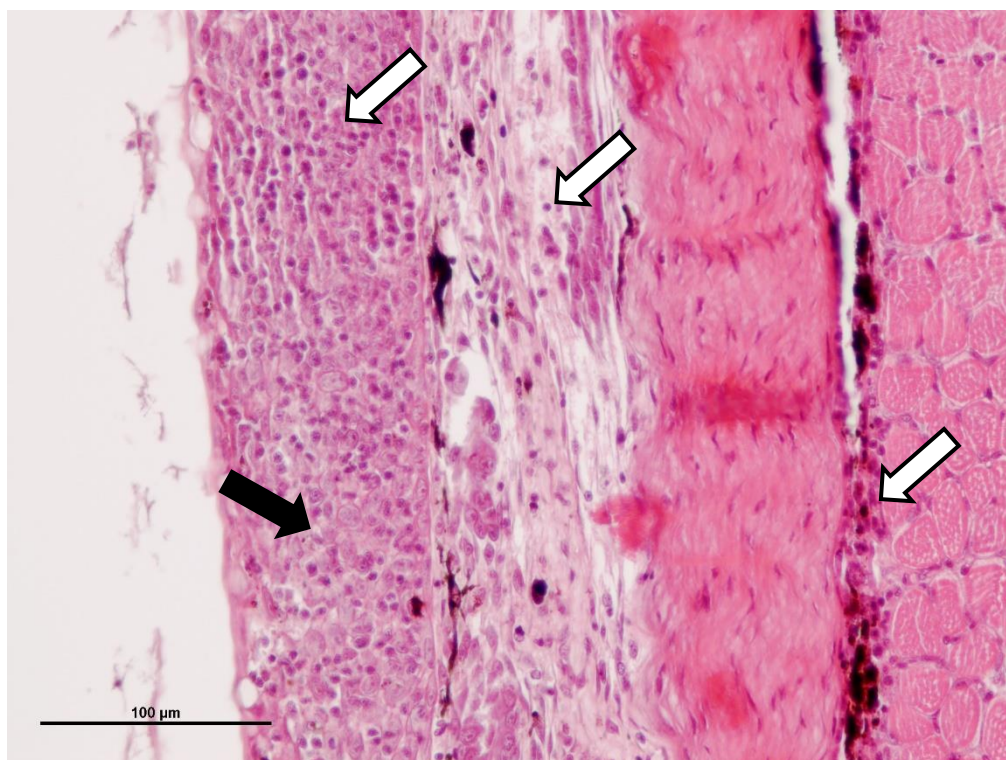


Ryc. 50) Skóra, grupa z jednokrotną kąpielą z chlorkiem sodu, warstwa zbita. Prześięk prowadzący do obrzęku warstwy zwartej skóry właściwej (strzałka) . Barwienie HE.





Ryc. 51) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą w chlorku sodu, naskórek i warstwa luźna. Rozrost keratynocytów (gwiazdki), naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie luźnej skóry właściwej (strzałki) oraz podnaskórkowe melanocyty w formie pośredniej pomiędzy dendrytyczną a skupioną (główki strzałek). Barwienie HE.



Ryc. 52) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Rozrost keratynocytów (czarna strzałka), naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie naskórka, warstwie luźnej skóry właściwej oraz w tkance podskórnej właściwej (białe strzałki). Barwienie HE.

Tab. 19 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pstrągów tęczowych w grupie C0, na którą składają się powtórzenia CI, CII, CIII. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zmiany wsteczne w obrębie naskórka oraz postępowe w obrębie naskórka. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach z kąpielą z dodatkiem siarczanu miedzi (II) przedstawiono na Ryc. 53-56.

Tab. 19) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie C0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia		Zmiany wsteczne											Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe				
		Naskórek						Błona podstawa	Skóra właściwa					Naskórek		Skóra właściwa								
Kwiołok/ przekrwienie/ tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w grzopłazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Mortwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w grzopłazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Mortwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek słuzowych	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywność układu fagocytycznego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
4	4	3	3	3	3	3	4	3	2	3	2	2	1	1	2	3	1	2	1	1	4	3	0	0
2	3	3	3	3	3	3	4	3	2	3	2	2	2	2	3	1	1	2	2	3	4	4	0	0
3	3	2	3	3	3	3	4	3	2	3	2	2	2	2	3	1	1	2	2	3	4	4	0	0
2	3	2	3	3	4	2	2	2	2	3	2	2	1	2	2	4	2	2	2	3	4	5	0	0
2	2	2	3	3	4	2	2	3	1	2	2	2	1	1	2	3	2	2	1	1	4	3	0	0
3	2	2	3	3	4	2	3	3	2	3	2	2	1	2	2	2	1	3	2	2	4	3	0	0
3	3	2	3	3	3	2	2	2	2	3	4	3	2	2	3	2	2	3	2	2	4	4	0	0
2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2	3	2	2	1	2	2	3	3	0	0
2	3	3	3	3	4	3	4	3	2	3	4	3	2	4	2	4	3	1	2	2	4	4	0	0
3	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	2	2	3	3	0	0
2	3	2	3	2	3	3	2	3	3	2	3	2	2	2	3	2	2	2	1	1	3	3	0	0
2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	3	2	2	2	4	2	2	3	2	2	3	3	0	0
3	2	2	3	4	3	2	2	2	2	3	4	2	2	2	3	2	2	3	2	2	4	3	0	0
2	2	2	3	4	3	2	2	2	3	4	3	3	3	3	3	2	2	3	2	3	5	5	0	0
3	3	2	3	3	3	4	2	3	2	3	2	2	2	3	2	1	1	3	2	2	3	2	0	0
2	4	3	3	3	4	2	4	3	2	3	2	2	2	3	3	1	1	3	2	2	4	3	0	0
2	3	2	2	3	2	2	3	2	3	4	3	2	2	2	3	1	2	3	2	2	3	3	0	0
2	3	1	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	3	2	3	3	2	4	3	0	0
2	3	2	2	2	2	2	2	2	3	4	2	2	2	2	2	2	1	3	3	2	3	3	0	0
4	4	3	2	2	3	3	3	3	2	4	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	3	2	0	0
2	3	3	4	2	3	2	2	3	2	4	2	3	2	2	4	2	3	3	2	2	3	3	0	0
2	3	2	4	3	3	2	2	3	2	4	2	3	2	2	3	3	3	3	2	2	5	3	0	0
3	3	3	4	2	3	2	2	3	2	4	2	3	2	2	3	3	3	3	2	2	4	3	0	0
3	3	3	4	3	3	2	2	3	2	4	2	3	2	3	3	3	3	3	2	2	4	4	0	0
2	4	3	4	3	3	2	2	3	2	4	3	3	2	2	3	5	2	2	2	3	6	5	0	0
2	3	3	4	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	4	2	3	3	2	4	3	0	0
2	3	3	4	3	4	3	3	3	2	3	3	3	2	2	3	2	1	3	2	3	4	4	0	0
2	2	3	4	3	4	2	2	3	2	3	3	3	2	2	3	6	2	4	4	2	4	6	0	0
2	3	3	4	3	3	2	2	3	2	3	3	3	2	2	3	4	3	4	3	2	4	4	0	0
3	3	3	4	3	4	2	3	3	2	3	3	3	2	2	3	5	3	4	3	2	4	6	0	0

Tab. 20) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie C24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

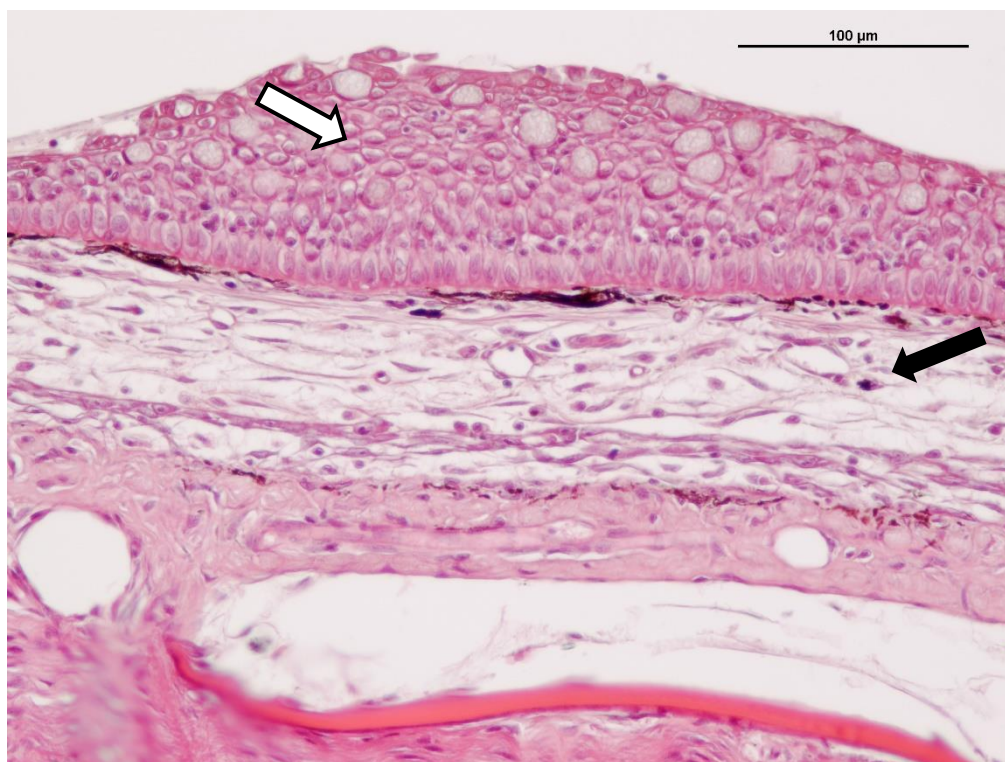
98

Tab. 21 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skórze pszczoł tęczowych w grupie C48, na którą składają się powtórzenia CVII, CVIII, CIX. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, oraz zmiany wsteczne w obrębie naskórka i skóry właściwej.

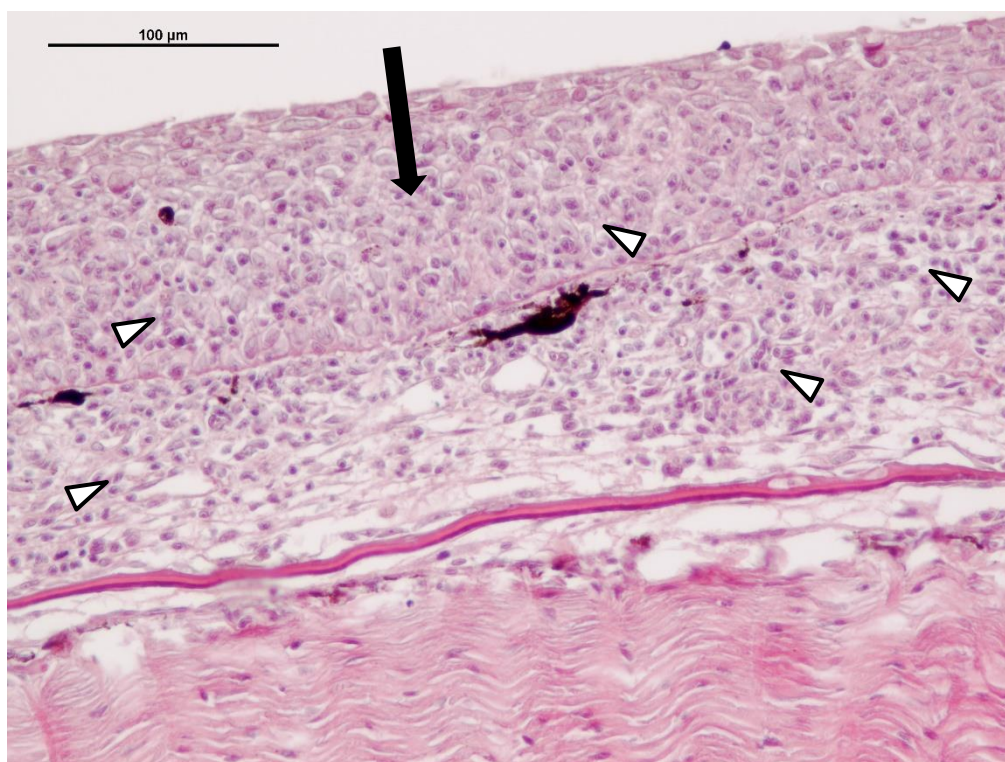
Tab. 21) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pszczoł tęczowych w grupie C48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia		Zmiany wsteczne												Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe					
		Naskórek						Błona podstawa	Skóra właściwa						Naskórek		Skóra właściwa									
Krwotok / przekrwienie / tętno	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądрах komórkowych	Zanik	Martwica	Defekt	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądрах komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Rozrost komórek śluzowych	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywacja układu fagocytyarnego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
2	3	3	3	4	4	4	4	3	2	3	4	3	2	2	3	2	1	2	1	2	1	2	4	4	0	0
2	3	3	3	3	4	3	4	3	2	3	3	3	3	4	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	0	0
2	3	3	3	3	4	3	4	3	2	3	3	3	3	4	2	1	1	2	2	2	2	2	4	5	0	0
3	3	3	3	3	4	3	4	3	2	3	4	3	3	4	3	1	1	2	2	2	2	2	5	4	0	0
3	4	3	3	3	4	4	4	4	3	3	3	3	4	3	2	1	1	3	3	2	3	3	3	3	0	0
3	2	3	3	3	4	3	4	4	3	3	4	3	3	3	1	3	1	2	2	2	2	4	4	4	0	0
3	2	3	3	4	4	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1	2	4	4	0	0
2	2	3	4	3	4	4	4	3	3	3	4	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	4	3	0	0	
4	2	3	4	3	4	4	4	3	3	3	4	3	3	3	3	2	1	2	2	2	2	5	4	0	0	
3	2	3	4	3	4	4	4	3	3	3	4	3	3	3	3	2	2	3	2	2	2	5	5	0	0	
3	2	3	4	3	4	4	4	4	3	3	3	3	4	3	2	1	1	3	2	3	4	4	4	0	0	
3	3	3	4	3	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	1	1	1	2	1	3	4	4	4	0	0	
3	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	3	3	2	1	1	3	2	2	5	4	0	0		
3	2	3	3	4	4	4	4	4	3	3	4	3	3	3	2	1	2	1	1	2	4	4	0	0		
3	2	3	4	3	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	2	1	2	2	1	2	4	3	0	0		
3	2	3	4	4	4	5	4	4	3	3	4	3	4	3	2	1	2	2	1	2	3	3	0	0		
2	2	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	3	3	2	1	1	2	2	2	3	3	0	0		
3	2	3	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	4	3	3	2	1	3	2	3	3	3	0	0		
3	2	3	4	4	4	5	4	4	3	3	4	3	3	3	2	1	1	3	2	3	3	3	0	0		
4	2	3	4	4	4	3	3	4	3	3	4	3	3	3	3	2	1	3	2	2	4	4	0	0		
3	2	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	3	3	3	2	1	2	2	2	3	3	0	0		
2	3	3	4	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	2	3	3	2	4	4	0	0		
3	3	3	4	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	2	3	3	2	4	4	0	0		
3	2	3	4	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	2	4	3	0	0		
2	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	4	3	2	1	2	2	1	2	4	3	0	0		
2	3	3	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	4	2	2	2	3	4	4	0	0		
2	3	3	4	4	4	4	3	4	3	3	4	3	4	3	3	4	1	2	2	3	4	4	0	0		
2	3	3	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	1	1	2	3	4	4	0	0		
2	3	3	4	4	4	3	3	4	3	3	3	3	4	4	2	2	1	1	2	3	4	4	0	0		
2	4	3	4	4	4	3	3	4	3	3	4	3	3	3	3	1	1	2	2	3	4	4	0	0		



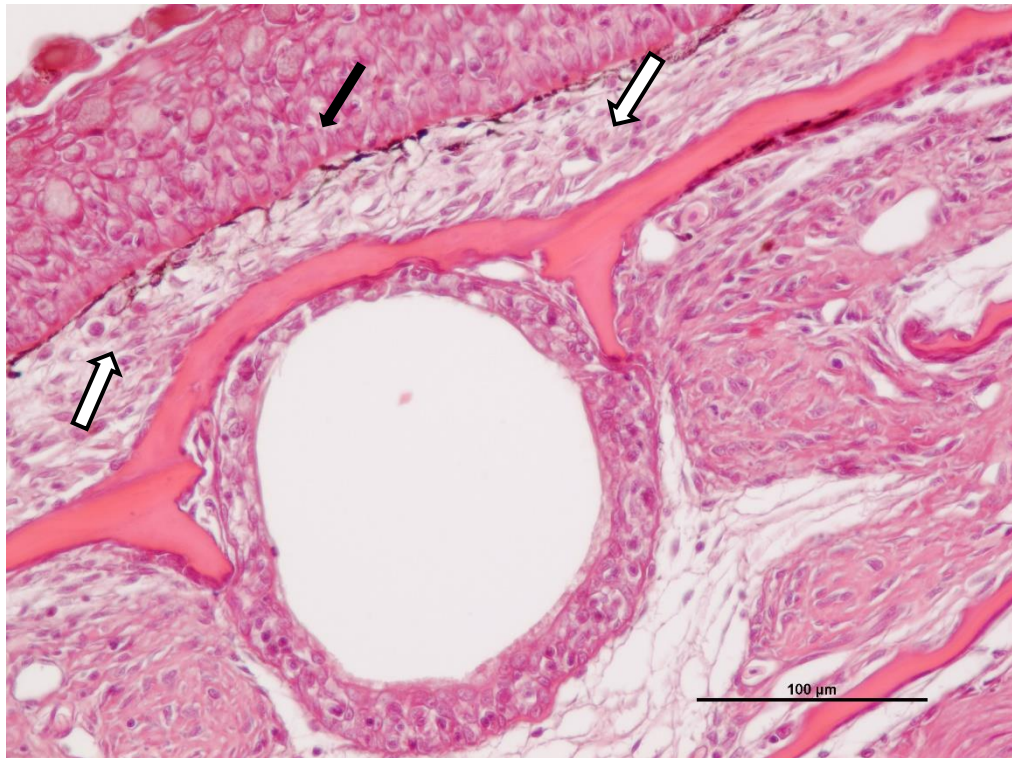


Ryc. 53) Skóra, grupa z jednokrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Miejscowy rozrost keratynocytów i komórek śluzowych w naskórku (biała strzałka) oraz niewielki naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie luźnej skóry właściwej (czarna strzałka). Barwienie HE.

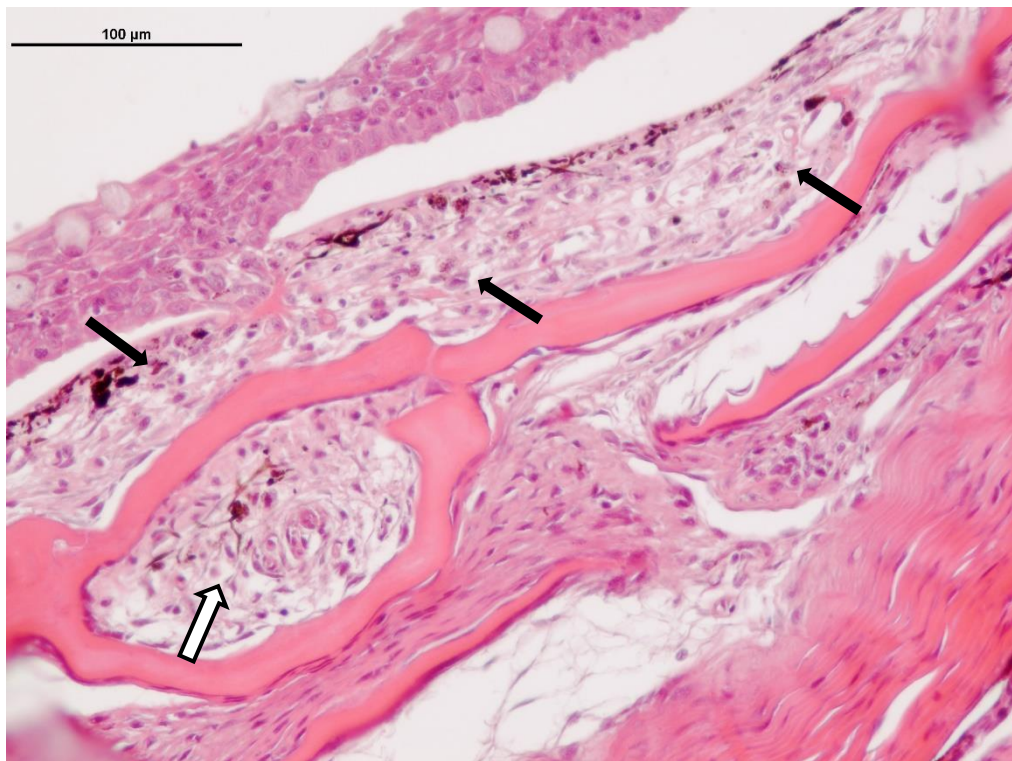


Ryc. 54) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Rozrost keratynocytów (czarna strzałka) oraz rozległy naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów w obrębie naskórka i warstwy luźnej skóry właściwej (główki strzałek). Barwienie HE.



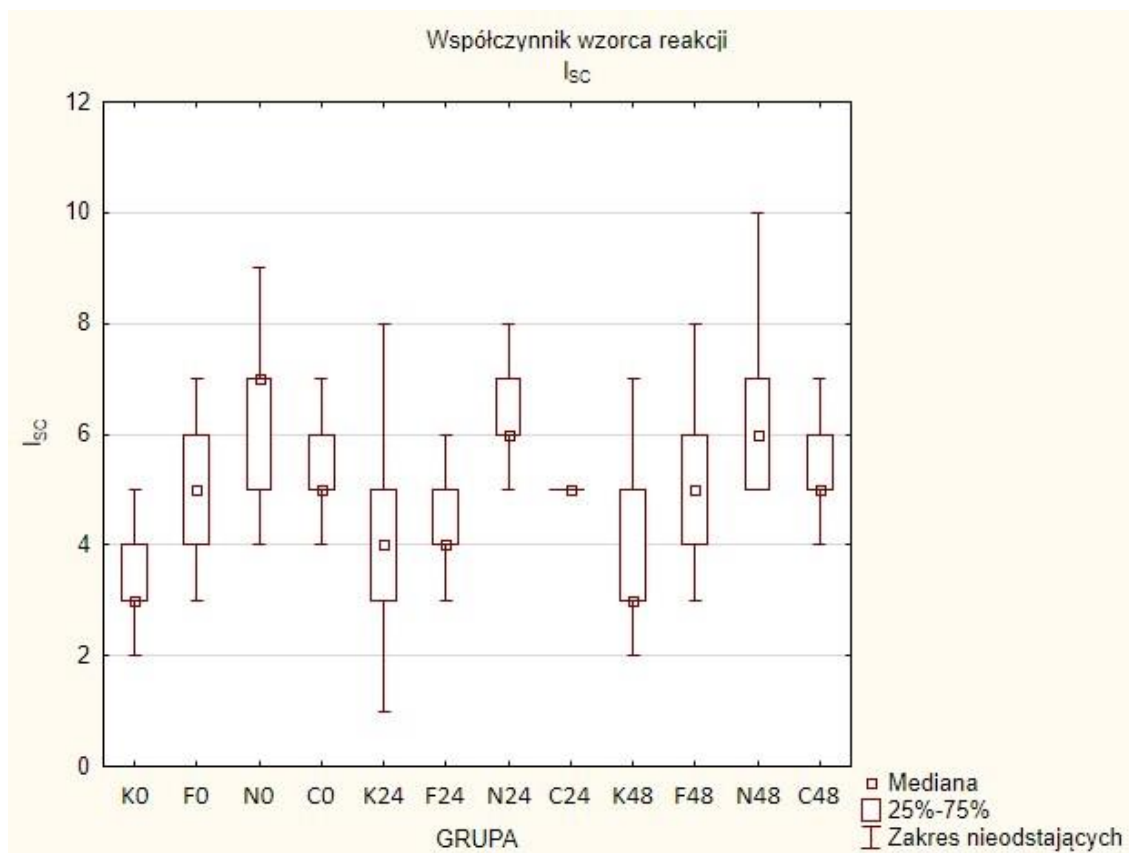


Ryc. 55) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z siarczanem miedzi, przekrój przez kanał linii nabocznej. Rozrost keratynocytów (czarna strzałka) oraz naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie luźnej skóry właściwej (biała strzałka). Barwienie HE.



Ryc. 56) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z siarczanem miedzi, przekrój przez kanał linii nabocznej. Naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów w świetle kanału linii nabocznej (biała strzałka) oraz w warstwie luźnej skóry właściwej (czarne strzałki). Barwienie HE.

### 6.3.2. Współczynniki wzorców reakcji i reakcji narządu



Ryc. 57) Współczynnik zaburzeń krążenia w skórze  $I_{sc}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zaburzeń krążenia  $I_{sc}$  pstrągów tęczowych w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 57. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 22. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 139,444 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

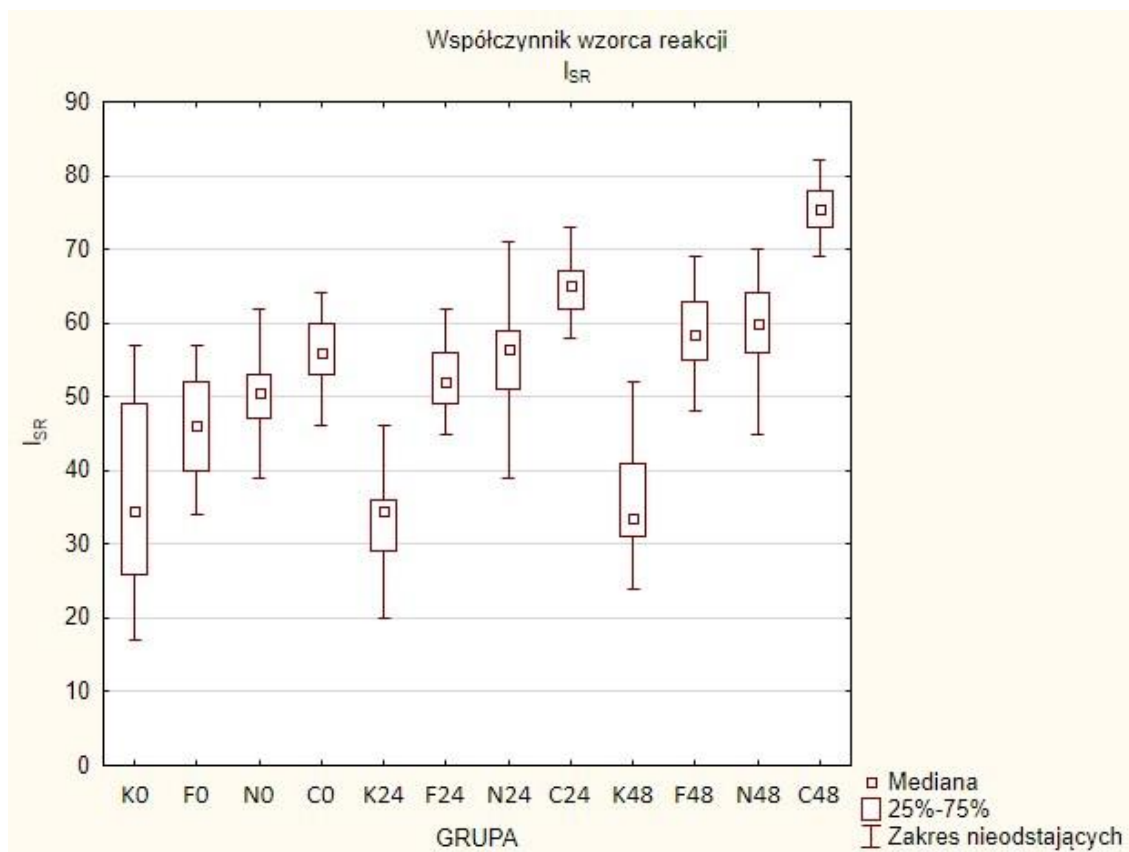
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 23, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 22) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zaburzeń krążenia w skórze I<sub>SC</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	2676,500	89,2167
<i>F0</i>	30	4590,500	153,0167
<i>N0</i>	30	8167,500	272,2500
<i>C0</i>	30	6165,000	205,5000
<i>K24</i>	30	3449,000	114,9667
<i>F24</i>	30	4384,000	146,1333
<i>N24</i>	30	8481,500	282,7167
<i>C24</i>	30	4973,500	165,7833
<i>K48</i>	30	2861,000	95,3667
<i>F48</i>	30	5622,000	187,4000
<i>N48</i>	30	7808,000	260,2667
<i>C48</i>	30	5801,500	193,3833

Tab. 23) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zaburzeń krążenia w skórze I<sub>SC</sub>.

<i>GRUPA</i>		<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z	2,374390										
	p	1,000000										
<i>N0</i>	Z	6,811795	4,437405									
	p	0,000000	0,000601									
<i>C0</i>	Z	4,327618	1,953227	2,484178								
	p	0,000995	1,000000	0,857016								
<i>K24</i>	Z	0,958316	1,416074	5,853480	3,369302							
	p	1,000000	1,000000	0,000000	0,049737							
<i>F24</i>	Z	2,118219	0,256171	4,693576	2,209399	1,159903						
	p	1,000000	1,000000	0,000177	1,000000	1,000000						
<i>N24</i>	Z	7,201324	4,826934	0,389529	2,873707	6,243009	5,083105					
	p	0,000000	0,000092	1,000000	0,267752	0,000000	0,000025					
<i>C24</i>	Z	2,849516	0,475126	3,962279	1,478101	1,891201	0,731297	4,351808				
	p	0,288986	1,000000	0,004900	1,000000	1,000000	1,000000	0,000891				
<i>K48</i>	Z	0,228879	2,145511	6,582916	4,098738	0,729436	1,889340	6,972445	2,620637			
	p	1,000000	1,000000	0,000000	0,002742	1,000000	1,000000	0,000000	0,579253			
<i>F48</i>	Z	3,654005	1,279615	3,157790	0,673612	2,695690	1,535786	3,547319	0,804489	3,425126		
	p	0,017040	1,000000	0,104920	1,000000	0,463604	1,000000	0,025685	1,000000	0,040558		
<i>N48</i>	Z	6,365822	3,991432	0,445973	2,038204	5,407506	4,247603	0,835502	3,516306	6,136943	2,711817	
	p	0,000000	0,004335	1,000000	1,000000	0,000004	0,001426	1,000000	0,028881	0,000000	0,441643	
<i>C48</i>	Z	3,876682	1,502292	2,935113	0,450936	2,918366	1,758463	3,324642	1,027166	3,647803	0,222677	2,489140
	p	0,006989	1,000000	0,220061	1,000000	0,232235	1,000000	0,058431	1,000000	0,017457	1,000000	0,845147



Ryc. 58) Współczynnik zmian wstecznych w skórze  $I_{SR}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zmian wstecznych  $I_{SR}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 58. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 24. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 272,970 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 25, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

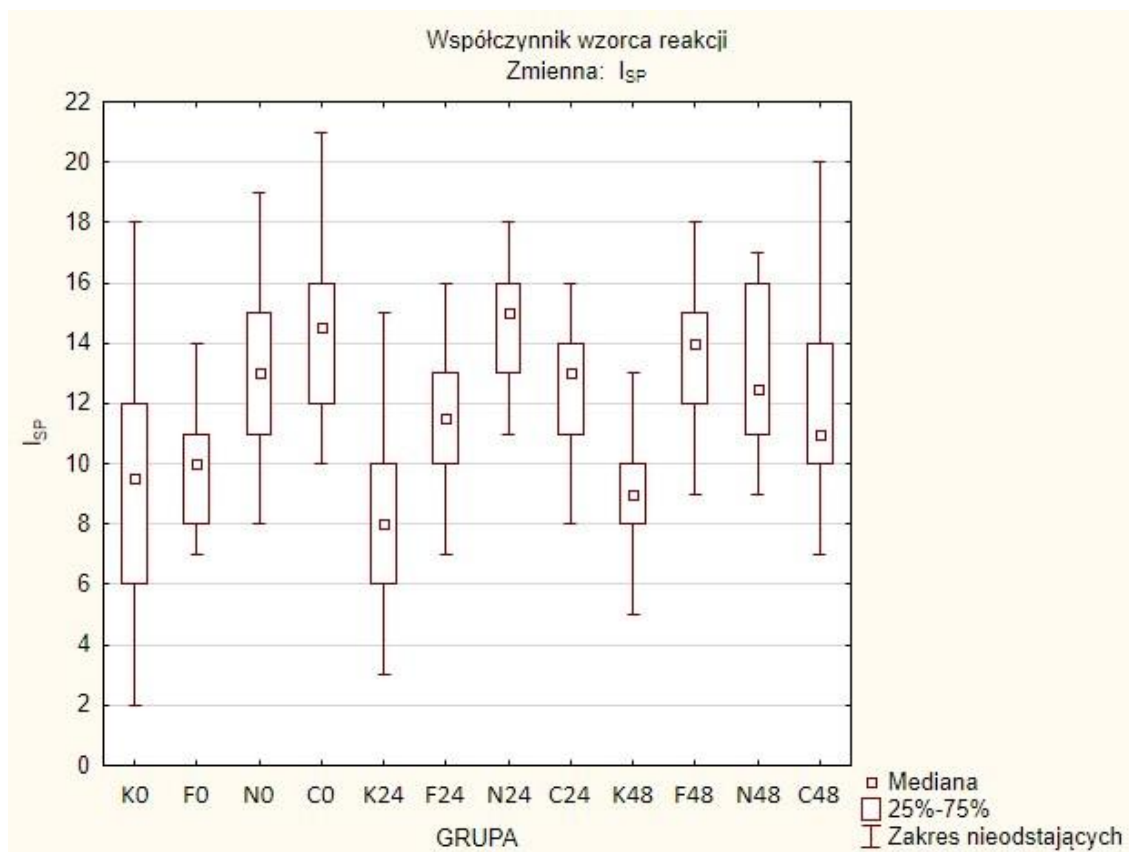
Tab. 24) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian wstecznych w skórze I<sub>SR</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	2118,50	70,6167
<i>F0</i>	30	3502,50	116,7500
<i>N0</i>	30	4525,00	150,8333
<i>C0</i>	30	6381,00	212,7000
<i>K24</i>	30	1621,00	54,0333
<i>F24</i>	30	5148,50	171,6167
<i>N24</i>	30	6130,00	204,3333
<i>C24</i>	30	8955,50	298,5167
<i>K48</i>	30	1699,50	56,6500
<i>F48</i>	30	7216,00	240,5333
<i>N48</i>	30	7367,50	245,5833
<i>C48</i>	30	10315,00	343,8333

Tab. 25) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian wstecznych w skórze I<sub>SR</sub>.

<i>GRUPA</i>		<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z	1,71690										
	p	1,000000										
<i>N0</i>	Z	2,98536	1,268450									
	p	0,186944	1,000000									
<i>C0</i>	Z	5,28779	3,570889	2,302439								
	p	0,000008	0,023481	1,000000								
<i>K24</i>	Z	0,61717	2,334073	3,602523	5,904962							
	p	1,000000	1,000000	0,020799	0,000000							
<i>F24</i>	Z	3,75883	2,041926	0,773476	1,528963	4,37600						
	p	0,011267	1,000000	1,000000	1,000000	0,000798						
<i>N24</i>	Z	4,97642	3,259514	1,991064	0,311375	5,59359	1,217588					
	p	0,000043	0,073658	1,000000	1,000000	0,000001	1,000000					
<i>C24</i>	Z	8,48156	6,764655	5,496205	3,193766	9,09873	4,722729	3,505141				
	p	0,000000	0,000000	0,000003	0,092684	0,000000	0,000154	0,030120				
<i>K48</i>	Z	0,51979	2,236690	3,505141	5,807580	0,09738	4,278616	5,496205	9,001345			
	p	1,000000	1,000000	0,030120	0,000000	1,000000	0,001241	0,000003	0,000000			
<i>F48</i>	Z	6,32364	4,606739	3,338288	1,035849	6,94081	2,564813	1,347224	2,157916	6,84343		
	p	0,000000	0,000270	0,055636	1,000000	0,000000	0,681328	1,000000	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z	6,51159	4,794680	3,526230	1,223791	7,12875	2,752754	1,535166	1,969975	7,03137		
	p	0,000000	0,000108	0,027820	1,000000	0,000000	0,390035	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	
<i>C48</i>	Z	10,16807	8,451167	7,182716	4,880277	10,78524	6,409241	5,191652	1,686512	10,68786	3,844428	3,656486
	p	0,000000	0,000000	0,000000	0,000070	0,000000	0,000000	0,000014	1,000000	0,000000	0,007975	0,016876





Ryc. 59) Współczynnik zmian postępowych w skórze  $I_{SP}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zmian wstecznych  $I_{SP}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 59. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 26. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 127,326 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 27, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

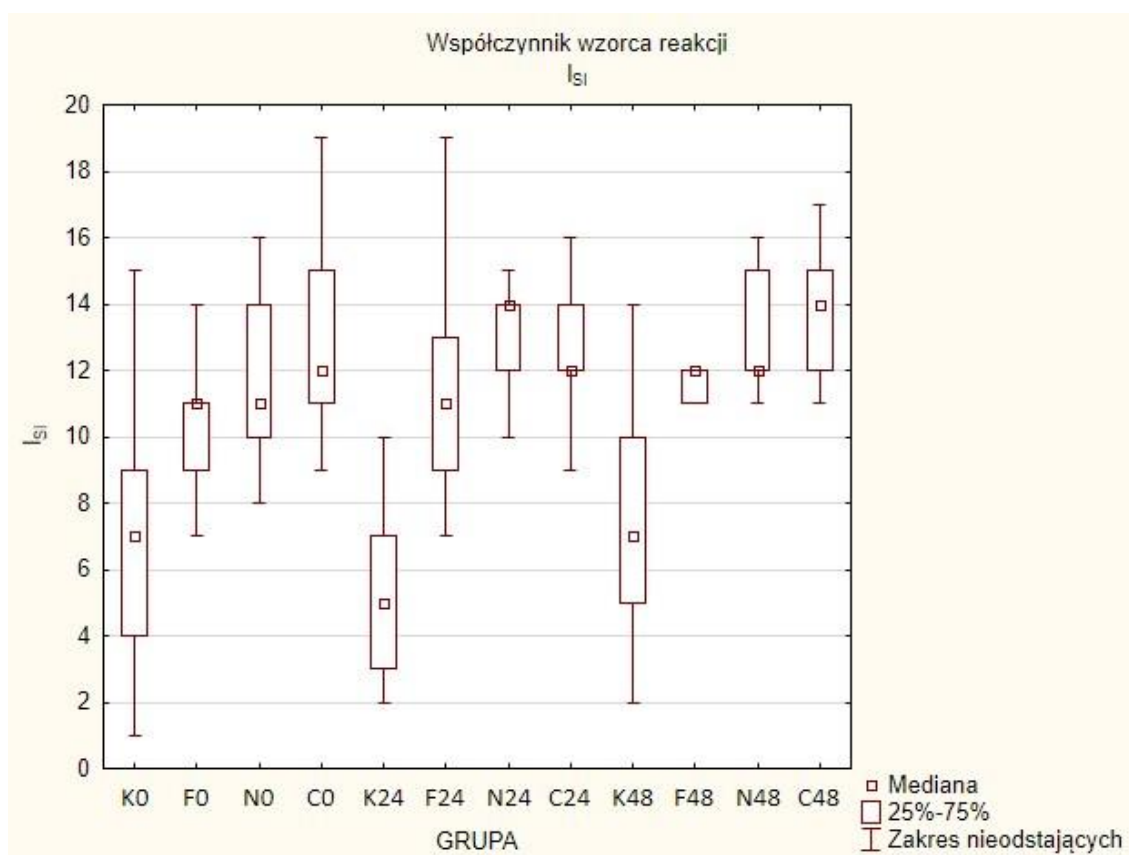
Tab. 26) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian postępowych w skórze I<sub>SP</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	3671,000	122,3667
<i>F0</i>	30	3487,500	116,2500
<i>N0</i>	30	6570,500	219,0167
<i>C0</i>	30	7749,500	258,3167
<i>K24</i>	30	2331,000	77,7000
<i>F24</i>	30	5222,500	174,0833
<i>N24</i>	30	7822,000	260,7333
<i>C24</i>	30	6270,000	209,0000
<i>K48</i>	30	2708,000	90,2667
<i>F48</i>	30	7151,000	238,3667
<i>N48</i>	30	6445,000	214,8333
<i>C48</i>	30	5552,000	185,0667

Tab. 27) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian postępowych w skórze I<sub>SP</sub>.

<i>GRUPA</i>		<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z	0,227639										
	p	1,000000										
<i>N0</i>	Z	3,596941	3,824579									
	p	0,021251	0,008646									
<i>C0</i>	Z	5,059535	5,287174	1,462595								
	p	0,000028	0,000008	1,000000								
<i>K24</i>	Z	1,662321	1,434682	5,259262	6,721856							
	p	1,000000	1,000000	0,000010	0,000000							
<i>F24</i>	Z	1,924695	2,152334	1,672246	3,134840	3,587016						
	p	1,000000	1,000000	1,000000	0,113486	0,022076						
<i>N24</i>	Z	5,149474	5,377113	1,552534	0,089939	6,811795	3,224779					
	p	0,000017	0,000005	1,000000	1,000000	0,000000	0,083206					
<i>C24</i>	Z	3,224159	3,451798	0,372782	1,835376	4,886480	1,299464	1,925315				
	p	0,083387	0,036753	1,000000	1,000000	0,000068	1,000000	1,000000				
<i>K48</i>	Z	1,194638	0,967000	4,791579	6,254173	0,467683	3,119333	6,344112	4,418797			
	p	1,000000	1,000000	0,000109	0,000000	1,000000	0,119632	0,000000	0,000655			
<i>F48</i>	Z	4,317073	4,544712	0,720132	0,742462	5,979394	2,392378	0,832401	1,092914	5,511711		
	p	0,001044	0,000363	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000002		
<i>N48</i>	Z	3,441253	3,668892	0,155688	1,618282	5,103574	1,516558	1,708221	0,217094	4,635891	0,875820	
	p	0,038216	0,016078	1,000000	1,000000	0,000022	1,000000	1,000000	1,000000	0,000235	1,000000	
<i>C48</i>	Z	2,333452	2,561091	1,263488	2,726083	3,995774	0,408757	2,816022	0,890706	3,528091	1,983621	1,107801
	p	1,000000	0,688670	1,000000	0,423000	0,004256	1,000000	0,320908	1,000000	0,027626	1,000000	1,000000





Ryc. 60) Współczynnik zmian zapalnych w skórze  $I_{Sl}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zmian zapalnych  $I_{Sl}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 60. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 28. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 180,254 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

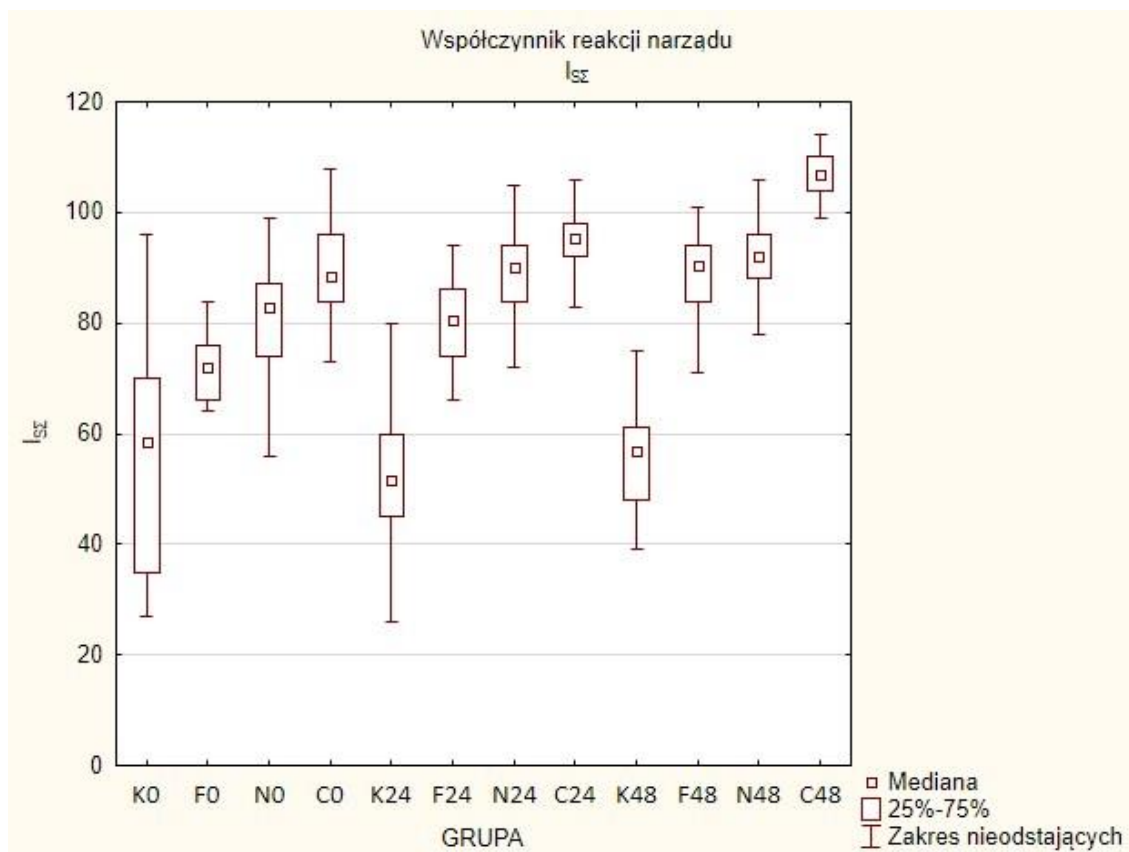
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 29, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 28) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian zapalnych w skórze  $I_{SI}$ .

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	2492,000	83,0667
<i>F0</i>	30	4613,000	153,7667
<i>N0</i>	30	5274,000	175,8000
<i>C0</i>	30	6977,000	232,5667
<i>K24</i>	30	1274,500	42,4833
<i>F24</i>	30	5801,500	193,3833
<i>N24</i>	30	7410,500	247,0167
<i>C24</i>	30	7205,000	240,1667
<i>K48</i>	30	2271,000	75,7000
<i>F48</i>	30	6155,500	205,1833
<i>N48</i>	30	7473,000	249,1000
<i>C48</i>	30	8033,000	267,7667

Tab. 29) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian zapalnych w skórze  $I_{SI}$ .

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z 2,631182										
	p 0,561585										
<i>N0</i>	Z 3,451177	0,819996									
	p 0,036838	1,000000									
<i>C0</i>	Z 5,563814	2,932632	2,112637								
	p 0,000002	0,221827	1,000000								
<i>K24</i>	Z 1,510355	4,141537	4,961533	7,074169							
	p 1,000000	0,002277	0,000046	0,000000							
<i>F24</i>	Z 4,105561	1,474380	0,654384	1,458253	5,615916						
	p 0,002662	1,000000	1,000000	1,000000	0,000001						
<i>N24</i>	Z 6,101587	3,470406	2,650410	0,537773	7,611942	1,996026					
	p 0,000000	0,034298	0,530602	1,000000	0,000000	1,000000					
<i>C24</i>	Z 5,846657	3,215475	2,395479	0,282843	7,357012	1,741095	0,254931				
	p 0,000000	0,085951	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000				
<i>K48</i>	Z 0,274159	2,905340	3,725336	5,837973	1,236196	4,379720	6,375746	6,120816			
	p 1,000000	0,242123	0,012874	0,000000	1,000000	0,000784	0,000000	0,000000			
<i>F48</i>	Z 4,544712	1,913530	1,093534	1,019102	6,055067	0,439151	1,556875	1,301945	4,818871		
	p 0,000363	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000095		
<i>N48</i>	Z 6,179121	3,547939	2,727944	0,615307	7,689476	2,073560	0,077534	0,332464	6,453280	1,634409	
	p 0,000000	0,025625	0,420621	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	
<i>C48</i>	Z 6,873822	4,242641	3,422645	1,310008	8,384178	2,768261	0,772235	1,027166	7,147981	2,329110	0,694701
	p 0,000000	0,001458	0,040930	1,000000	0,000000	0,371952	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000



Ryc. 61) Współczynnik reakcji skóry  $I_{\Sigma\Sigma}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika reakcji skóry  $I_{\Sigma\Sigma}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 61. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 30. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 273,670 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 31, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 30) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika reakcji skóry  $I_{\Sigma}$ .

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	2117,50	70,5833
<i>F0</i>	30	3200,00	106,6667
<i>N0</i>	30	5078,00	169,2667
<i>C0</i>	30	6864,50	228,8167
<i>K24</i>	30	1385,50	46,1833
<i>F24</i>	30	4907,50	163,5833
<i>N24</i>	30	6791,00	226,3667
<i>C24</i>	30	8359,00	278,6333
<i>K48</i>	30	1637,50	54,5833
<i>F48</i>	30	6969,50	232,3167
<i>N48</i>	30	7466,00	248,8667
<i>C48</i>	30	10204,00	340,1333

Tab. 31) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika reakcji skóry  $I_{\Sigma}$ .

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z 1,34288										
	p 1,000000										
<i>N0</i>	Z 3,67261	2,329731									
	p 0,015845	1,000000									
<i>C0</i>	Z 5,88883	4,545952	2,216222								
	p 0,000000	0,000361	1,000000								
<i>K24</i>	Z 0,90807	2,250957	4,580687	6,796909							
	p 1,000000	1,000000	0,000306	0,000000							
<i>F24</i>	Z 3,46110	2,118219	0,211512	2,427733	4,36918						
	p 0,035506	1,000000	1,000000	1,000000	0,000823						
<i>N24</i>	Z 5,79766	4,454773	2,125042	0,091180	6,70573	2,336554					
	p 0,000000	0,000554	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000					
<i>C24</i>	Z 7,74282	6,399937	4,070206	1,853984	8,65089	4,281718	1,945164				
	p 0,000000	0,000000	0,003100	1,000000	0,000000	0,001224	1,000000				
<i>K48</i>	Z 0,59546	1,938341	4,268072	6,484293	0,31262	4,056560	6,393114	8,338278			
	p 1,000000	1,000000	0,001301	0,000000	1,000000	0,003287	0,000000	0,000000			
<i>F48</i>	Z 6,01909	4,676209	2,346478	0,130257	6,92717	2,557990	0,221436	1,723728	6,61455		
	p 0,000000	0,000193	1,000000	1,000000	0,000000	0,694843	1,000000	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z 6,63502	5,292136	2,962405	0,746184	7,54309	3,173917	0,837363	1,107801	7,23048	0,615927	
	p 0,000000	0,000008	0,201462	1,000000	0,000000	0,099262	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	
<i>C48</i>	Z 10,03161	8,688730	6,358999	4,142777	10,93969	6,570511	4,233957	2,288793	10,62707	4,012521	3,396594
	p 0,000000	0,000000	0,000000	0,002265	0,000000	0,000000	0,001515	1,000000	0,000000	0,003965	0,045032

## 6.4. Ocena histopatologiczna skrzelii

### 6.4.1. Mapy ciepłne zmian

Tab. 32 przedstawia mapę ciepłą zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K0, na którą składają się powtórzenia KI, KII, KIII. Najintensywniejsze są zmiany postępowe w obrębie nabłonka, zmiany zapalne oraz zaburzenia krążenia. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach kontrolnych przedstawiono na Ryc. 62-63.

Tab. 32) Mapa ciepła obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne													Zmiany postępowe		Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe				
	Nabłonek							Tkanki podporowe						Nabłonek	Tkanki podporowe								
Krwotoki/przekrwienie/tętniak	Przesięk	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Matryca	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Matryca	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywacja układu fagocytarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
2	2	1	3	1	2	2	1	1	1	1	1	1	0	0	2	3	2	1	1	2	1	0	0
2	2	2	2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	0	0	2	2	2	1	1	2	1	0	0
2	1	2	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1	0	0	2	2	2	1	1	2	1	0	0
2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	3	2	1	2	2	1	0	0
2	1	1	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	0	0	2	2	1	1	1	2	1	0	0
2	1	1	1	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	0	1	2	2	1	1	2	2	0	0
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	2	2	1	1	2	1	0	0
2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	2	3	2	1	1	2	1	0	0
2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	3	2	1	1	2	2	0	0
3	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	0	0	2	3	2	2	1	3	3	0	0
2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	2	2	2	1	2	2	0	0
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	2	1	1	1	2	2	0	0
2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	2	3	2	2	1	3	2	0	0
3	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	0	0	2	2	2	2	1	2	2	0	0
3	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2	0	0
2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	3	2	2	2	1	2	2	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	2	1	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	2	1	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	2	1	2	1	2	1	0	0
2	3	2	2	1	2	1	1	1	2	2	1	1	0	0	3	2	2	1	1	3	2	0	0
2	2	2	2	1	2	1	1	2	2	2	1	1	0	0	3	2	2	1	1	3	2	0	0
2	3	2	2	1	2	1	1	2	2	2	1	1	0	0	3	2	2	1	1	3	2	0	0
4	3	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	1	1	2	2	2	0	0
3	3	2	2	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2	0	0
2	3	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	0	0	1	2	2	2	2	2	2	0	0
2	3	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
2	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	2	1	0	0

Tab. 33 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K24, na którą składają się powtórzenia KIV, KV, KVI. Najintensywniejsze są zmiany postępowe w obrębie nabłonka i tkanek podporowych, zmiany zapalne oraz zaburzenia krążenia.

Tab. 33) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

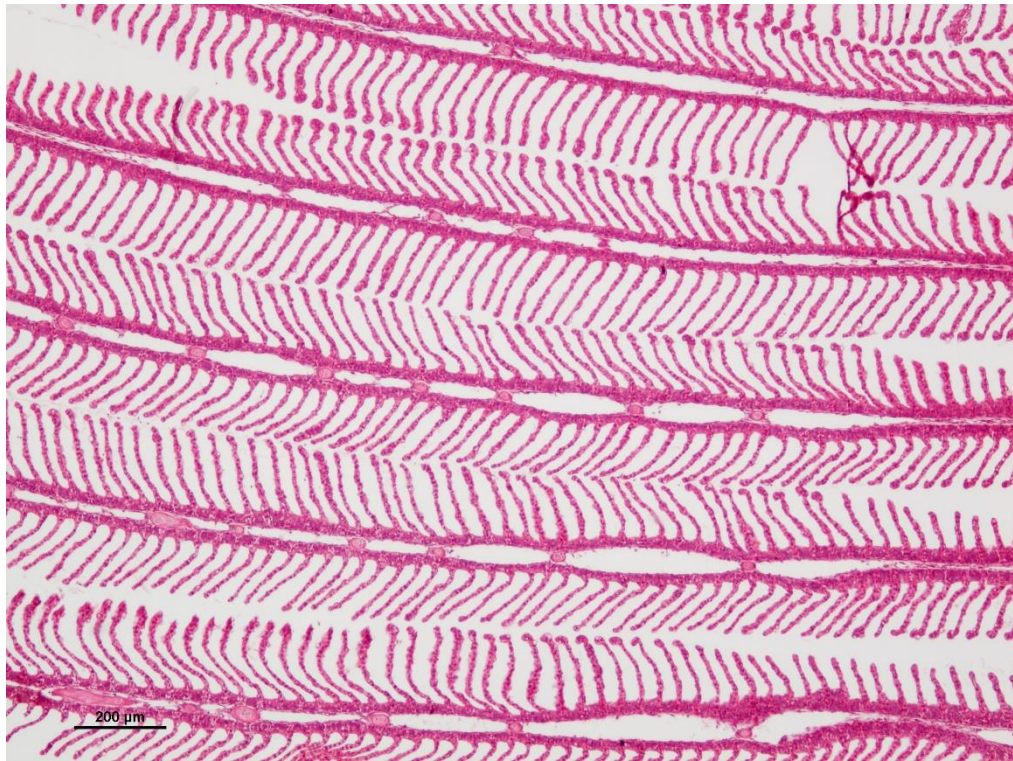
Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe		
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe							
	Przebieg	Kwadrant/ przekierowanie/ tętniak	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywność układu limfocytarnego	Naciek zapalny	Nowootwór łagodny	Nowootwór złośliwy
2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	2	1	0	0
2	3	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2	0	0
2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	1	0	0
2	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	2	2	0	0
2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	2	1	0	0
2	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	1	0	0
2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	3	2	0	0
2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	3	2	0	0
2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	1	1	2	2	0	0
2	1	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
4	3	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2	0	0
3	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	2	2	0	0
2	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2	0	0
2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	2	1	0	0
2	1	3	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	4	2	2	2	1	3	3	0	0
2	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2	0	0
3	2	3	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	3	2	2	2	1	2	1	0	0
3	2	3	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2	0	0
2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	2	1	2	2	0	0
2	3	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	1	2	1	2	2	0	0
2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	2	1	2	2	0	0
3	2	2	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	0	0	2	2	2	2	1	3	2	0	0
3	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2	0	0
3	2	2	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2	0	0
2	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2	0	0
3	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	0	0	2	2	2	2	1	3	2	0	0
3	3	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2	0	0

Tab. 34 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K48, na którą składają się powtórzenia KVII, KVIII, KIX. Najintensywniejsze są zmiany związane z zaburzeniami krążenia, zmiany zapalne oraz zmiany postępowe w obrębie nabłonka i tkanek podporowych.

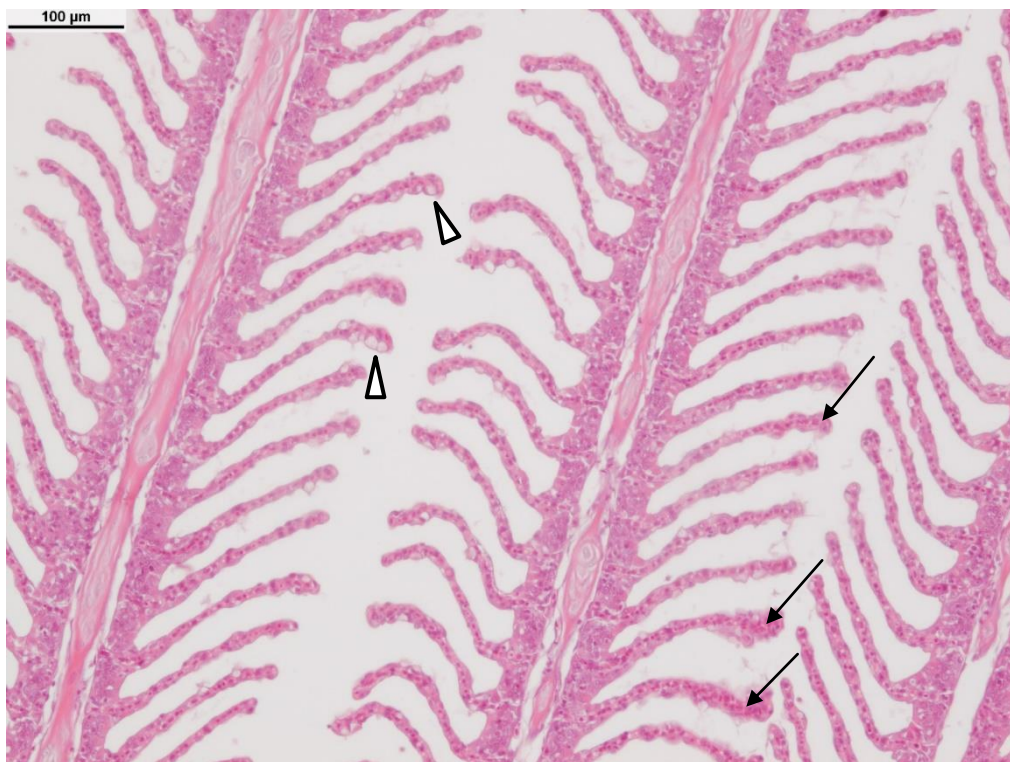
Tab. 34) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe		Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe	
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek	Tkanki podporowe					
	Kwadrant / przekierowanie / tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Zanik	Martwica	Zmiany w jądach komórkowych	Gromadzenie substancji	Zmiany w cytoplazmie	Zmiany morfologiczne i strukturalne							
3	2	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
3	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2
3	2	2	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	2	2
3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
3	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	2	2
3	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	2	2
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
3	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	1	1	2	2
3	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2
2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
3	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2
3	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2
3	3	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	3
2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	1	1	2	2
2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	3	2
3	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	1	0	0	2	1	2	1	1	2	2
2	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	3	2
2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2
3	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1	0	0	2	2	2	2	1	3	2
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
2	3	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2
3	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	1	1	2	2	1	3	2
3	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	2	1	2	2	1	3	2
3	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	2	2
3	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	1	1	2	1	1	3	2





Ryc. 62) Skrzela, grupa kontrolna. Prawidłowa morfologia narządu. Barwienie HE.



Ryc. 63) Skrzela, grupa kontrolna. Listki skrzelowe z regularnie rozmieszczonymi blaszkami skrzelowymi; słabo zaznaczone zmiany histopatologiczne - poszerzenie dystalnych fragmentów blaszek oddechowych (strzałki), zwiększenie objętości komórek kubkowych śluzowych (główki strzałek) i słabo wyrażony rozrost komórek warstwy rozrodczej, wywołany hipoksją. Barwienie HE.

Tab. 35 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F0, na którą składają się powtórzenia FI, FII, FIII. Najintensywniejsze są zaburzenia krążenia, zmiany zapalne i zmiany wsteczne w obrębie nabłonka. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach z kąpielą z dodatkiem formaldehydu przedstawiono na Ryc. 64-67.

Tab. 35) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe	
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe						
Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Marwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Marwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywacja układu fagocytarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
2	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	0	0	2	2	2	1	1	2	2	0	0
3	4	3	3	3	2	1	2	4	2	2	1	1	0	1	2	2	2	2	2	3	2	0	0
3	3	3	3	3	2	1	2	3	2	2	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	2	0	0
3	3	3	3	3	2	1	2	3	2	2	1	1	0	1	3	2	2	2	2	3	3	0	0
3	4	3	3	3	2	1	2	4	2	2	1	1	0	1	3	3	2	2	2	3	2	0	0
2	2	2	2	2	1	1	2	3	2	2	1	1	0	0	1	2	2	2	2	3	2	0	0
2	3	3	3	2	2	2	3	4	2	2	2	1	0	1	3	2	2	2	3	3	2	0	0
3	2	3	3	2	2	2	2	3	2	2	2	1	0	1	3	2	2	2	1	3	2	0	0
3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	2	2	1	0	1	3	3	2	3	2	3	3	0	0
3	4	3	3	2	2	2	3	3	2	2	2	1	0	1	3	3	2	2	2	3	3	0	0
3	3	3	4	3	3	2	3	3	3	2	3	2	1	3	3	2	2	3	3	3	4	0	0
3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	3	2	1	2	3	2	2	3	1	3	3	0	0
3	2	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1	1	0	0	1	2	2	3	2	3	2	0	0
3	2	3	3	3	2	2	3	3	3	2	1	1	1	1	3	2	2	3	1	3	3	0	0
3	3	2	3	3	2	2	3	3	3	2	1	1	0	0	3	2	2	2	1	3	3	0	0
3	2	3	3	3	2	2	3	3	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	3	3	3	0	0
3	2	3	2	2	2	2	3	3	2	2	1	1	0	1	2	2	2	2	2	3	2	0	0
3	4	3	2	3	2	2	3	3	2	2	1	1	0	1	3	2	2	2	2	3	3	0	0
3	2	3	3	3	2	2	3	3	2	2	1	2	0	1	3	2	2	2	1	3	2	0	0
3	3	3	3	3	2	2	3	4	2	2	1	1	1	1	3	2	2	3	2	3	2	0	0
3	4	3	3	3	2	3	3	3	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	3	3	2	0	0
3	4	3	3	3	2	3	3	4	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	2	3	3	0	0
3	4	3	2	3	2	2	3	3	3	2	1	1	1	1	3	2	2	3	2	3	3	0	0
3	4	3	3	3	3	2	3	4	3	2	1	1	1	1	2	2	2	3	2	3	4	0	0
3	4	3	3	2	3	2	3	4	3	2	1	1	0	1	1	2	2	2	2	3	3	0	0
3	4	3	3	2	3	3	3	4	2	2	2	1	0	1	1	2	2	2	2	3	3	0	0
3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	2	1	1	0	1	1	2	2	2	2	3	3	0	0
4	3	3	2	3	2	2	3	4	2	2	2	1	1	2	3	2	2	2	2	3	4	0	0
3	4	3	2	3	2	2	3	4	3	2	2	1	1	2	2	2	1	1	2	3	4	0	0
3	4	3	3	3	2	2	3	4	3	2	2	1	1	2	3	2	2	2	2	3	4	0	0

Tab. 36 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F24, na którą składają się powtórzenia FIV, FV, FVI. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zaburzenia krążenia i zmiany wsteczne w obrębie nabłonka.

Tab. 36) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

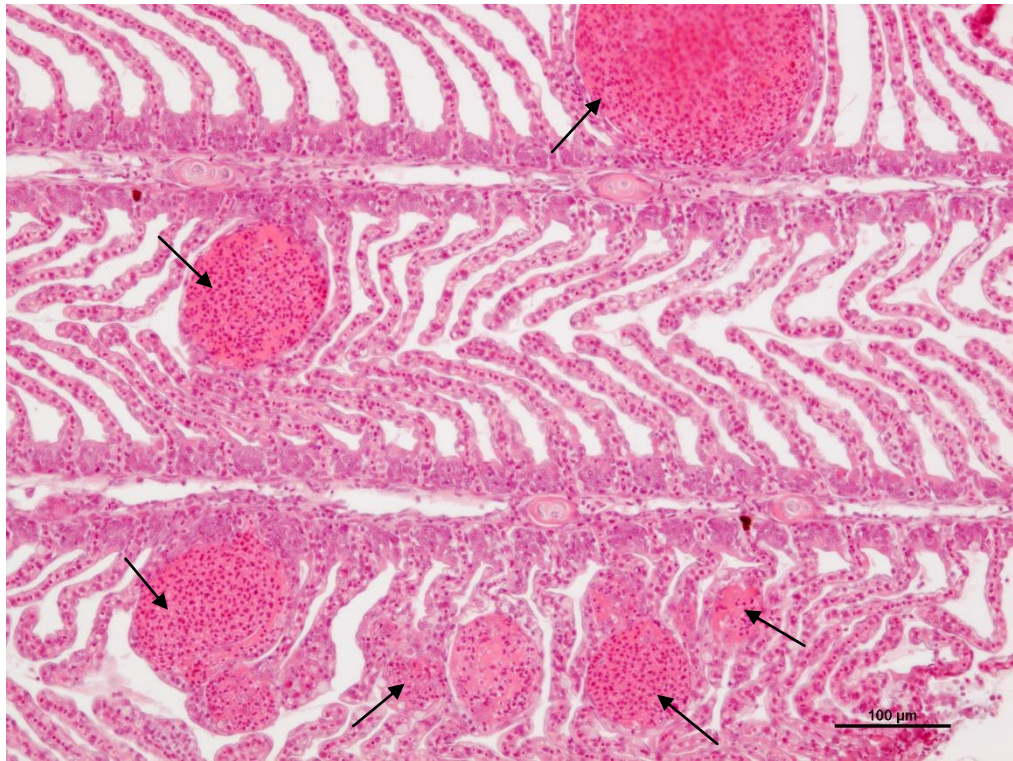
Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe			
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe								
Kwadrant / przekierowanie / tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywność układu fagocytycznego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	3	3	0	0
4	3	3	3	3	2	2	2	4	3	2	2	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	3	3	0	0
3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	4	0	0
3	3	3	3	3	2	3	3	4	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	2	0	0
4	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	3	2	2	3	3	3	3	3	2	0	0
4	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	3	2	2	3	3	3	4	2	0	0	
5	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	3	2	2	3	3	3	4	2	0	0	
3	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	3	3	4	2	0	0	
3	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	3	3	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	1	2	2	3	2	3	3	3	3	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	2	1	2	2	3	2	3	3	3	3	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	2	2	3	3	3	4	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	3	3	4	3	2	2	1	2	2	3	2	3	3	3	4	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	2	2	3	3	3	4	4	3	0	0	
3	3	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	3	3	2	3	3	3	4	3	3	0	0	
4	4	3	3	3	2	3	4	3	3	2	2	1	2	3	2	2	2	3	3	4	3	3	0	0	
3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	2	3	2	2	3	3	3	4	3	0	0	
3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	2	1	2	2	3	3	3	3	3	4	3	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	3	4	4	3	2	2	1	1	2	3	2	2	3	3	4	3	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	2	3	4	3	3	3	4	4	0	0	
3	3	3	3	2	2	3	5	3	3	2	2	2	1	1	2	2	2	3	3	4	3	3	0	0	
3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	2	2	1	1	3	3	3	3	3	4	4	3	0	0	
3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	2	1	2	2	3	3	3	4	3	4	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	2	1	1	2	3	2	2	3	3	4	4	0	0	
3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	1	1	2	3	4	3	4	3	4	4	3	0	0	
3	2	3	3	3	2	3	5	3	3	2	2	1	1	3	3	3	3	3	3	3	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	1	2	3	4	3	3	3	4	3	0	0	
3	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	2	2	3	3	3	3	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	3	3	3	3	3	3	4	4	0	0	

Tab. 37 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F48, na którą składają się powtórzenia FVII, FVIII, FIX. Najintensywniejsze są zmiany związane z zaburzeniami krążenia, zmiany zapalne oraz zmiany postępowe w obrębie nabłonka i tkanek podporowych.

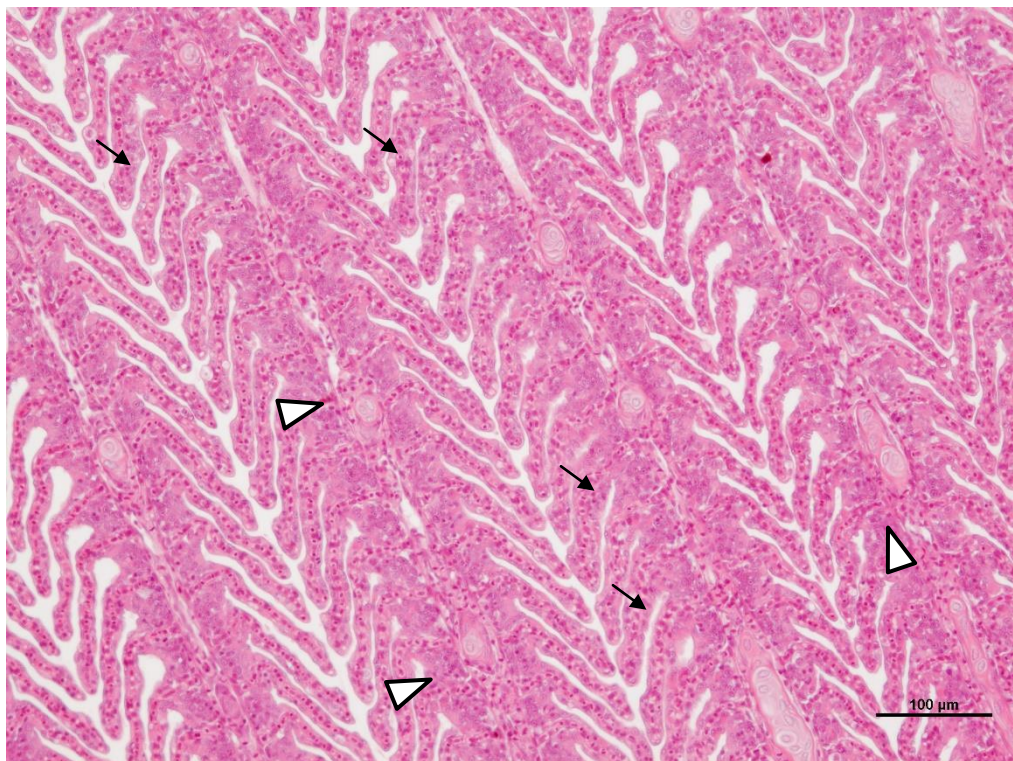
Tab. 37) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe			
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe								
	Przebieg	Kwadrant / przekierowanie / tętniak	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywność układu limfocytarnego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	3	3	2	2	3	3	3	4	4	0	0
3	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	1	1	1	2	3	4	3	3	3	3	4	4	0	0
4	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	1	1	1	2	2	3	3	3	3	4	4	4	0	0
3	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	4	3	0	0
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	3	3	3	3	3	3	3	4	4	0	0
3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	4	3	0	0
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	3	3	3	3	3	3	4	4	3	0	0
4	2	2	2	2	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	3	2	2	2	2	2	4	4	3	0	0
3	2	2	2	2	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	3	2	2	2	2	2	4	4	3	0	0
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	3	3	3	3	4	3	3	4	3	0	0
4	2	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	1	2	3	3	3	3	3	3	3	4	3	0	0
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	3	2	2	3	3	4	4	5	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	3	3	2	2	3	3	4	4	0	0	
4	3	2	2	2	2	2	2	3	3	3	2	1	1	2	3	2	2	2	2	4	4	3	0	0	
4	4	3	3	3	2	2	3	3	4	3	2	1	1	2	3	3	2	2	2	4	4	3	0	0	
4	4	3	3	3	2	2	3	5	4	3	2	1	1	2	2	3	4	3	3	3	4	3	0	0	
4	4	3	3	3	2	2	3	5	4	3	2	1	1	3	3	3	3	2	2	5	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	5	4	3	2	1	1	2	2	3	2	2	2	3	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	2	3	2	2	3	4	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	2	4	3	2	3	4	4	4	0	0	
5	3	4	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	3	4	5	2	3	3	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	3	2	3	2	3	5	4	3	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	1	2	3	4	3	3	2	3	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	5	4	4	0	0	
4	3	3	3	3	2	2	3	4	4	3	2	2	1	2	3	3	2	2	3	3	4	4	0	0	



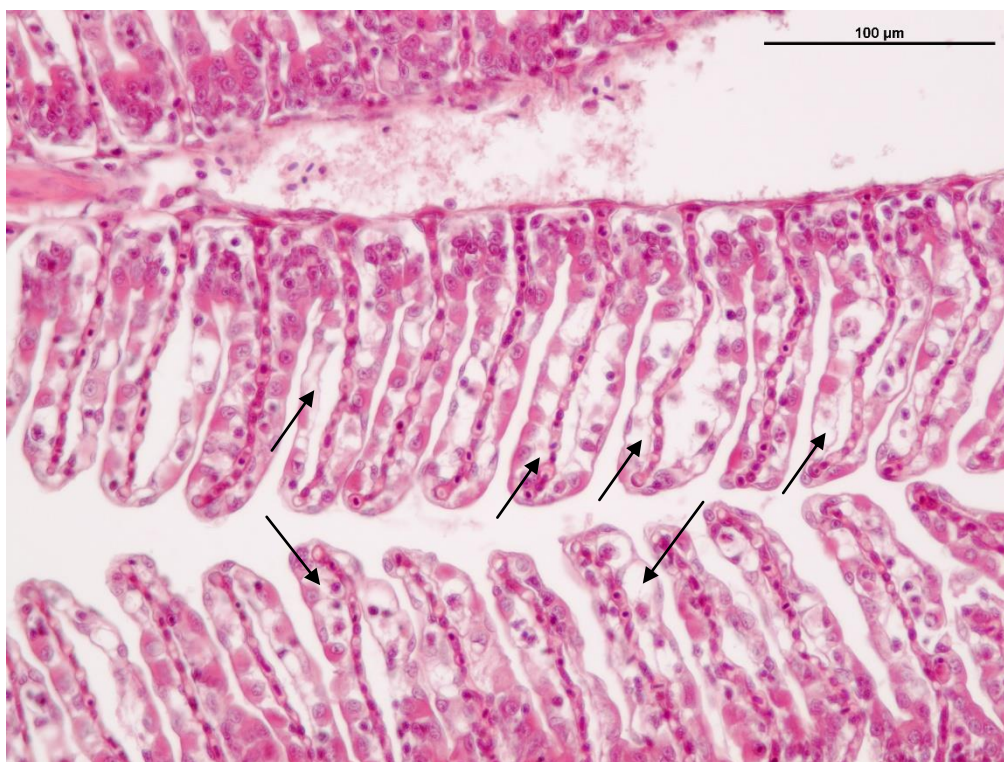


Ryc. 64) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Liczne tętniaki (strzałki), prowadzące do uszkodzenia struktury blaszek. Barwienie HE.

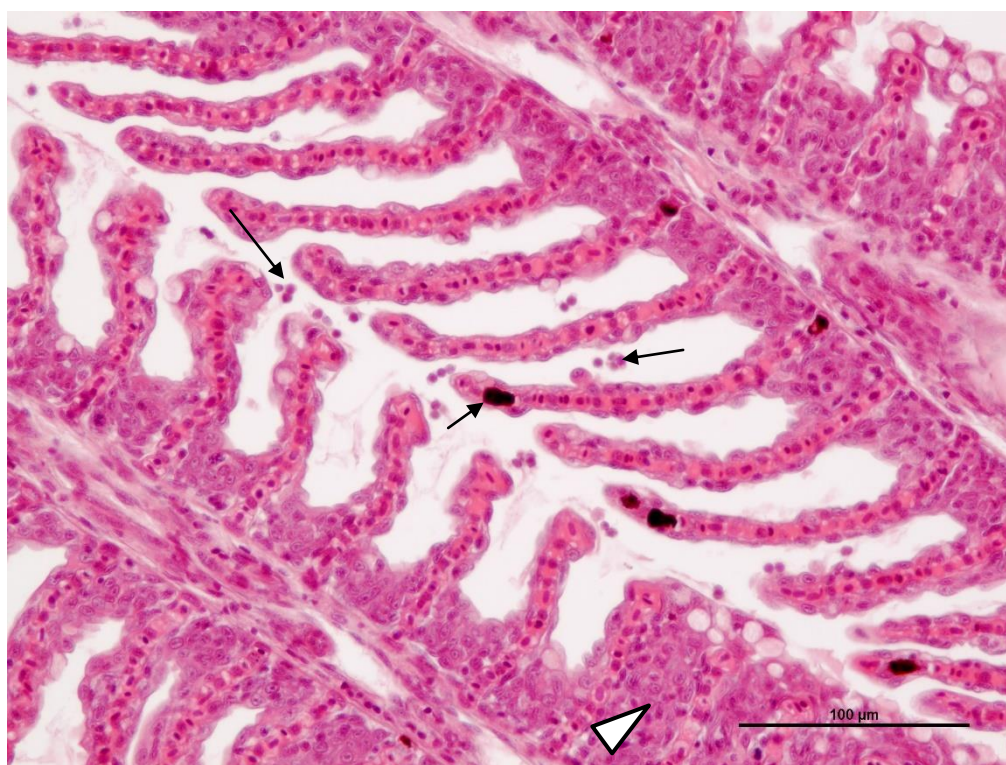


Ryc. 65) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z formaldehydem. Przerost i rozrost w obrębie nabłonka blaszek (strzałki) oraz bazalnych komórek nie zróżnicowanych (główki strzałek). Barwienie HE.





Ryc. 66) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Widoczny przesiek i obrzęk blaszek oraz w obrębie listka skrzelowego (strzałki). Barwienie HE.



Ryc. 67) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Naciek zapalny z komórek limfoidalnych, neutrofilów i melanomakrofagów (strzałki). W prawym dolnym rogu widoczny rozrost, prowadzący do zlania się blaszek (główki strzałek). Barwienie HE.



Tab. 38 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N0, na którą składają się powtórzenia NI, NII, NIII. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zaburzenia krążenia i zmiany postępowe w obrębie nabłonka oraz tkanek podporowych. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach z kąpielą z dodatkiem chlorku sodu przedstawiono na Ryc. 68-71.

Tab. 38) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe	
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe						
Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Mortwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Mortwica	Przebieg	Rozrost	Przebieg	Rozrost	Wysięk	Aktywność układu limfocytarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
4	2	3	3	1	1	1	3	3	2	2	1	1	0	1	3	2	2	3	4	3	3	0	0
3	2	3	3	2	1	1	3	3	2	2	1	1	0	1	3	2	2	3	2	3	2	0	0
3	2	2	3	2	1	1	3	3	2	2	1	1	0	1	2	2	2	2	2	3	2	0	0
3	2	3	3	2	1	2	4	3	2	2	1	1	1	3	3	2	2	2	2	4	3	0	0
3	2	3	3	2	1	2	3	3	2	2	1	1	1	2	3	2	3	4	2	3	3	0	0
3	2	2	2	2	1	2	3	3	2	2	1	1	0	1	3	2	2	3	2	3	2	0	0
3	1	2	2	1	1	2	3	3	2	2	1	1	0	1	2	1	2	3	2	3	2	0	0
3	2	2	2	1	1	2	3	3	2	2	1	1	1	2	3	2	3	2	3	3	2	0	0
3	2	2	2	1	1	2	4	3	2	2	1	1	2	3	3	2	2	2	4	3	2	0	0
3	2	2	2	1	1	2	3	3	2	2	1	1	0	1	3	3	2	3	4	3	2	0	0
4	2	2	2	1	1	3	3	3	2	2	1	1	1	2	3	2	2	3	3	3	3	0	0
2	1	2	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	2	2	0	0
3	2	3	2	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1	2	3	2	2	3	2	4	4	0	0
3	2	3	2	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1	2	3	2	2	3	2	3	3	0	0
3	2	3	2	1	1	2	3	3	3	3	1	1	1	2	3	3	3	3	4	3	2	0	0
2	2	3	2	1	1	2	2	3	3	2	1	1	1	2	4	3	4	3	2	3	2	0	0
3	2	3	2	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1	2	3	1	3	2	4	3	2	0	0
4	4	3	2	1	1	2	3	3	3	2	1	1	2	2	3	2	2	3	2	3	2	0	0
3	2	2	2	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1	2	2	1	2	2	4	3	2	0	0
4	2	2	2	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	0	0
3	4	3	3	1	2	2	3	3	3	2	2	1	1	2	3	2	2	2	3	3	3	0	0
3	4	3	3	1	2	2	3	3	3	2	2	1	1	2	3	2	2	3	2	3	2	0	0
4	3	3	3	1	2	2	3	3	3	2	1	1	2	2	3	2	3	2	4	3	2	0	0
4	3	3	3	1	2	2	3	3	2	2	1	1	2	2	3	2	3	2	4	3	2	0	0
3	4	3	3	1	2	2	3	3	3	3	1	1	1	2	3	2	3	2	2	3	2	0	0
3	4	3	3	1	1	2	3	4	3	2	1	1	2	3	3	2	2	2	2	3	2	0	0
3	4	3	3	1	2	2	3	3	3	3	1	1	2	3	2	2	2	2	2	3	2	0	0
3	5	4	3	1	2	2	3	4	3	3	1	1	2	3	2	2	2	3	2	3	3	0	0
4	4	3	2	1	1	2	2	3	3	2	1	1	1	2	3	2	2	2	3	3	2	0	0
3	5	4	3	1	2	3	3	4	3	3	1	1	2	3	2	2	3	3	2	3	3	0	0

Tab. 39 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N24, na którą składają się powtórzenia NIV, NV, NVI. Najintensywniejsze są zmiany wsteczne w obrębie nabłonka, zmiany zapalne i zaburzenia krążenia.

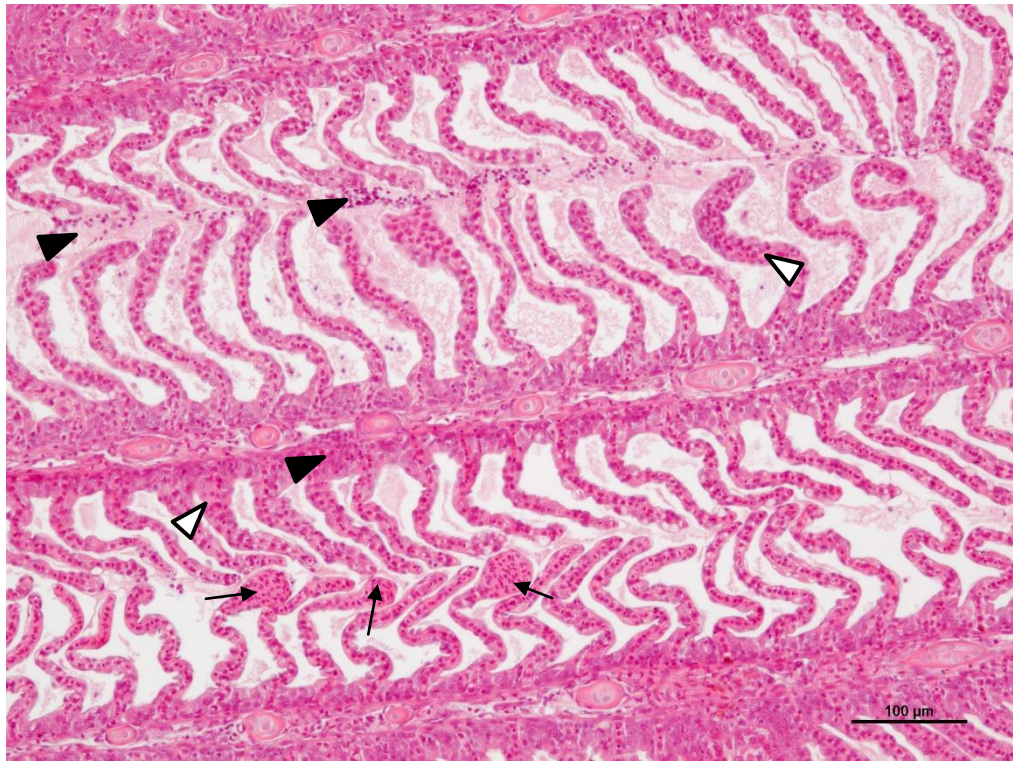
Tab. 39) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowo- tworowe		
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe							
	Kwadrant/ przekierowanie/ tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywność układu limfocytarnego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
4	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	3	1	2	2	2	3	2	2	3	3	3	2	0	0
4	3	3	3	3	1	2	3	4	3	3	3	1	2	2	3	2	2	2	3	3	3	2	0	0
3	3	3	3	4	1	2	3	4	4	3	3	1	2	2	3	3	2	2	2	3	3	2	0	0
3	3	3	3	4	2	2	3	4	4	3	3	1	2	2	3	2	1	2	3	2	3	2	0	0
3	2	3	3	3	1	2	3	3	3	3	2	1	1	2	3	2	1	2	2	3	3	3	0	0
3	2	3	3	4	1	2	3	4	3	3	2	1	1	2	3	2	1	2	2	3	3	2	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	3	3	3	2	1	1	2	3	3	2	2	3	3	3	3	0	0
3	2	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	1	1	2	3	3	2	2	2	3	3	2	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	3	1	1	2	2	2	3	2	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	3	2	1	2	2	3	2	1	2	3	2	3	2	0	0
4	2	3	3	4	1	2	3	3	3	3	2	1	1	2	3	2	2	2	3	3	3	2	0	0
3	2	3	3	4	1	2	3	4	3	3	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	3	4	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	2	3	2	0	0
2	2	2	2	2	1	2	2	2	3	3	2	1	1	2	2	1	1	2	2	2	3	3	0	0
2	2	2	2	2	1	2	2	3	3	3	2	1	2	2	3	2	1	2	2	2	3	3	0	0
2	2	3	2	2	2	2	2	3	3	3	2	1	2	2	3	2	2	2	2	2	3	3	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	0	0
3	2	3	3	3	2	2	3	4	3	2	2	1	1	2	2	3	2	2	2	4	3	3	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	2	2	1	1	2	3	3	2	2	3	3	3	3	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	2	2	1	1	2	3	2	1	2	3	4	3	3	0	0
3	2	3	3	4	1	2	2	3	3	2	2	1	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	0	0
2	2	2	2	2	1	1	2	3	2	2	2	1	1	1	2	1	1	2	2	4	3	2	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	3	3	3	2	1	2	2	2	2	2	2	3	2	3	3	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	3	2	1	1	2	2	3	2	3	2	2	3	3	0	0
3	2	3	3	4	1	2	3	4	3	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	0	0
3	2	3	3	4	2	2	2	3	3	2	2	1	1	2	2	2	2	3	2	4	3	2	0	0
3	2	3	3	4	2	2	3	3	3	3	2	1	1	2	2	3	2	3	3	3	3	2	0	0
3	2	2	2	4	1	2	3	3	3	3	2	1	2	2	3	3	2	2	2	2	3	3	0	0
4	2	2	2	3	1	2	2	3	3	2	2	1	1	1	2	1	1	2	2	3	3	2	0	0
3	3	3	3	4	2	2	2	3	3	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	4	3	2	0	0

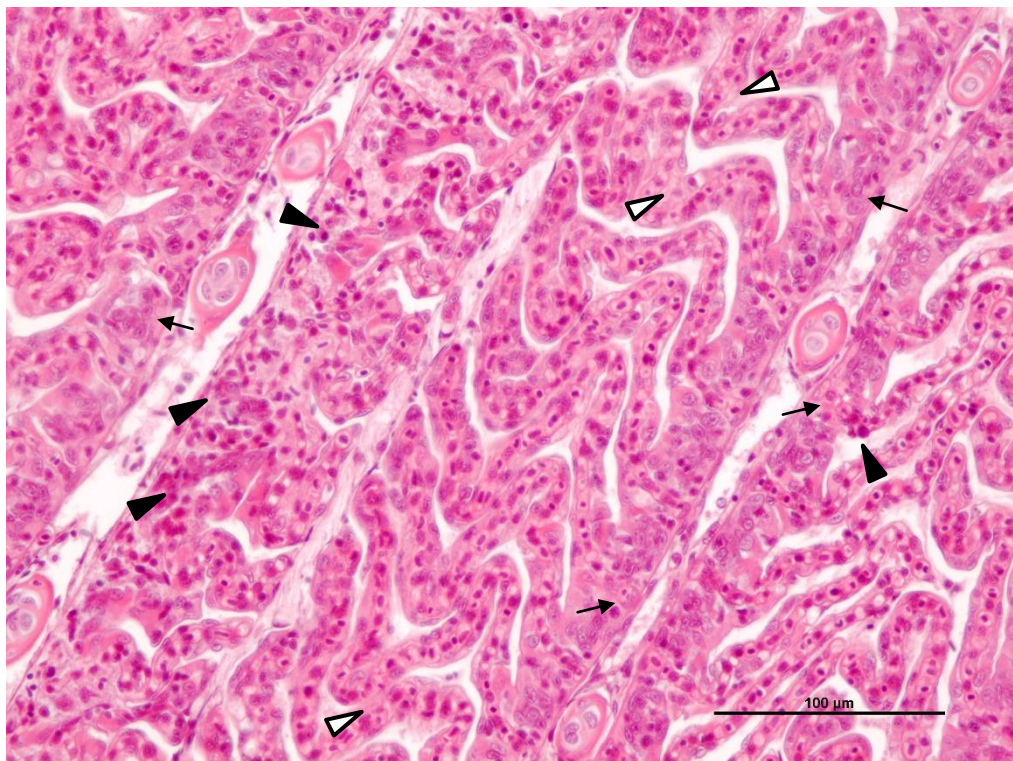
Tab. 40 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N48, na którą składają się powtórzenia NVII, NVIII, NIX. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zmiany związane z zaburzeniami krążenia, oraz zmiany wsteczne w obrębie nabłonka.

Tab. 40) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															

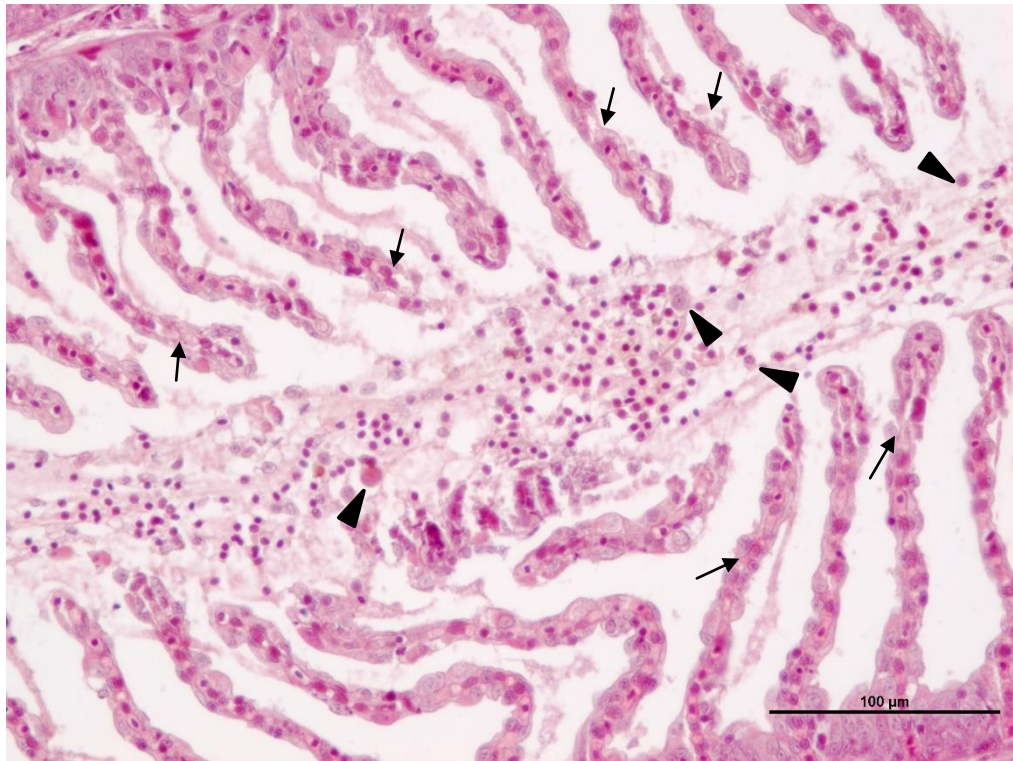


Ryc. 68) Skrzela, grupa z jednokrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Tętniaki uszkodzające dystalne części blaszek (strzałki), wysięk i naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów (czarne główki strzałek) oraz przerost i rozrost nabłonka blaszek (białe główki strzałek). Barwienie HE.

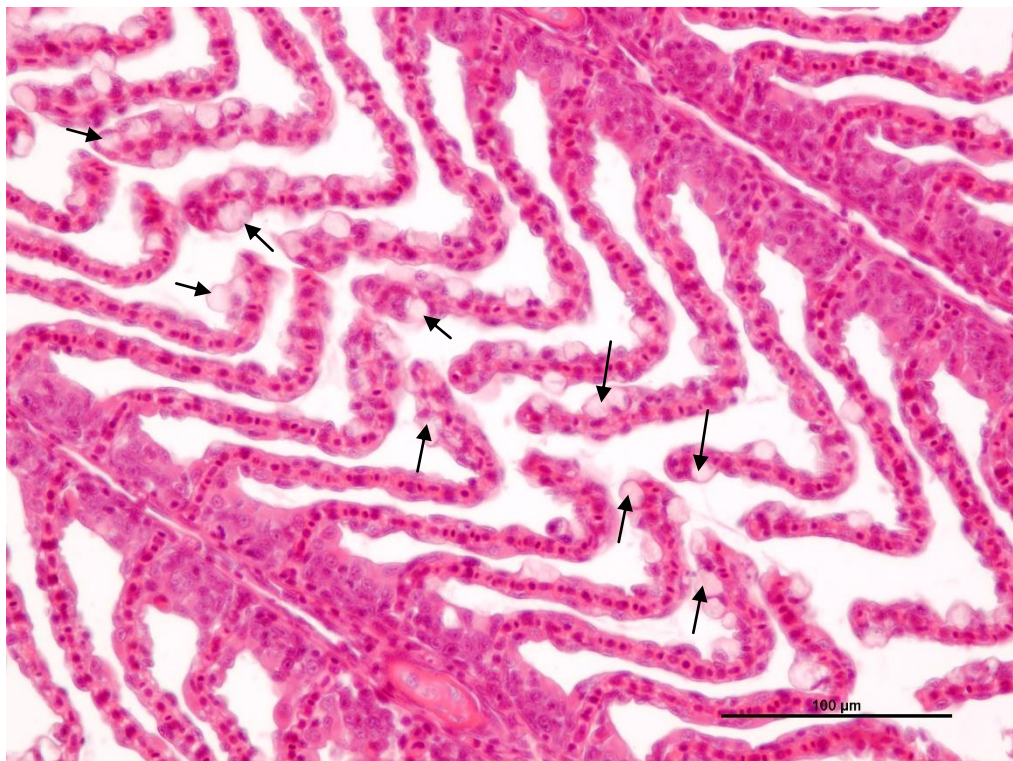


Ryc. 69) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Rozrost komórek nabłonka (białe główki strzałek), zmiany wsteczne w cytoplazmie bazalnych komórek niezróżnicowanych (oznaczone strzałkami) oraz naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów (czarne główki strzałek). Barwienie HE.





Ryc. 70) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Martwica nabłonka blaszek (strzałki), centralnie wysięk zapalny z obecnością komórek linii limfoidalnej i pojedynczymi komórkami linii mieloidalnej (główki strzałek). Barwienie HE.



Ryc. 71) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Zwiększenie liczby komórek śluzowych, gromadzących się w szczytowej części blaszek (strzałki). Barwienie HE.

Tab. 41 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C0, na którą składają się powtórzenia CI, CII, CIII. Najintensywniejsze są zaburzenia krążenia, zmiany zapalne, i zmiany wsteczne w obrębie nabłonka oraz tkanek podporowych. Najbardziej charakterystyczne zmiany występujące w grupach z kąpielą z dodatkiem formaldehydu przedstawiono na Ryc. 72-75.

Tab. 41) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowo- tworowe		
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe							
Krwio- tok / przekrwienie / tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Mortwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Mortwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wysięk	Aktywacja układu limfocytarnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy	
3	2	3	3	2	1	2	4	3	4	3	1	1	1	3	3	2	2	2	3	4	4	0	0	
3	4	3	3	2	1	2	4	3	4	3	1	1	2	3	3	2	2	2	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	2	2	1	3	3	4	3	1	1	2	3	2	2	2	3	3	4	4	0	0	
3	4	3	3	2	2	1	3	3	2	2	1	1	2	3	2	2	2	3	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	2	2	2	3	3	4	3	1	1	2	3	2	2	2	3	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	2	2	2	3	3	2	2	1	2	2	2	2	2	2	3	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	1	2	2	3	4	4	3	1	1	2	3	2	2	2	4	3	4	4	0	0	
4	3	3	3	1	2	2	3	3	4	3	1	2	2	2	2	1	2	2	2	4	2	0	0	
3	2	2	2	1	2	2	2	3	2	2	1	1	2	2	2	1	2	2	3	4	2	0	0	
4	4	3	3	2	2	2	3	3	2	2	1	1	2	3	2	2	2	3	3	4	4	0	0	
4	5	3	3	2	2	3	3	3	4	3	1	2	2	3	2	2	2	3	3	4	4	0	0	
4	3	3	2	1	2	2	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	2	2	3	4	4	0	0	
4	5	3	3	2	2	3	3	4	3	2	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	2	2	2	3	3	3	2	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	4	0	0	
4	5	3	3	2	2	3	3	3	4	3	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	5	0	0	
4	4	3	3	2	2	2	3	3	3	2	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	5	0	0	
4	4	3	3	2	2	2	3	3	3	2	1	1	2	3	2	2	2	2	3	4	5	0	0	
4	4	3	3	2	2	3	3	3	3	2	1	2	2	3	3	3	2	2	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	2	2	3	4	4	3	2	1	2	3	3	3	3	2	2	3	4	5	0	0	
4	4	3	3	2	2	3	4	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	3	4	4	0	0	
4	5	3	3	2	2	3	4	3	4	2	2	2	3	3	3	2	2	3	3	5	4	0	0	
3	5	3	3	2	2	3	4	4	4	2	2	2	3	3	3	3	2	2	3	4	4	0	0	
4	6	3	3	2	2	3	3	5	4	3	2	3	3	3	2	3	2	2	3	4	5	0	0	
3	5	3	3	2	2	3	4	4	4	3	2	3	3	3	2	3	2	3	3	4	5	0	0	
4	4	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	3	2	3	3	4	4	0	0	
4	4	3	3	2	2	3	4	4	4	3	2	2	3	4	2	2	2	2	3	4	4	0	0	
4	5	3	3	2	2	3	3	4	4	3	2	2	3	3	3	2	2	2	3	4	4	0	0	
4	5	3	3	2	2	3	4	4	4	3	2	2	3	4	3	2	2	2	3	4	5	0	0	
3	5	3	3	2	2	3	3	4	3	3	2	2	3	4	3	2	2	2	4	4	4	0	0	
3	4	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	3	5	3	0	0		



Tab. 42 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C24, na którą składają się powtórzenia CIV, CV, CVI. Najintensywniejsze są zaburzenia krążenia, zmiany zapalne i zmiany postępowe w obrębie tkanek podporowych.

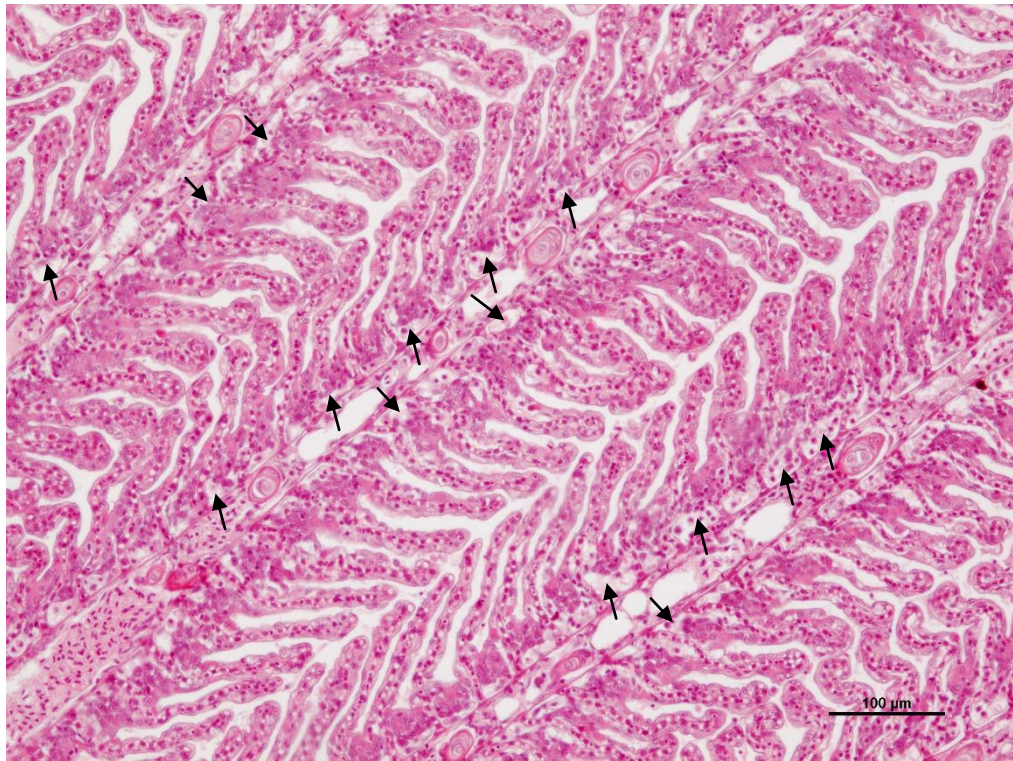
Tab. 42) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe	
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe						
Krwotok / przekrwienie / tętniak	Przesiek	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wysiek	Aktywacja układu fagocytnego	Naciek zapalny	Nowotwór łagodny	Nowotwór złośliwy
3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	3	4	3	4	2	4	3	0	0
3	5	3	3	2	2	2	3	3	4	2	2	1	2	3	2	1	2	2	2	4	4	0	0
3	4	3	3	2	2	2	3	3	4	2	2	2	2	3	2	2	3	4	2	4	3	0	0
3	4	3	3	2	3	3	3	3	4	3	2	2	2	3	2	3	3	4	2	4	3	0	0
3	5	3	3	2	2	2	3	3	4	3	2	2	3	4	3	3	3	4	2	4	4	0	0
4	4	3	3	2	2	2	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	3	3	2	4	3	0	0
4	3	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	3	4	2	4	3	0	0
3	5	4	3	2	2	3	3	4	4	3	2	2	3	3	3	4	3	5	2	4	4	0	0
4	5	3	3	2	2	3	4	4	4	3	2	2	3	5	2	2	3	3	2	4	4	0	0
3	3	3	3	2	2	3	4	3	3	3	2	2	2	3	2	1	2	3	3	4	3	0	0
4	4	3	3	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2	3	2	2	3	3	4	4	4	0	0
4	4	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	4	3	3	3	5	2	4	4	0	0
4	4	2	2	2	2	3	4	3	3	3	2	3	3	4	2	1	3	4	3	4	3	0	0
3	5	3	3	2	2	3	5	3	4	3	2	3	3	5	2	2	3	4	3	4	3	0	0
3	4	2	2	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	4	1	1	3	3	2	4	3	0	0
4	4	3	3	2	2	3	4	4	3	3	2	3	3	4	2	2	3	3	4	4	4	0	0
3	4	3	3	2	2	3	4	4	3	3	2	3	3	4	2	2	3	4	3	4	4	0	0
5	4	3	3	2	2	3	4	3	3	3	2	2	3	4	3	3	4	5	3	4	4	0	0
3	3	2	2	2	2	3	3	3	4	3	2	3	3	4	1	1	3	3	3	4	4	0	0
3	4	3	3	2	2	2	3	4	4	3	3	2	2	3	3	2	3	3	5	4	3	0	0
4	3	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	2	3	4	4	3	0	0
3	4	3	3	2	3	3	4	4	3	3	2	3	3	4	3	4	3	5	4	4	4	0	0
4	2	3	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	2	2	3	4	4	0	0
3	4	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	4	4	4	4	0	0
4	4	3	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	3	3	3	2	3	4	3	4	4	0	0
4	3	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	3	3	4	4	4	0	0
3	3	2	2	2	2	3	4	3	3	2	2	2	2	3	2	2	3	3	4	4	4	0	0
3	5	3	3	2	3	3	4	3	4	3	2	2	3	3	3	4	4	5	3	5	4	0	0
3	3	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	3	3	4	4	0	0

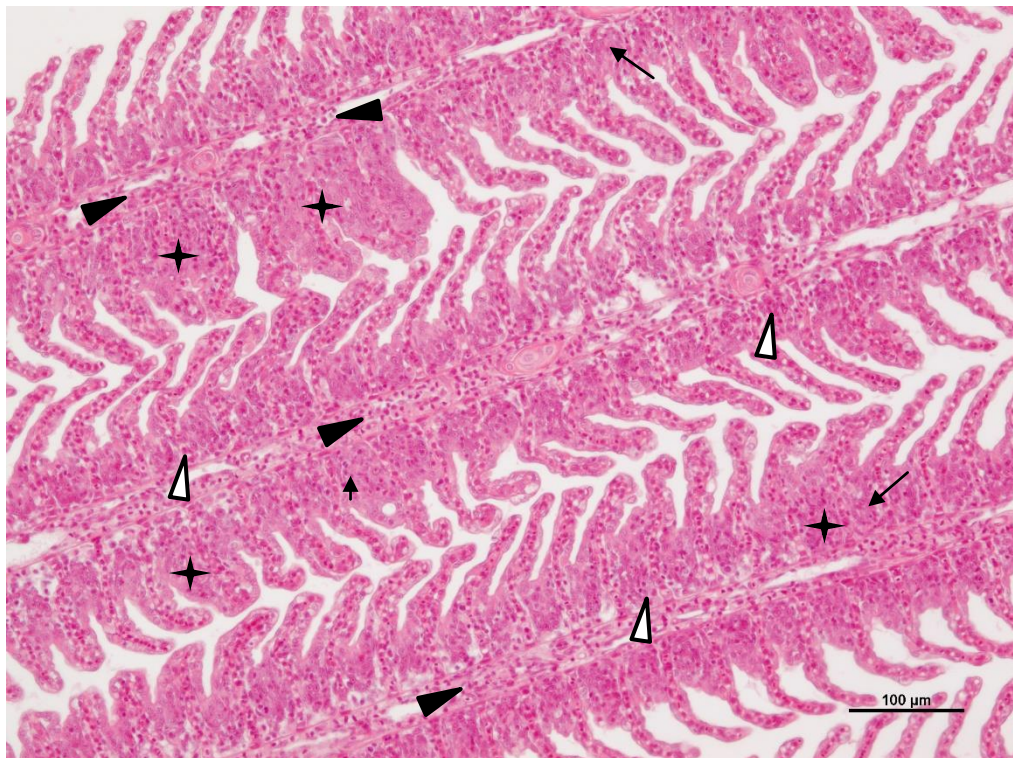
Tab. 43 przedstawia mapę cieplną zmian histopatologicznych zaobserwowanych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C48, na którą składają się powtórzenia CVII, CVIII, CIX. Najintensywniejsze są zmiany zapalne, zmiany związane z zaburzeniami krążenia, oraz zmiany wsteczne w obrębie nabłonka.

Tab. 43) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).

Zaburzenia krążenia	Zmiany wsteczne														Zmiany postępowe				Zmiany zapalne			Zmiany nowotworowe			
	Nabłonek							Tkanki podporowe							Nabłonek		Tkanki podporowe								
	Kwadrant / przekierowanie / tętniak	Przebieg	Zmiany strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Uszkodzenie komórek podporowych	Zmiany morfologiczne i strukturalne	Zmiany w cytoplazmie	Gromadzenie substancji	Zmiany w jądrach komórkowych	Zanik	Martwica	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Przerost	Rozrost	Wyśięk	Aktywność układu fagocytarnego	Nacieki zapalne	Nowotwór łagodny
3	2	3	2	2	2	4	3	3	2	2	1	1	2	2	3	1	1	2	1	3	3	3	0	0	
4	2	3	2	1	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	4	4	4	0	0	
3	2	3	2	1	2	2	3	3	2	2	1	1	2	2	3	2	1	2	2	3	4	4	0	0	
3	2	3	3	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2	3	3	2	3	2	3	4	4	0	0	
3	2	3	3	2	3	3	4	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	3	3	3	4	3	0	0	
3	2	3	2	2	2	3	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	4	4	3	0	0	
3	2	3	3	2	3	3	4	4	3	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	4	5	3	0	0	
3	2	3	3	2	2	4	3	3	3	2	2	2	2	2	3	2	1	3	3	4	4	3	0	0	
3	2	3	3	2	2	4	3	3	3	2	2	2	2	3	3	2	2	3	3	3	4	3	0	0	
4	3	3	4	2	2	3	4	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	3	4	4	4	0	0	
3	3	3	3	2	2	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2	1	1	2	3	4	4	3	0	0	
3	3	3	3	2	2	4	3	2	2	2	2	2	2	3	3	2	1	2	3	3	4	3	0	0	
3	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	3	4	5	3	0	0	
4	2	2	2	2	3	3	3	2	3	3	2	2	2	2	3	2	1	3	2	3	4	3	0	0	
3	4	3	2	2	3	4	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	3	4	5	4	0	0	
4	2	3	3	2	3	3	4	3	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	3	3	4	3	0	0	
5	2	2	2	2	3	4	4	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	3	4	4	3	0	0	
3	3	3	3	2	3	4	4	4	3	3	2	2	3	3	3	3	2	4	4	4	5	4	0	0	
4	2	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	1	2	2	3	3	4	3	0	0	
4	4	3	3	2	2	3	3	4	3	3	2	2	3	3	3	2	4	4	5	4	4	4	0	0	
4	3	3	3	2	2	3	3	4	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	3	5	4	4	0	0	
5	2	2	2	1	2	4	4	3	3	3	2	2	3	3	2	1	2	3	3	5	4	3	0	0	
4	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	4	4	4	4	4	3	0	0	
4	2	3	4	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	2	2	2	5	4	3	0	0	
5	2	3	3	2	3	3	4	4	3	3	2	2	3	3	2	2	3	4	5	4	3	0	0		
3	2	2	2	1	2	4	4	3	3	2	2	2	2	3	2	1	2	3	4	4	4	4	0	0	
4	2	2	2	1	2	4	4	3	3	2	2	2	3	3	2	2	2	3	5	4	3	0	0		
3	3	3	4	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	5	4	4	0	0		
4	3	3	4	2	3	4	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2	3	4	4	4	4	4	0	0	

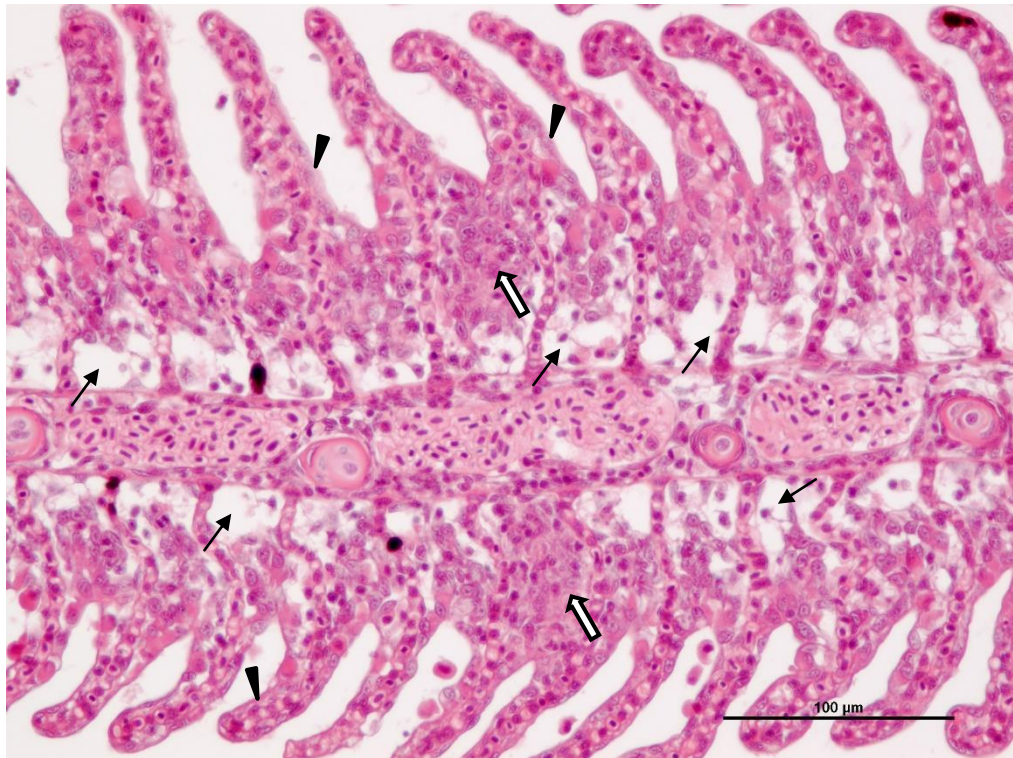


Ryc. 72) Skrzela, grupa z jednokrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Obrzęk i naciek zapalny z obecnością komórek linii limfoidalnej i pojedynczymi komórkami linii mieloidalnej w warstwie bazalnych komórek nie zróżnicowanych (strzałki). Barwienie HE.



Ryc. 73) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Naciek w obrębie listka skrzelowego (czarne główki strzałek) oraz w warstwie bazalnych komórek nie zróżnicowanych (białe główki strzałek), rozrost bazalnych komórek nie zróżnicowanych oraz nabłonka (strzałki), zrastanie blaszek (gwiazdki). Barwienie HE.



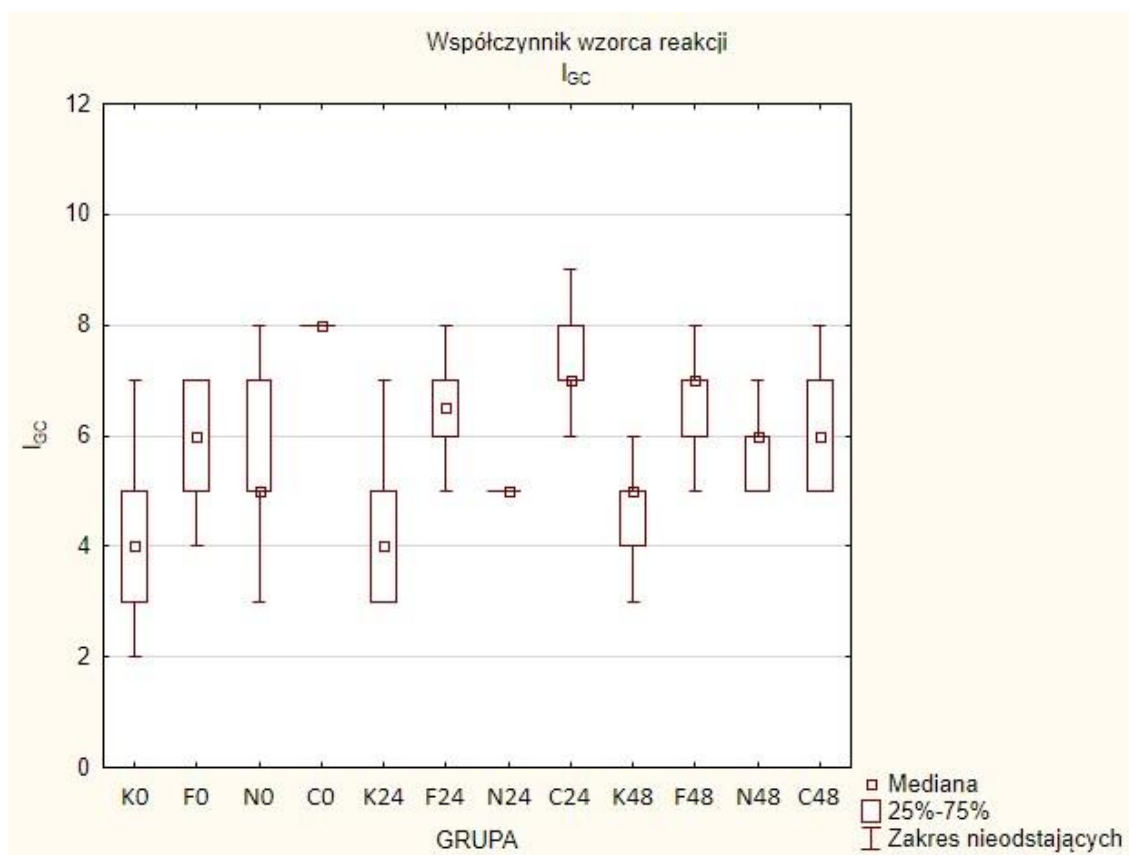


Ryc. 74) Skrzela, grupa z jednokrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Obrzęk w warstwie bazalnych komórek nie zróżnicowanych (czarne strzałki), rozrost bazalnych komórek nie zróżnicowanych (białe strzałki) i przerost komórek nabłonka blaszek (czarne główki strzałek). Barwienie HE.



Ryc. 75) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Centralnie usytuowane komórki nabłonka ulegające złuszczeniu z dystalnej części blaszki (strzałka). Barwienie HE.

#### 6.4.2. Współczynniki wzorców reakcji i reakcji narządu



Ryc. 76) Współczynnik zaburzeń krążenia w skrzelach  $I_{GC}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zaburzeń krążenia  $I_{GC}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 76. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 44. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 218,978 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 45, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

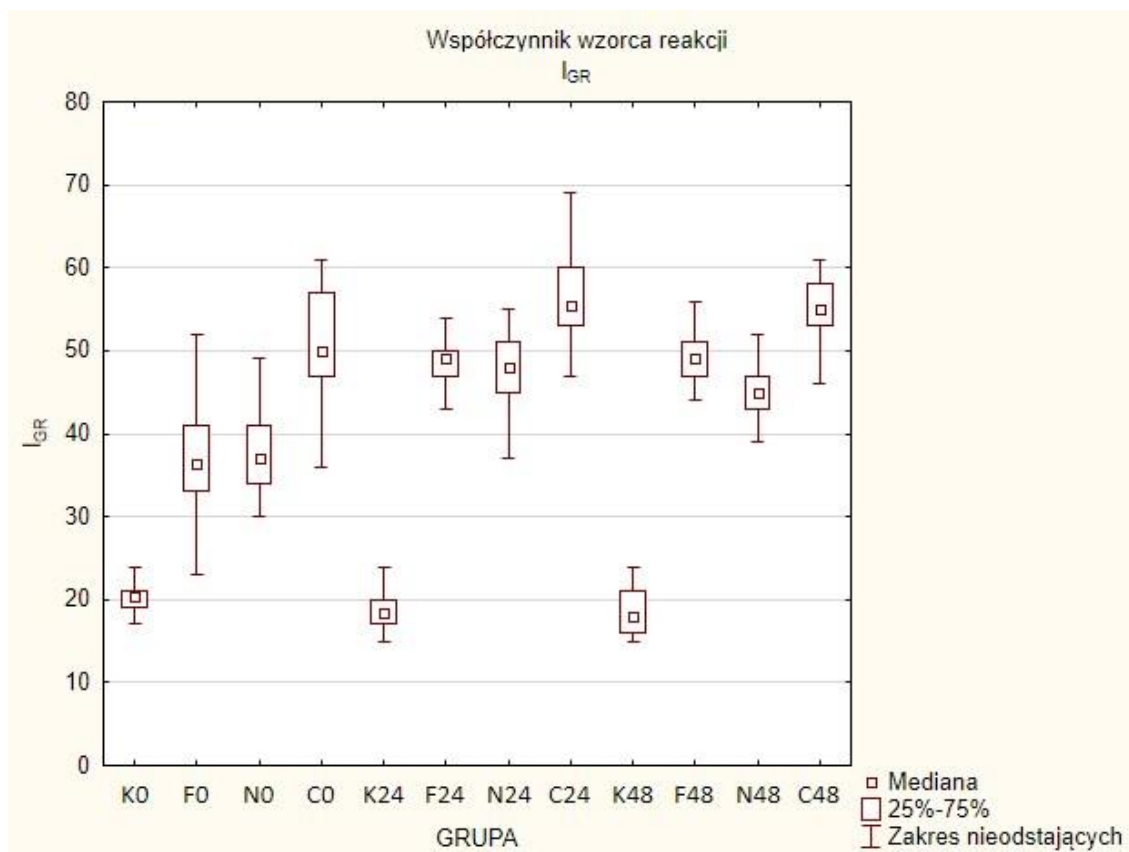
Tab. 44) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zaburzeń krążenia w skrzelach I<sub>GC</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<b>K0</b>	30	1799,000	59,9667
<b>F0</b>	30	5915,000	197,1667
<b>N0</b>	30	5320,000	177,3333
<b>C0</b>	30	9357,000	311,9000
<b>K24</b>	30	2140,000	71,3333
<b>F24</b>	30	6997,000	233,2333
<b>N24</b>	30	3761,000	125,3667
<b>C24</b>	30	8486,000	282,8667
<b>K48</b>	30	2391,000	79,7000
<b>F48</b>	30	7566,000	252,2000
<b>N48</b>	30	5694,000	189,8000
<b>C48</b>	30	5554,000	185,1333

Tab. 45) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zaburzeń krążenia w skrzelach I<sub>GC</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<b>F0</b>	Z 5,106055										
	p 0,000022										
<b>N0</b>	Z 4,367935	0,738120									
	p 0,000828	1,000000									
<b>C0</b>	Z 9,375988	4,269933	5,008053								
	p 0,000000	0,001291	0,000036								
<b>K24</b>	Z 0,423024	4,683032	3,944912	8,952964							
	p 1,000000	0,000187	0,005269	0,000000							
<b>F24</b>	Z 6,448318	1,342262	2,080383	2,927670	6,025294						
	p 0,000000	1,000000	1,000000	0,225398	0,000000						
<b>N24</b>	Z 2,433936	2,672119	1,933999	6,942052	2,010912	4,014382					
	p 0,985752	0,497467	1,000000	0,000000	1,000000	0,003934					
<b>C24</b>	Z 8,295479	3,189424	3,927544	1,080509	7,872455	1,847161	5,861543				
	p 0,000000	0,094087	0,005664	1,000000	0,000000	1,000000	0,000000				
<b>K48</b>	Z 0,734399	4,371657	3,633536	8,641589	0,311375	5,713919	1,699537	7,561080			
	p 1,000000	0,000814	0,018451	0,000000	1,000000	0,000001	1,000000	0,000000			
<b>F48</b>	Z 7,154184	2,048129	2,786249	2,221804	6,731160	0,705866	4,720248	1,141295	6,419785		
	p 0,000000	1,000000	0,351925	1,000000	0,000000	1,000000	0,000155	1,000000	0,000000		
<b>N48</b>	Z 4,831896	0,274159	0,463961	4,544091	4,408873	1,616421	2,397960	3,463583	4,097498	2,322288	
	p 0,000089	1,000000	1,000000	0,000364	0,000686	1,000000	1,000000	0,035180	0,002756	1,000000	
<b>C48</b>	Z 4,658221	0,447834	0,290286	4,717767	4,235197	1,790097	2,224285	3,637258	3,923822	2,495963	0,173675
	p 0,000211	1,000000	1,000000	0,000157	0,001507	1,000000	1,000000	0,018187	0,005752	0,829064	1,000000





Ryc. 77) Współczynnik zmian wstecznych w skrzelach  $I_{GR}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zmian wstecznych  $I_{GR}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 77. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 46. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 296,124 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

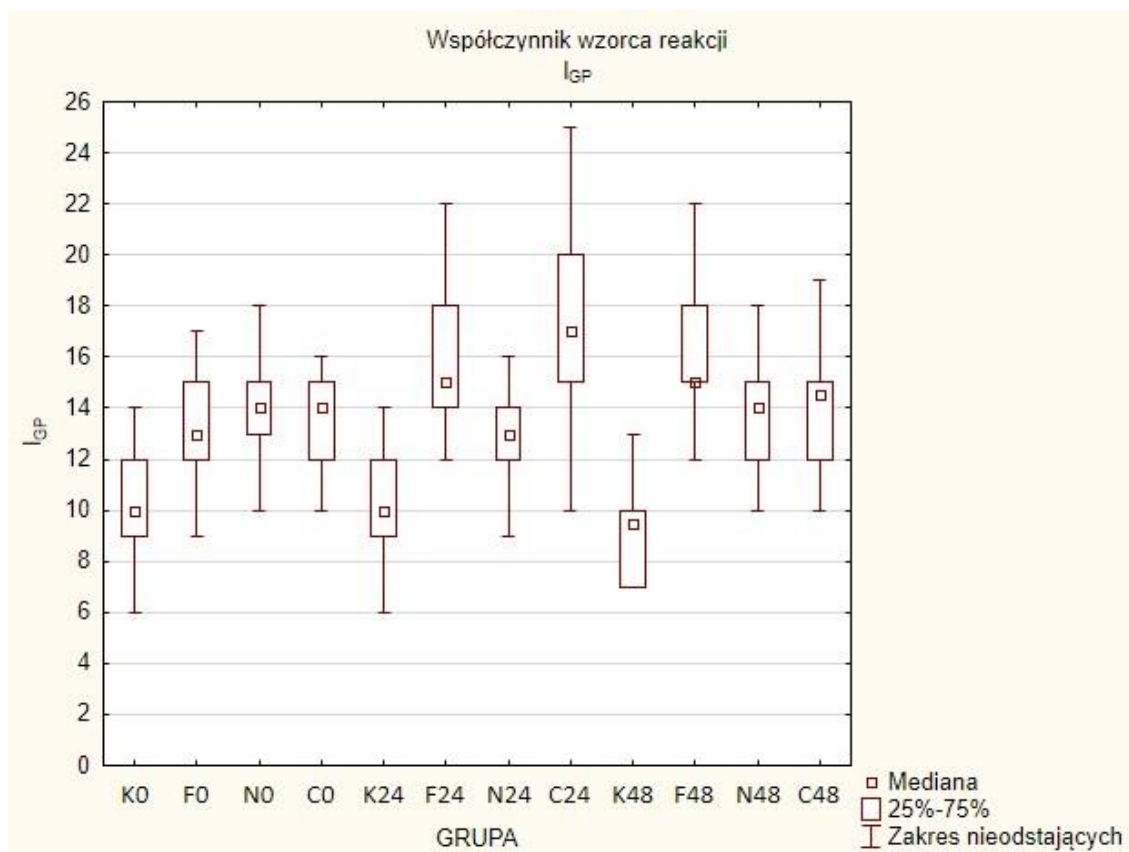
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 47, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 46) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian wstecznych w skrzelach I<sub>GR</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>KO</i>	30	1638,500	54,6167
<i>FO</i>	30	3769,500	125,6500
<i>NO</i>	30	3996,000	133,2000
<i>CO</i>	30	7820,500	260,6833
<i>K24</i>	30	1299,000	43,3000
<i>F24</i>	30	6897,500	229,9167
<i>N24</i>	30	6834,000	227,8000
<i>C24</i>	30	9365,000	312,1667
<i>K48</i>	30	1256,000	41,8667
<i>F48</i>	30	7419,500	247,3167
<i>N48</i>	30	5635,000	187,8333
<i>C48</i>	30	9049,500	301,6500

Tab. 47) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian wstecznych w skrzelach I<sub>GR</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>KO</i>	<i>FO</i>	<i>NO</i>	<i>CO</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>FO</i>	Z 2,643587										
	p 0,541416										
<i>NO</i>	Z 2,924569	0,280982									
	p 0,227656	1,000000									
<i>CO</i>	Z 7,669007	5,025420	4,744438								
	p 0,000000	0,000033	0,000138								
<i>K24</i>	Z 0,421163	3,064750	3,345732	8,090170							
	p 1,000000	0,143782	0,054163	0,000000							
<i>F24</i>	Z 6,523990	3,880404	3,599422	1,145017	6,94515						
	p 0,000000	0,006883	0,021049	1,000000	0,000000						
<i>N24</i>	Z 6,445216	3,801629	3,520647	1,223791	6,86638	0,078774					
	p 0,000000	0,009487	0,028413	1,000000	0,000000	1,000000					
<i>C24</i>	Z 9,585018	6,941432	6,660450	1,916011	10,00618	3,061028	3,139802				
	p 0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	0,000000	0,145582	0,111581				
<i>K48</i>	Z 0,474506	3,118093	3,399075	8,143513	0,05334	6,998496	6,919722	10,05952			
	p 1,000000	0,120137	0,044625	0,000000	1,000000	0,000000	0,000000	0,000000			
<i>F48</i>	Z 7,171551	4,527964	4,246983	0,497456	7,59271	0,647561	0,726335	2,41347	7,64606		
	p 0,000000	0,000393	0,001430	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z 4,957811	2,314224	2,033242	2,711196	5,37897	1,566179	1,487405	4,62721	5,43232	2,213740	
	p 0,000047	1,000000	1,000000	0,442470	0,000005	1,000000	1,000000	0,000245	0,000004	1,000000	
<i>C48</i>	Z 9,193629	6,550042	6,269060	1,524621	9,61479	2,669638	2,748412	0,39139	9,66813	2,022077	4,235818
	p 0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	0,000000	0,501158	0,395239	1,000000	0,000000	1,000000	0,001503



Ryc. 78) Współczynnik zmian postępowych w skrzelach  $I_{GP}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zmian postępowych  $I_{GP}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 78. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 48. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 184,082 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

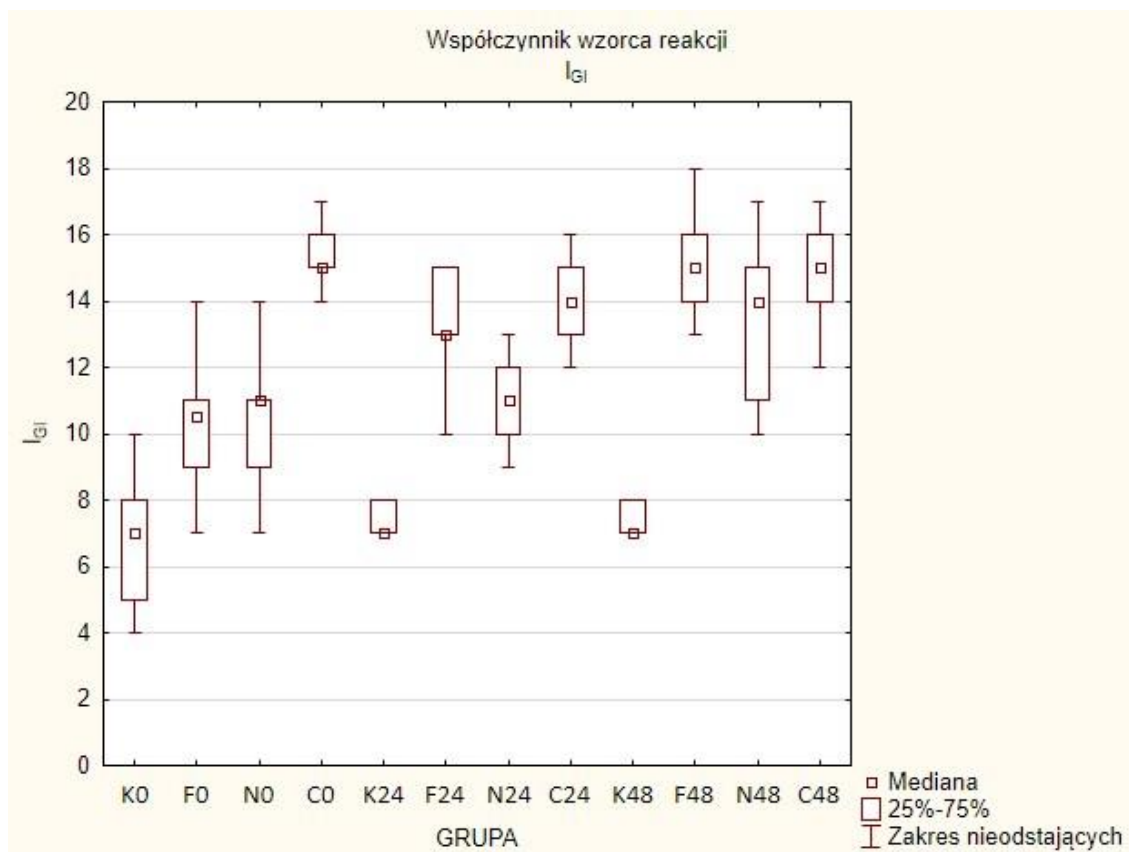
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 49, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 48) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian postępowych w skrzelach I<sub>GP</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<b>K0</b>	30	2365,000	78,8333
<b>F0</b>	30	5083,500	169,4500
<b>N0</b>	30	6310,000	210,3333
<b>C0</b>	30	5763,000	192,1000
<b>K24</b>	30	2368,000	78,9333
<b>F24</b>	30	8198,000	273,2667
<b>N24</b>	30	4668,500	155,6167
<b>C24</b>	30	8317,500	277,2500
<b>K48</b>	30	1597,500	53,2500
<b>F48</b>	30	8057,500	268,5833
<b>N48</b>	30	6021,500	200,7167
<b>C48</b>	30	6230,000	207,6667

Tab. 49) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian postępowych w skrzelach I<sub>GP</sub>.

<i>GRUPA</i>		<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<b>F0</b>	Z	3,372403										
	p	0,049180										
<b>N0</b>	Z	4,893923	1,521520									
	p	0,000065	1,000000									
<b>C0</b>	Z	4,215349	0,842946	0,678574								
	p	0,001646	1,000000	1,000000								
<b>K24</b>	Z	0,003722	3,368682	4,890202	4,211627							
	p	1,000000	0,049849	0,000066	0,001673							
<b>F24</b>	Z	7,236059	3,863656	2,342136	3,020711	7,232338						
	p	0,000000	0,007372	1,000000	0,166440	0,000000						
<b>N24</b>	Z	2,857580	0,514823	2,036343	1,357769	2,853858	4,378480					
	p	0,281744	1,000000	1,000000	1,000000	0,285066	0,000789					
<b>C24</b>	Z	7,384304	4,011901	2,490380	3,168955	7,380582	0,148244	4,526724				
	p	0,000000	0,003975	0,842202	0,100972	0,000000	1,000000	0,000395				
<b>K48</b>	Z	0,952113	4,324516	5,846036	5,167462	0,955835	8,188172	3,809693	8,336417			
	p	1,000000	0,001009	0,000000	0,000016	1,000000	0,000000	0,009183	0,000000			
<b>F48</b>	Z	7,061764	3,689361	2,167841	2,846415	7,058042	0,174296	4,204184	0,322540	8,013877		
	p	0,000000	0,014838	1,000000	0,291816	0,000000	1,000000	0,001729	1,000000	0,000000		
<b>N48</b>	Z	4,536028	1,163625	0,357895	0,320679	4,532306	2,700031	1,678448	2,848276	5,488141	2,525736	
	p	0,000378	1,000000	1,000000	1,000000	0,000385	0,457597	1,000000	0,290115	0,000003	0,762011	
<b>C48</b>	Z	4,794680	1,422277	0,099243	0,579331	4,790959	2,441379	1,937100	2,589624	5,746793	2,267084	0,258652
	p	0,000108	1,000000	1,000000	1,000000	0,000110	0,965665	1,000000	0,634134	0,000001	1,000000	1,000000



Ryc. 79) Współczynnik zmian zapalnych w skrzelach  $I_{GI}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika zmian zapalnych  $I_{GI}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 79. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 50. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 288,531 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 51, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

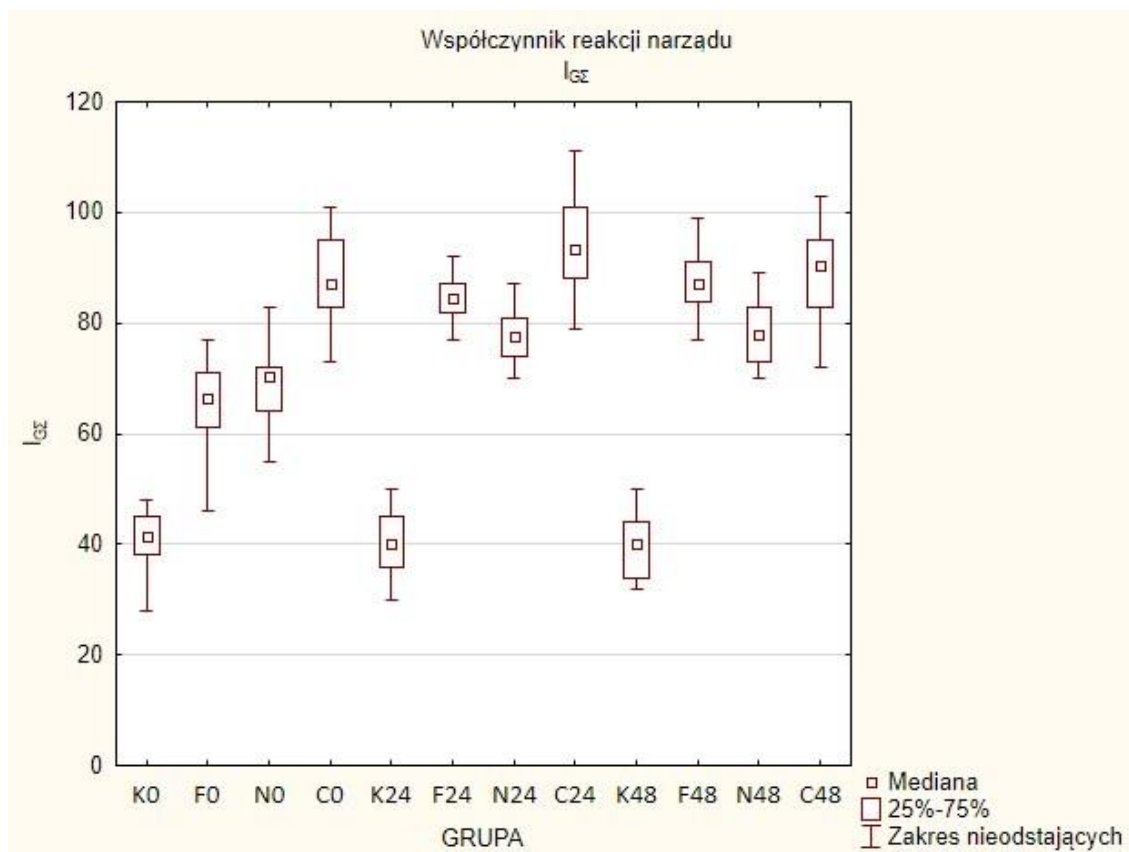
Tab. 50) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian zapalnych w skrzelach I<sub>GI</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	1171,500	39,0500
<i>F0</i>	30	4215,000	140,5000
<i>N0</i>	30	4256,500	141,8833
<i>C0</i>	30	8984,500	299,4833
<i>K24</i>	30	1487,500	49,5833
<i>F24</i>	30	6720,500	224,0167
<i>N24</i>	30	4588,000	152,9333
<i>C24</i>	30	7945,000	264,8333
<i>K48</i>	30	1692,500	56,4167
<i>F48</i>	30	8457,500	281,9167
<i>N48</i>	30	6961,500	232,0500
<i>C48</i>	30	8500,000	283,3333

Tab. 51) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian zapalnych w skrzelach I<sub>GI</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z 3,775578										
	p 0,010536										
<i>N0</i>	Z 3,827060	0,051482									
	p 0,008559	1,000000									
<i>C0</i>	Z 9,692325	5,916747	5,865265								
	p 0,000000	0,000000	0,000000								
<i>K24</i>	Z 0,392010	3,383568	3,435050	9,300315							
	p 1,000000	0,047223	0,039101	0,000000							
<i>F24</i>	Z 6,883747	3,108168	3,056686	2,808579	6,491736						
	p 0,000000	0,124245	0,147707	0,328421	0,000000						
<i>N24</i>	Z 4,238299	0,462721	0,411238	5,454026	3,846289	2,645448					
	p 0,001486	1,000000	1,000000	0,000003	0,007915	0,538447					
<i>C24</i>	Z 8,402786	4,627208	4,575725	1,289539	8,010776	1,519039	4,164487				
	p 0,000000	0,000245	0,000313	1,000000	0,000000	1,000000	0,002060				
<i>K48</i>	Z 0,646320	3,129258	3,180740	9,046005	0,254310	6,237426	3,591978	7,756465			
	p 1,000000	0,115664	0,096954	0,000000	1,000000	0,000000	0,021660	0,000000			
<i>F48</i>	Z 9,038561	5,262983	5,211501	0,653764	8,646551	2,154815	4,800263	0,635776	8,392241		
	p 0,000000	0,000009	0,000012	1,000000	0,000000	1,000000	0,000105	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z 7,182716	3,407138	3,355656	2,509609	6,790706	0,298970	2,944417	1,220069	6,536396	1,855845	
	p 0,000000	0,043328	0,052257	0,797709	0,000000	1,000000	0,213552	1,000000	0,000000	1,000000	
<i>C48</i>	Z 9,091284	5,315706	5,264224	0,601041	8,699274	2,207538	4,852985	0,688499	8,444964	0,052723	1,908568
	p 0,000000	0,000007	0,000009	1,000000	0,000000	1,000000	0,000080	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000





Ryc. 80) Współczynnik reakcji skrzeli  $I_{G\Sigma}$ .

Statystyki opisowe dla współczynnika reakcji skrzeli  $I_{G\Sigma}$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 80. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 52. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 300,403 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 53, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 52) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika reakcji skrzeli  $I_{G\Sigma}$ .

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	1465,500	48,8500
<i>F0</i>	30	3808,500	126,9500
<i>N0</i>	30	4076,500	135,8833
<i>C0</i>	30	8160,500	272,0167
<i>K24</i>	30	1407,500	46,9167
<i>F24</i>	30	7284,000	242,8000
<i>N24</i>	30	5501,000	183,3667
<i>C24</i>	30	9460,500	315,3500
<i>K48</i>	30	1294,000	43,1333
<i>F48</i>	30	8139,500	271,3167
<i>N48</i>	30	5886,500	196,2167
<i>C48</i>	30	8496,000	283,2000

Tab. 53) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika reakcji skrzeli  $I_{G\Sigma}$ .

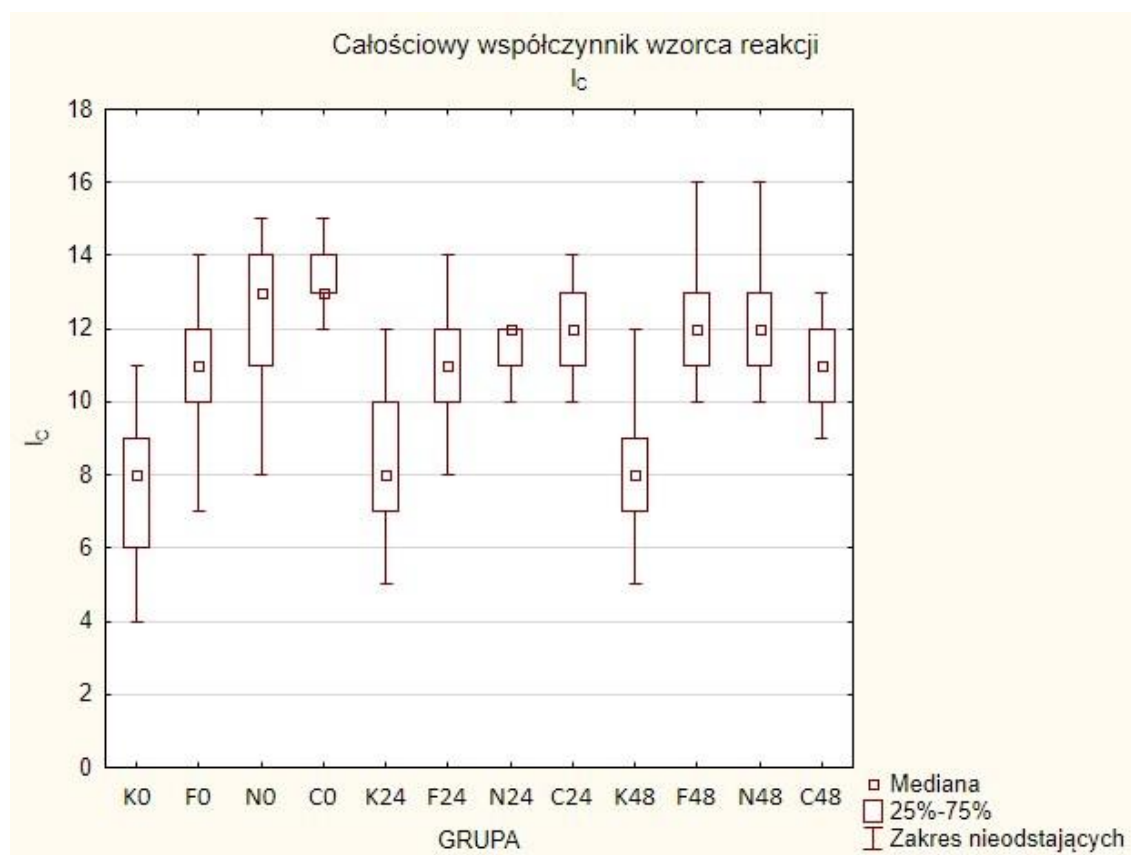
<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z 2,906581										
	p 0,241165										
<i>N0</i>	Z 3,239045	0,332464									
	p 0,079154	1,000000									
<i>C0</i>	Z 8,305403	5,398822	5,066358								
	p 0,000000	0,000004	0,000027								
<i>K24</i>	Z 0,071951	2,978532	3,310996	8,377355							
	p 1,000000	0,191157	0,061356	0,000000							
<i>F24</i>	Z 7,218072	4,311491	3,979026	1,087332	7,290023						
	p 0,000000	0,001070	0,004567	1,000000	0,000000						
<i>N24</i>	Z 5,006192	2,099611	1,767147	3,299211	5,078143	2,211880					
	p 0,000037	1,000000	1,000000	0,063992	0,000025	1,000000					
<i>C24</i>	Z 9,918103	7,011522	6,679058	1,612700	9,990054	2,700031	4,911911				
	p 0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	0,000000	0,457597	0,000060				
<i>K48</i>	Z 0,212752	3,119333	3,451798	8,518156	0,140801	7,430824	5,218944	10,13086			
	p 1,000000	0,119632	0,036753	0,000000	1,000000	0,000000	0,000012	0,000000			
<i>F48</i>	Z 8,279352	5,372771	5,040307	0,026051	8,351303	1,061280	3,273160	1,63875	8,49210		
	p 0,000000	0,000005	0,000031	1,000000	0,000000	1,000000	0,070192	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z 5,484419	2,577838	2,245374	2,820984	5,556371	1,733652	0,478227	4,43368	5,69717	2,794933	
	p 0,000003	0,656175	1,000000	0,315986	0,000002	1,000000	1,000000	0,000611	0,000001	0,342610	
<i>C48</i>	Z 8,721604	5,815023	5,482559	0,416201	8,793555	1,503532	3,715412	1,19650	8,93436	0,442252	3,237184
	p 0,000000	0,000000	0,000003	1,000000	0,000000	1,000000	0,013390	1,000000	0,000000	1,000000	0,079672

Poziom różnic reakcji w postaci zmian patomorfologicznych skóry i skrzelu występujących u pstrągów tęczowych w wyniku zastosowania kąpieli z badanymi substancjami w poszczególnych powtórzeniach przedstawiono w Tab. 54.

Tab. 54) Porównanie istotności statystycznej różnic współczynników wzorców reakcji i reakcji narządów u pstrągów tęczowych po jednokrotnej, dwukrotnej i trzykrotnej kąpieli w badanych substancjach (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie  $p < 0,05$  przypisano oznaczenia literowe).

Liczba kąpieli	Narząd	Współczynnik	Substancja			
			K	F	N	C
1 x	Skóra	I <sub>SC</sub>	a	a	b	b
		I <sub>SR</sub>	a	a	ab	b
		I <sub>SP</sub>	a	a	b	b
		I <sub>SL</sub>	a	ab	b	b
		I <sub>SΣ</sub>	a	ab	bc	c
	Skrzela	I <sub>GC</sub>	a	b	b	c
		I <sub>GR</sub>	a	a	a	b
		I <sub>GP</sub>	a	b	b	b
		I <sub>GI</sub>	a	b	b	c
		I <sub>GΣ</sub>	a	a	a	b
2 x	Skóra	I <sub>SC</sub>	a	a	b	a
		I <sub>SR</sub>	a	b	b	c
		I <sub>SP</sub>	a	b	b	b
		I <sub>SL</sub>	a	b	b	b
		I <sub>SΣ</sub>	a	b	bd	cd
	Skrzela	I <sub>GC</sub>	a	b	a	b
		I <sub>GR</sub>	a	b	b	b
		I <sub>GP</sub>	a	b	a	b
		I <sub>GI</sub>	a	bc	b	c
		I <sub>GΣ</sub>	a	bc	b	c
3 x	Skóra	I <sub>SC</sub>	a	b	b	b
		I <sub>SR</sub>	a	b	b	c
		I <sub>SP</sub>	a	b	b	b
		I <sub>SL</sub>	a	b	b	b
		I <sub>SΣ</sub>	a	b	b	c
	Skrzela	I <sub>GC</sub>	a	b	b	b
		I <sub>GR</sub>	a	bc	b	c
		I <sub>GP</sub>	a	b	b	b
		I <sub>GI</sub>	a	b	b	b
		I <sub>GΣ</sub>	a	b	b	b

## 6.5. Analiza współczynników całościowych



Ryc. 81) Całościowy współczynnik zaburzeń krążenia  $I_c$ .

Statystyki opisowe całościowego współczynnika zaburzeń krążenia  $I_c$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 81. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 55. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 193,561 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

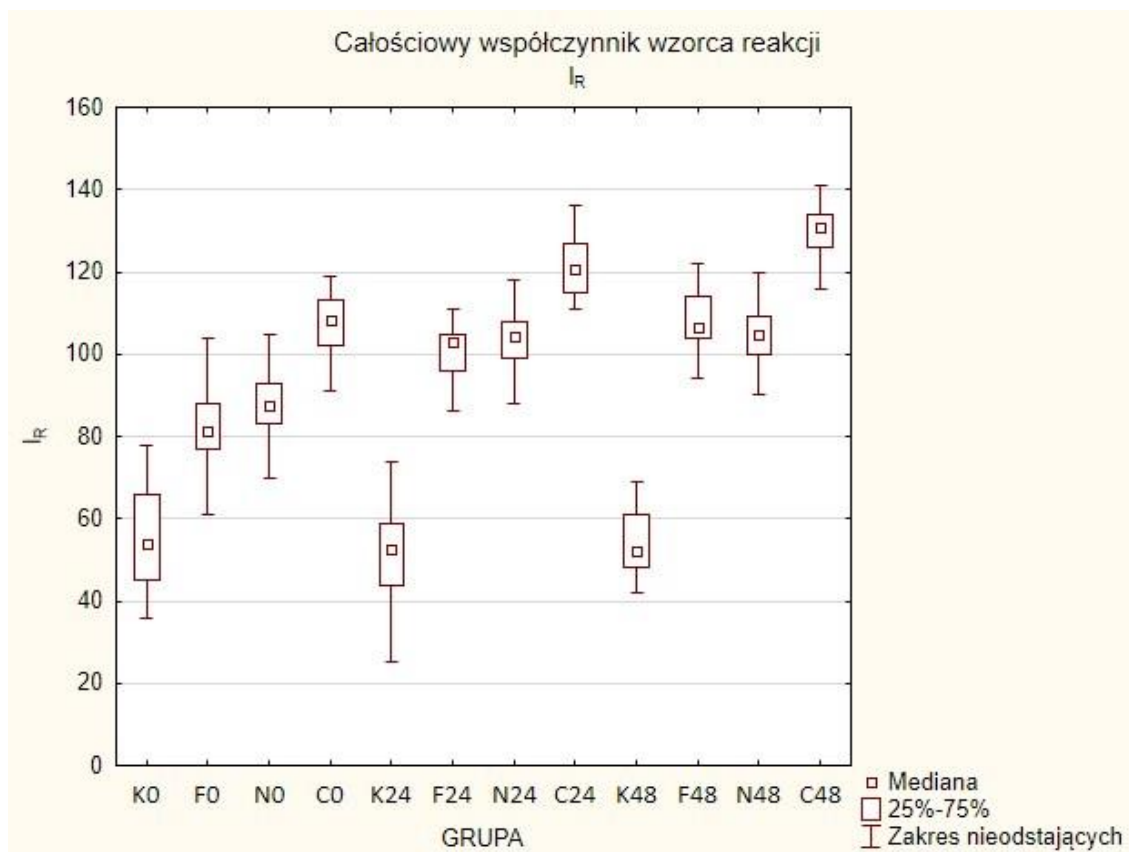
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 56, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 55) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całkowitego współczynnika zaburzeń krążenia  $I_C$ .

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<b>K0</b>	30	1582,500	52,7500
<b>F0</b>	30	4931,000	164,3667
<b>N0</b>	30	7367,500	245,5833
<b>C0</b>	30	8864,000	295,4667
<b>K24</b>	30	2034,000	67,8000
<b>F24</b>	30	5471,500	182,3833
<b>N24</b>	30	6293,500	209,7833
<b>C24</b>	30	7217,000	240,5667
<b>K48</b>	30	2038,500	67,9500
<b>F48</b>	30	6715,500	223,8500
<b>N48</b>	30	6995,000	233,1667
<b>C48</b>	30	5470,000	182,3333

Tab. 56) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całkowitego współczynnika zaburzeń krążenia  $I_C$ .

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<b>F0</b>	Z 4,153942										
	p 0,002157										
<b>N0</b>	Z 7,176514	3,022571									
	p 0,000000	0,165420									
<b>C0</b>	Z 9,032979	4,879037	1,856465								
	p 0,000000	0,000070	1,000000								
<b>K24</b>	Z 0,560103	3,593839	6,616411	8,472876							
	p 1,000000	0,021506	0,000000	0,000000							
<b>F24</b>	Z 4,824453	0,670511	2,352060	4,208526	4,264350						
	p 0,000093	1,000000	1,000000	0,001696	0,001323						
<b>N24</b>	Z 5,844176	1,690233	1,332338	3,188803	5,284073	1,019722					
	p 0,000000	1,000000	1,000000	0,094290	0,000008	1,000000					
<b>C24</b>	Z 6,989813	2,835870	0,186701	2,043166	6,429710	2,165359	1,145637				
	p 0,000000	0,301627	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000				
<b>K48</b>	Z 0,565685	3,588257	6,610828	8,467294	0,005582	4,258768	5,278490	6,424127			
	p 1,000000	0,021971	0,000000	0,000000	1,000000	0,001357	0,000009	0,000000			
<b>F48</b>	Z 6,367683	2,213740	0,808831	2,665296	5,807580	1,543230	0,523507	0,622130	5,801997		
	p 0,000000	1,000000	1,000000	0,507675	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000		
<b>N48</b>	Z 6,714413	2,560471	0,462100	2,318566	6,154310	1,889960	0,870238	0,275399	6,148728	0,346730	
	p 0,000000	0,689901	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	
<b>C48</b>	Z 4,822592	0,668650	2,353921	4,210387	4,262489	0,001861	1,021583	2,167220	4,256907	1,545090	1,891821
	p 0,000094	1,000000	1,000000	0,001683	0,001334	1,000000	1,000000	1,000000	0,001368	1,000000	1,000000



Ryc. 82) Całociowy współczynnik zmian wstecznych  $I_R$ .

Statystyki opisowe całociowego współczynnika zmian wstecznych  $I_R$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 82. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 57. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 312,775 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 58, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

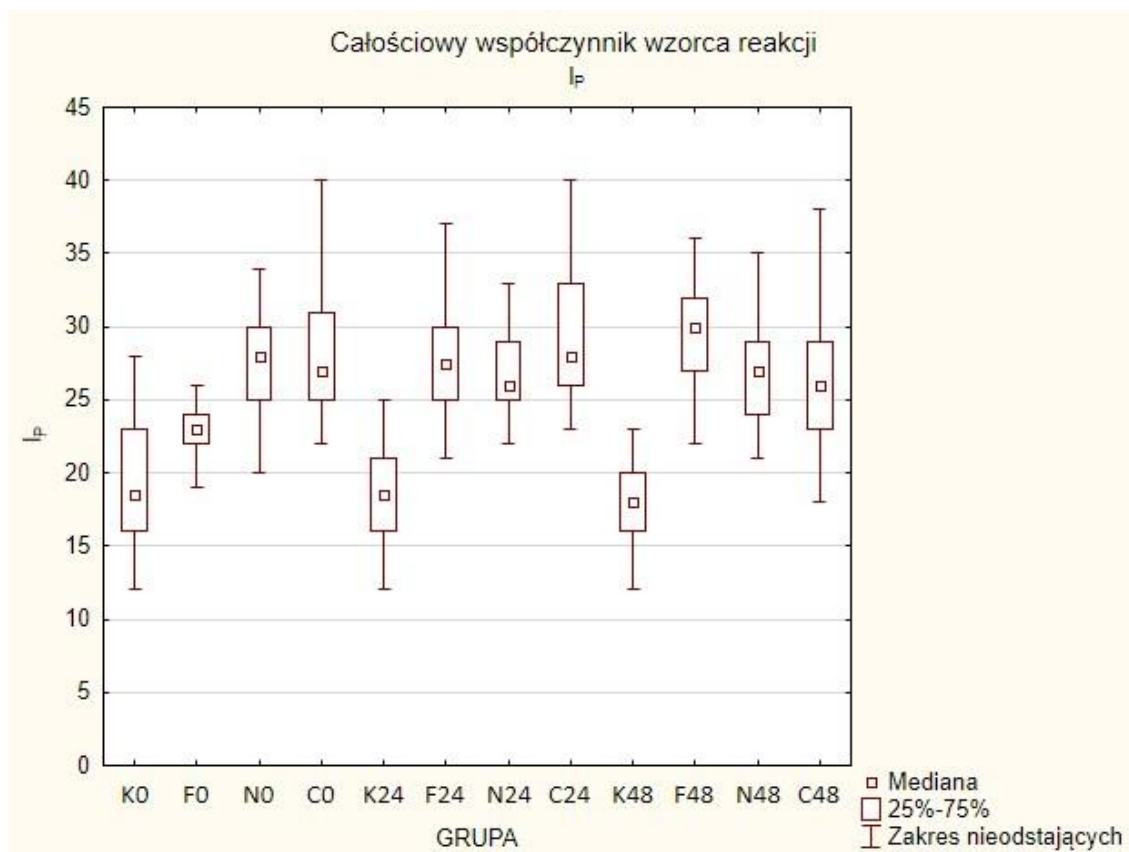


Tab. 57) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika zmian wstecznych  $I_R$ .

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<b>K0</b>	30	1529,50	50,9833
<b>F0</b>	30	3535,50	117,8500
<b>N0</b>	30	4166,50	138,8833
<b>C0</b>	30	7166,50	238,8833
<b>K24</b>	30	1289,50	42,9833
<b>F24</b>	30	5867,50	195,5833
<b>N24</b>	30	6415,50	213,8500
<b>C24</b>	30	9416,00	313,8667
<b>K48</b>	30	1394,50	46,4833
<b>F48</b>	30	7396,00	246,5333
<b>N48</b>	30	6644,00	221,4667
<b>C48</b>	30	10159,00	338,6333

Tab. 58) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika zmian wstecznych  $I_R$ .

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<b>F0</b>	Z 2,48852										
	p 0,846623										
<b>N0</b>	Z 3,27130	0,782780									
	p 0,070656	1,000000									
<b>C0</b>	Z 6,99291	4,504394	3,721615								
	p 0,000000	0,000439	0,013065								
<b>K24</b>	Z 0,29773	2,786249	3,569028	7,290643							
	p 1,000000	0,351925	0,023648	0,000000							
<b>F24</b>	Z 5,38145	2,892935	2,110155	1,611459	5,67918						
	p 0,000005	0,251896	1,000000	1,000000	0,000001						
<b>N24</b>	Z 6,06127	3,572750	2,789970	0,931644	6,35900	0,679815					
	p 0,000000	0,023315	0,347905	1,000000	0,000000	1,000000					
<b>C24</b>	Z 9,78350	7,294985	6,512205	2,790591	10,08123	4,402050	3,722235				
	p 0,000000	0,000000	0,000000	0,347239	0,000000	0,000708	0,013033				
<b>K48</b>	Z 0,16747	2,655992	3,438772	7,160387	0,13026	5,548927	6,228742	9,95098			
	p 1,000000	0,521898	0,038568	0,000000	1,000000	0,000002	0,000000	0,000000			
<b>F48</b>	Z 7,27762	4,789098	4,006318	0,284704	7,57535	1,896163	1,216348	2,50589	7,44509		
	p 0,000000	0,000111	0,004070	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,806154	0,000000		
<b>N48</b>	Z 6,34473	3,856213	3,073433	0,648181	6,64246	0,963278	0,283463	3,43877	6,51221	0,932885	
	p 0,000000	0,007600	0,139663	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,038568	0,000000	1,000000	
<b>C48</b>	Z 10,70522	8,216705	7,433925	3,712311	11,00295	5,323770	4,643955	0,92172	10,87270	3,427607	4,360492
	p 0,000000	0,000000	0,000000	0,013555	0,000000	0,000007	0,000226	1,000000	0,000000	0,040189	0,000856



Ryc. 83) Całościowy współczynnik zmian postępowych  $I_P$ .

Statystyki opisowe całkowitego współczynnika zmian postępowych  $I_P$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 83. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 59. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 190,370 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

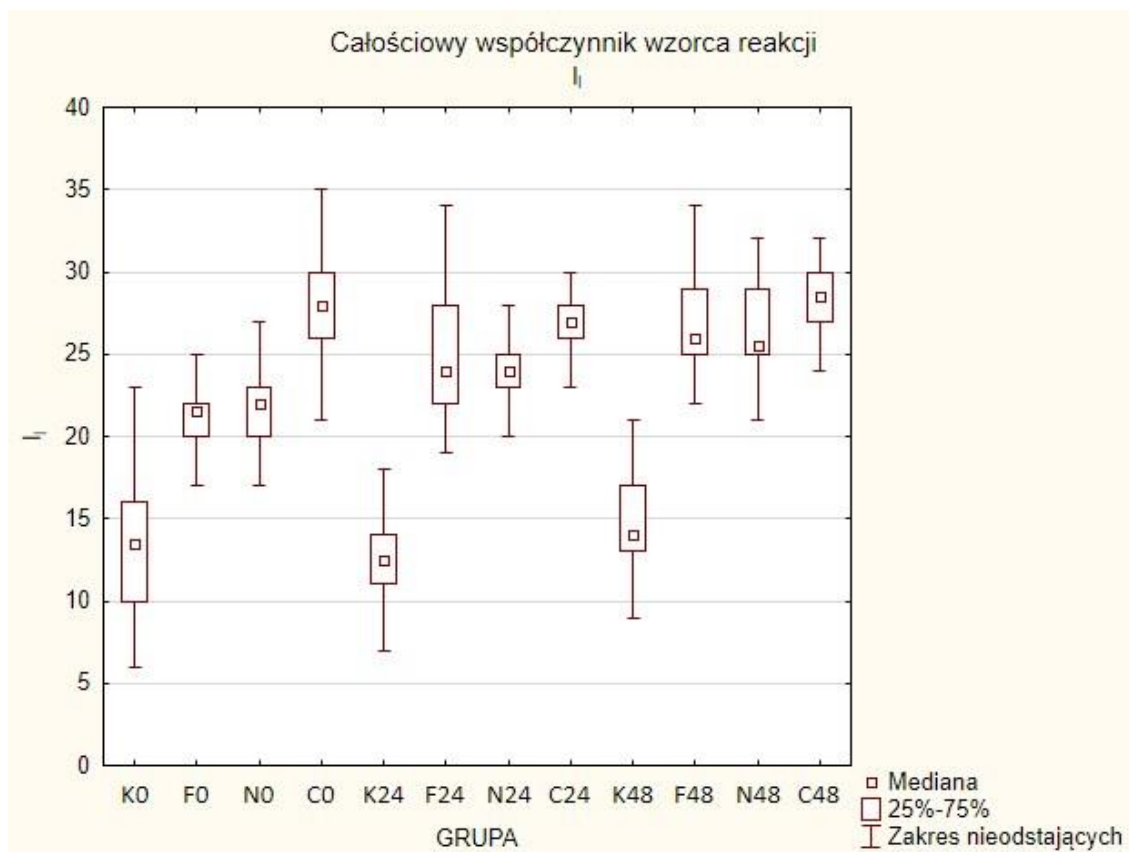
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 60, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 59) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całkowitego współczynnika zmian postępowych I<sub>p</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	2452,500	81,7500
<i>F0</i>	30	3721,000	124,0333
<i>N0</i>	30	6674,000	222,4667
<i>C0</i>	30	7182,500	239,4167
<i>K24</i>	30	1776,000	59,2000
<i>F24</i>	30	6950,000	231,6667
<i>N24</i>	30	6434,500	214,4833
<i>C24</i>	30	7836,500	261,2167
<i>K48</i>	30	1595,000	53,1667
<i>F48</i>	30	8064,000	268,8000
<i>N48</i>	30	6372,500	212,4167
<i>C48</i>	30	5921,500	197,3833

Tab. 60) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całkowitego współczynnika zmian postępowych I<sub>p</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z 1,573623										
	p 1,000000										
<i>N0</i>	Z 5,236932	3,663309									
	p 0,000011	0,016433									
<i>C0</i>	Z 5,867746	4,294123	0,630814								
	p 0,000000	0,001158	1,000000								
<i>K24</i>	Z 0,839224	2,412847	6,076156	6,706970							
	p 1,000000	1,000000	0,000000	0,000000							
<i>F24</i>	Z 5,579321	4,005698	0,342389	0,288425	6,418545						
	p 0,000002	0,004081	1,000000	1,000000	0,000000						
<i>N24</i>	Z 4,939823	3,366200	0,297109	0,927923	5,779047	0,639497					
	p 0,000052	0,050299	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000					
<i>C24</i>	Z 6,679058	5,105435	1,442126	0,811312	7,518282	1,099737	1,739235				
	p 0,000000	0,000022	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000				
<i>K48</i>	Z 1,063762	2,637384	6,300694	6,931507	0,224537	6,643082	6,003585	7,742819			
	p 1,000000	0,551418	0,000000	0,000000	1,000000	0,000000	0,000000	0,000000			
<i>F48</i>	Z 6,961280	5,387657	1,724348	1,093534	7,800504	1,381960	2,021457	0,282222	8,025042		
	p 0,000000	0,000005	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z 4,862910	3,289287	0,374022	1,004836	5,702134	0,716411	0,076913	1,816148	5,926671	2,098370	
	p 0,000076	0,066291	1,000000	1,000000	0,000001	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	
<i>C48</i>	Z 4,303427	2,729804	0,933505	1,564319	5,142651	1,275894	0,636396	2,375631	5,367189	2,657853	0,559483
	p 0,001110	0,418255	1,000000	1,000000	0,000018	1,000000	1,000000	1,000000	0,000005	0,519025	1,000000



Ryc. 84) Całościowy współczynnik zmian zapalnych  $I_1$ .

Statystyki opisowe całkowitego współczynnika zmian zapalnych  $I_1$  w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 84. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 61. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 269,018 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

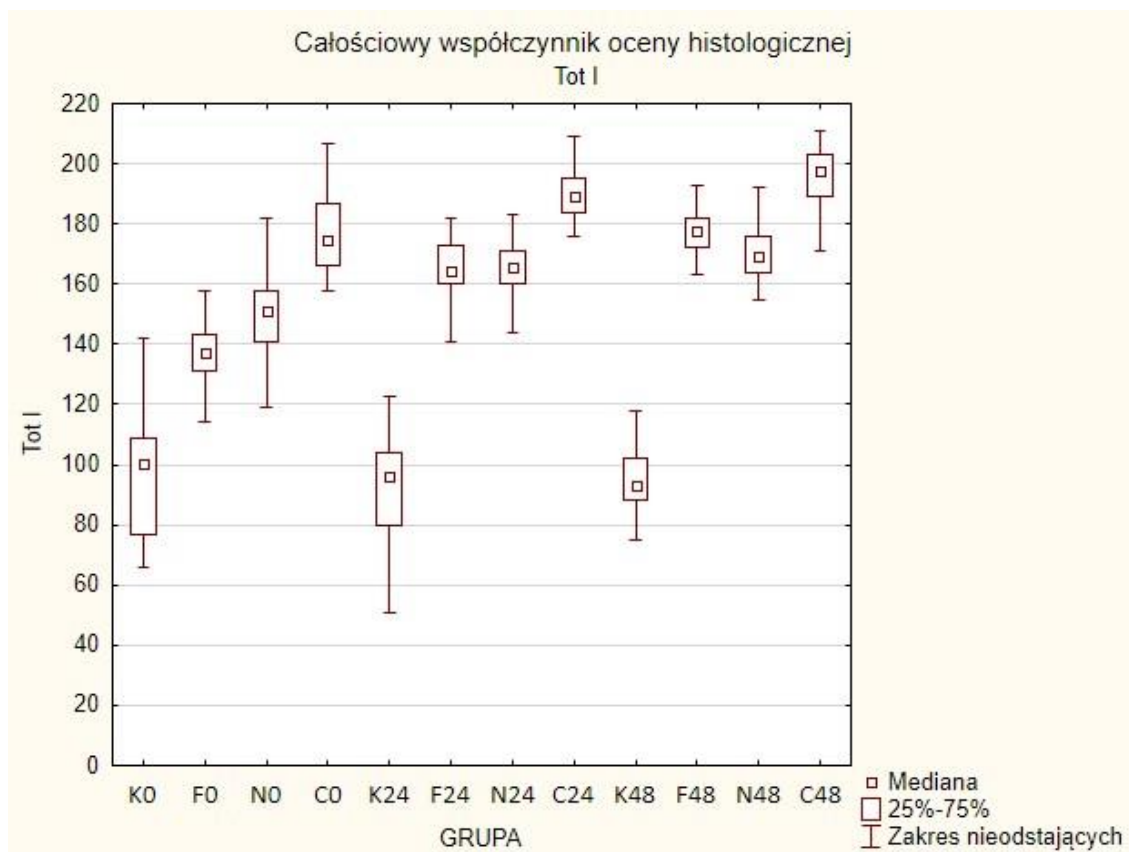
Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 62, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.

Tab. 61) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika zmian zapalnych I<sub>1</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<b>K0</b>	30	1545,000	51,5000
<b>F0</b>	30	3971,500	132,3833
<b>N0</b>	30	4354,000	145,1333
<b>C0</b>	30	8541,500	284,7167
<b>K24</b>	30	1155,500	38,5167
<b>F24</b>	30	6281,500	209,3833
<b>N24</b>	30	5553,500	185,1167
<b>C24</b>	30	7974,500	265,8167
<b>K48</b>	30	1776,000	59,2000
<b>F48</b>	30	7638,000	254,6000
<b>N48</b>	30	7337,000	244,5667
<b>C48</b>	30	8852,000	295,0667

Tab. 62) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika zmian zapalnych I<sub>1</sub>.

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<b>F0</b>	Z 3,010166										
	p 0,172329										
<b>N0</b>	Z 3,484672	0,474506									
	p 0,032521	1,000000									
<b>C0</b>	Z 8,679426	5,669260	5,194754								
	p 0,000000	0,000001	0,000014								
<b>K24</b>	Z 0,483190	3,493356	3,967861	9,162615							
	p 1,000000	0,031481	0,004786	0,000000							
<b>F24</b>	Z 5,875809	2,865643	2,391137	2,803616	6,358999						
	p 0,000000	0,274668	1,000000	0,333518	0,000000						
<b>N24</b>	Z 4,972697	1,962531	1,488026	3,706728	5,455887	0,903112					
	p 0,000044	1,000000	1,000000	0,013857	0,000003	1,000000					
<b>C24</b>	Z 7,976040	4,965874	4,491369	0,703385	8,459230	2,100231	3,003343				
	p 0,000000	0,000045	0,000467	1,000000	0,000000	1,000000	0,176241				
<b>K48</b>	Z 0,286564	2,723602	3,198108	8,392861	0,769754	5,589245	4,686133	7,689476			
	p 1,000000	0,426191	0,091300	0,000000	1,000000	0,000002	0,000184	0,000000			
<b>F48</b>	Z 7,558599	4,548433	4,073927	1,120826	8,041789	1,682790	2,585902	0,417441	7,272035		
	p 0,000000	0,000357	0,003051	1,000000	0,000000	1,000000	0,641022	1,000000	0,000000		
<b>N48</b>	Z 7,185197	4,175031	3,700525	1,494228	7,668387	1,309388	2,212500	0,790843	6,898633	0,373402	
	p 0,000000	0,001966	0,014200	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	
<b>C48</b>	Z 9,064613	6,054447	5,579941	0,385187	9,547802	3,188803	4,091915	1,088572	8,778048	1,506013	1,879415
	p 0,000000	0,000000	0,000002	1,000000	0,000000	0,094290	0,002824	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000



Ryc. 85) Całościowy współczynnik oceny histologicznej Tot I.

Statystyki opisowe całkowitego współczynnika oceny histologicznej Tot I w poszczególnych grupach przedstawia Ryc. 85. Wyniki nieparametrycznej analizy wariancji ANOVA rang Kruskala-Wallisa, zaprezentowano w Tab. 63. Wartość statystyki testowej Kruskala-Wallisa  $H$  ( $df = 11$ ,  $N = 360$ ) = 310,359 okazała się być wysoce istotna,  $p = 0,0001$ . Istotność oszacowania była znacznie dokładniejsza niż pierwotnie zakładany poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

Zgodnie ze schematem postępowania gdy wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa są istotne, przeprowadzono test post-hoc dla nieparametrycznej analizy wariancji (porównań wielokrotnych Dunna), w celu znalezienia konkretnych różnic pomiędzy badanymi rybami w poszczególnych grupach. Wartości otrzymanych statystyk testowych  $Z$  wraz z odpowiadającymi im wartościami  $p$  zestawiono w Tab. 64, różnice istotne statystycznie zaznaczono kolorem czerwonym.



Tab. 63) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika oceny histologicznej Tot I.

<i>GRUPA</i>	<i>N ważnych</i>	<i>Suma Rang</i>	<i>Średnia Ranga</i>
<i>K0</i>	30	1512,500	50,4167
<i>F0</i>	30	3405,000	113,5000
<i>N0</i>	30	4338,500	144,6167
<i>C0</i>	30	7636,500	254,5500
<i>K24</i>	30	1259,000	41,9667
<i>F24</i>	30	5855,000	195,1667
<i>N24</i>	30	6001,500	200,0500
<i>C24</i>	30	9336,000	311,2000
<i>K48</i>	30	1413,000	47,1000
<i>F48</i>	30	7711,500	257,0500
<i>N48</i>	30	6700,500	223,3500
<i>C48</i>	30	9811,000	327,0333

Tab. 64) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika oceny histologicznej Tot I.

<i>GRUPA</i>	<i>K0</i>	<i>F0</i>	<i>N0</i>	<i>C0</i>	<i>K24</i>	<i>F24</i>	<i>N24</i>	<i>C24</i>	<i>K48</i>	<i>F48</i>	<i>N48</i>
<i>F0</i>	Z 2,34772										
	p 1,000000										
<i>N0</i>	Z 3,50576	1,158042									
	p 0,030050	1,000000									
<i>C0</i>	Z 7,59706	5,249337	4,091295								
	p 0,000000	0,000010	0,002831								
<i>K24</i>	Z 0,31448	2,662195	3,820237	7,911532							
	p 1,000000	0,512377	0,008799	0,000000							
<i>F24</i>	Z 5,38704	3,039319	1,881276	2,210019	5,70151						
	p 0,000005	0,156495	1,000000	1,000000	0,000001						
<i>N24</i>	Z 5,56878	3,221057	2,063015	2,028280	5,88325	0,181739					
	p 0,000002	0,084294	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000					
<i>C24</i>	Z 9,70535	7,357632	6,199590	2,108295	10,01983	4,318314	4,136575				
	p 0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	0,000000	0,001038	0,002327				
<i>K48</i>	Z 0,12343	2,471152	3,629195	7,720490	0,19104	5,510471	5,692210	9,82878			
	p 1,000000	0,888878	0,018764	0,000000	1,000000	0,000002	0,000001	0,000000			
<i>F48</i>	Z 7,69010	5,342378	4,184335	0,093040	8,00457	2,303059	2,121320	2,01525	7,81353		
	p 0,000000	0,000006	0,001888	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000		
<i>N48</i>	Z 6,43591	4,088194	2,930151	1,161144	6,75039	1,048875	0,867136	3,26944	6,55935	1,254184	
	p 0,000000	0,002869	0,223606	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,071122	0,000000	1,000000	
<i>C48</i>	Z 10,29461	7,946888	6,788845	2,697550	10,60908	4,907569	4,725830	0,58926	10,41804	2,604510	3,858694
	p 0,000000	0,000000	0,000000	0,461021	0,000000	0,000061	0,000151	1,000000	0,000000	0,607238	0,007524

Poziom sumarycznych różnic reakcji w postaci występowania zmian patomorfologicznych u pstrągów tęczowych w wyniku zastosowania kąpieli z badanymi substancjami w poszczególnych powtórzeniach przedstawiono w Tab. 65.

Tab. 65) Porównanie istotności statystycznej różnic całościowych współczynników wzorców reakcji i całościowego współczynnika oceny histologicznej Tot I u pstrągów tęczowych po jednokrotnej, dwukrotnej i trzykrotnej kąpieli w badanych substancjach (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie  $p < 0,05$  przypisano oznaczenia literowe).

<i>Liczba kąpieli</i>	<i>Współczynnik</i>	<i>Substancja</i>			
		K	F	N	C
<i>1 x</i>	$I_C$	a	b	bc	c
	$I_R$	a	a	a	b
	$I_P$	a	a	b	b
	$I_I$	a	ab	b	c
	Tot I	a	b	b	c
<i>2 x</i>	$I_C$	a	b	b	b
	$I_R$	a	b	b	c
	$I_P$	a	b	b	b
	$I_I$	a	b	b	b
	Tot I	a	b	b	c
<i>3 x</i>	$I_C$	a	b	b	b
	$I_R$	a	b	b	c
	$I_P$	a	b	b	b
	$I_I$	a	b	b	b
	Tot I	a	b	bc	c

## 7. DYSKUSJA

### 7.1. Czynniki wpływające na skuteczność kąpiei profilaktycznych

Choroby są głównym czynnikiem zagrażającym rozwojowi akwakultury (FAO, 2020; OIE, 2021). Wywierają znaczny wpływ na dobrostan zwierząt, źródła utrzymania ludzi, a także środowisko. Szacuje się, że ryzyko przyszłych epidemii wzrośnie wraz ze wzrostem produkcji, udomowieniem nowych gatunków i intensyfikacją handlu (FAO, 2020; OIE, 2021). Profilaktyczne i lecznicze kąpiele antyseptyczne należą do kluczowych działań bioasekuracyjnych, stanowiąc istotne narzędzia zapobiegania chorobom (Naumowicz, 2017; Naumowicz i Terech-Majewska, 2019; Noga, 2010; Scarfe i Palić, 2020).

Podanie substancji do wody w ramach profilaktyki i terapii leczniczej jest stosowane nie tylko w przypadku problemów zewnętrznych, takich jak ektopasożyty, ale także w przypadku chorób ogólnoustrojowych. Niestety podanie substancji do wody ma swoje wady i ograniczenia, głównie ze względu na to, że dodaje kolejną zmienną do czynników, które należy wziąć pod uwagę przy próbie ustalenia właściwej dawki terapeutycznej do leczenia ryb w określonych okolicznościach (Kleinow i in., 2008; Noga, 2010; Tierney i in., 2013; Treves-Brown, 2000).

Farmakokinetyka obejmuje cztery procesy zależne od czasu: absorpcję, rozmieszczenie, biotransformację (metabolizm) i wydalanie (ADME, ang. chemical absorption, distribution, metabolism, excretion). Od tych procesów zależą poziomy endogennych, jak i egzogennych związków, zarówno krążących, jak i komórkowych, a także ich aktywność fizjologiczna, farmakologiczna i toksykologiczna. Badania farmako- i toksykokinetyczne dotyczą zmian stężenia substancji chemicznej lub jej metabolitów w czasie, w płynach krążących lub innych tkankach. U ryb opisano dobrze wiele modeli toksykokinetycznych (zarówno klasycznych, jak i fizjologicznych), dzięki pogłębieniu wiedzy o ADME w tej grupie zwierząt (Stadnicka i in., 2012; Tierney i in., 2013).

Potencjał wchłaniania farmakoterapeutyków i ksenobiotyków przez ryby występuje we wszystkich komórkach nabłonka mających kontakt z wodą i pokarmem. Jednakże największy jest w nabłonkach układu oddechowego i przewodu pokarmowego, których budowa sprzyja szybkiemu i skutecznemu wchłanianiu. Cechami tkanki nabłonkowej zwiększającymi szybkość wchłaniania są: duża powierzchnia, krótki dystans dyfuzji i wysoka perfuzja krwi. Wymienione cechy będą wykazywały różnice nie tylko międzygatunkowe, ale będą również różne na różnych etapach rozwojowych. Substancje chemiczne przenikają do i przez nabłonek za pomocą mechanizmów: prostej dyfuzji biernej, dyfuzji ułatwionej, filtracji przez kanały błonowe, transport aktywny i endocytozę (Stadnicka i in., 2012; Tierney i in., 2013).

Budowa powłoki wspólnej jest u ryb czynnikiem, który może wpływać na skuteczność kąpiei profilaktycznych i terapeutycznych. Zmiany w grubości skóry i obecności łusek wpływają na szybkość wchłaniania substancji przez skórę. Ponadto brak keratynizacji naskórka oraz bogata sieć unaczynienia drugorzędowego może zwiększać zdolność leków do penetracji skóry, co będzie szczególnie ważne u narybku (Erickson i in., 2008; Kleinow i in., 2008; Noga, 2010). Co więcej, młode ryby mają znacznie większy stosunek powierzchni skóry do powierzchni skrzelii, a skóra może być główną drogą pobierania tlenu przez larwy, aż do pełnego rozwoju skrzelii (Erickson i in., 2008; Rombough, 2002; Tierney i in., 2013). Będzie to miało również wpływ w sytuacji odwrotnej, gdy ryby będą przenoszone z kąpiei terapeutycznej do czystej wody. W tej sytuacji stężenia ogólnoustrojowe podanej substancji mogą szybko spadać z powodu szybkiego spadku gradientu stężeń (Kleinow i in., 2008; Noga, 2010).

Ze względu na pełnione różnorodne funkcje fizjologiczne skrzelia ryb mają następujące cechy, ważne dla absorpcji substancji chemicznych z wody (Erickson i in., 2008; Noga, 2010):

- przepływają przez nie duże objętości wody na godzinę, od kilku do kilkuset razy większe niż objętość ryby, ponadto występuje w nich znaczny przepływ krwi (zwykle o rząd wielkości niższy niż objętość przepływu wody);
- mają dużą powierzchnię, a do tego niewielką odległość oddzielającą wodę i krew;
- w blaszkach skrzelowych ma miejsce przeciwpływ krwi i wody, poprawia to wydajność wymiany cząsteczek między nimi;
- tkanka nabłonkowa skrzelii zawiera różnorodne systemy biochemiczne, które wpływają i regulują wymianę różnych substancji między krwią a wodą

przechodzącą przez skrzela; białka transportowe i kanały jonowe mogą służyć jako miejsca wchłaniania substancji chemicznych o odpowiednich właściwościach fizykochemicznych;

- zbędne produkty wymiany oddechowej i metabolizmu azotowego (dwutlenek węgla i amoniak) wpływają na pH powierzchni skrzelowej, tworząc środowisko chemiczne przylegające do ich powierzchni, które może znacznie różnić się od otaczającej wody (Lloyd i Herbert, 1960; Playle i Wood, 1989; Wright i in., 1986);
- komórki nabłonka skrzeli są pokryte cienką warstwą śluzu, który również może wpływać na specjację chemiczną na powierzchni skrzeli i w sąsiadującej wodzie (Tao i in., 2002).

Opracowano modele biodostępności i wchłaniania substancji chemicznych przez nabłonek skrzeli. Absorpcja cząsteczek będzie zachodzić dzięki transferowi przez szereg przedziałów wodnych i lipidowych (Erickson i in., 2008; Tierney i in., 2013). Najpierw substancja chemiczna musi dotrzeć z wodą do powierzchni nabłonka, a następnie, aby dostać się do krwi, musi przejść przez kilka barier dyfuzyjnych, w tym błonę komórkową. Szybkość przenikania przez bariery będzie zależała od właściwości chemicznych substancji, a dokładniej od współczynnika podziału  $\log K_{OW}$ , będącego miarą lipofilowości substancji. Wzajemny stosunek wchłaniania danej substancji w skrzelach do jej  $\log K_{OW}$ , opisuje funkcja sigmoidalna (Erickson i in., 2008; Erickson i McKim, 1990; McKim i in., 1985; Stadnicka i in., 2012; Tierney i in., 2013).

Substancje rozpuszczalne w wodzie z  $\log K_{OW} < 1$  są bardzo dostępne dla nabłonka skrzeli, ponieważ łatwo rozpuszczają się w wodzie. Ich wchłanianie jest jednak bardzo niskie, ponieważ ze względu na bardzo niską rozpuszczalność w lipidach, nie przechodzą łatwo z wody do komórek. Do takich substancji należy formaldehyd, którego  $\log K_{OW} = 0,35$ . W przypadku substancji o wartościach  $\log K_{OW}$  od 1 do 3, absorpcja wzrasta wraz ze wzrostem  $\log K_{OW}$ , ponieważ mają one wystarczającą rozpuszczalność w wodzie, aby mogły dotrzeć do nabłonka skrzeli i wystarczającą rozpuszczalność w lipidach, aby ulec dyfuzji przez błony komórkowe. Jednakże ich poziom wchłaniania jest niższy niż w przypadku tlenu, co należy rozpatrywać w kategoriach specjacji chemicznej i właściwości transportu przez błony. Wchłanianie substancji o  $\log K_{OW} < 3$  jest wolniejsze, ponieważ te substancje nie wiążą się tak silnie ze składnikami krwi, co podczas przechodzenia przez skrzela skutkuje znacznym

wzrostem stężenia wolnych substancji we krwi, zmniejszając w ten sposób gradient dyfuzji. Szybkość absorpcji substancji o  $\log K_{OW} < 3$  będzie więc przede wszystkim ograniczona przez szybkość, z jaką krew przepływa przez blaszki skrzelowe (Erickson i in., 2008; Erickson i McKim, 1990; McKim i in., 1985; Tierney i in., 2013).

Dla obojętnych związków organicznych o umiarkowanej hydrofobowości ( $3 < \log K_{OW} < 6$ ) wydajność wchłaniania przez skrzela pozostaje wysoka i względnie stała, o wartościach zbliżonych do tlenu. Absorpcja tych substancji jest wysoka, ponieważ, podobnie jak tlen: występują one w wodzie jako proste, małe, obojętne cząsteczki, które mogą łatwo dyfundować do i przez nabłonek skrzeli, oraz łatwo wiążą się ze składnikami krwi, utrzymując w ten sposób silny gradient dyfuzji z wody do krwi. Szybkość wchłaniania tych substancji jest przede wszystkim ograniczona przez szybkość, z jaką woda przepływa przez blaszki skrzelowe (Erickson i in., 2008; Erickson i McKim, 1990; McKim i in., 1985; Tierney i in., 2013).

W przypadku substancji hydrofobowych ( $\log K_{OW} > 6$ ) wchłanianie przez nabłonek skrzeli jest ograniczone ze względu na ich bardzo niską rozpuszczalność w wodzie. Trudniej dyfundują przez błony komórkowe, ponieważ większy rozmiar tych cząsteczek zmniejsza ich zdolność do penetracji błon lipidowych. Ponadto ich wysoka hydrofobowość powoduje, że mogą łączyć się w micelle, które poprzez znaczny wzrost ich masy cząsteczkowej i objętości dodatkowo zmniejsza szybkość wchłaniania. Niskim tempem absorpcji będą charakteryzowały się również substancje częściowo zjonizowane, ponieważ formy jonowe substancji trudniej dyfundują przez błony lipidowe. W przypadku obu tych grup substancji tempo absorpcji jest ograniczone głównie przez ich dyfuzję przez nabłonek, a nie przez przepływ wody i krwi (Erickson i in., 2008; Erickson i McKim, 1990; McKim i in., 1985; Tierney i in., 2013).

Ryby w hipertonicznym środowisku wody morskiej piją znaczne ilości wody i razem z nią mogą przyjąć pewne ilości substancji przez przewód pokarmowy. Ryby słodkowodne, piją mało wody, stąd wchłanianie przez przewód pokarmowy w środowisku hipotonicznym zachodzi tylko w nieznacznym stopniu (Noga, 2010; Treves-Brown, 2000). Na przykładzie sulfonamidów u pstrąga tęczowego wykazano znacznie wyższe wchłanianie sulfonamidów podanych do wody słonej niż do wody słodkiej (Bergsjø i Bergsjø, 1978; Treves-Brown, 2000). Z drugiej strony, podanie do wody słonej może prowadzić do chelatowania substancji, obniżając ich biodostępność.



Chelatowanie dwuwartościowych kationów do kompleksów o ładunku obojętnym uniemożliwia swobodne wchłanianie przez błony komórkowe. U pstrąga tęczowego udowodniono gorszą przyswajalność oksytetracykliny w przypadku wody słonej (Lunestad i Goksøyr, 1990). Wychwytywanie wielu innych leków również jest mniej wydajne w wodzie morskiej niż w wodzie słodkiej (Lunestad, 1992; Lunestad i Samuelssen, 2001; Rairat i in., 2020).

Właściwe stosowanie kąpeli profilaktycznych i leczniczych będzie zależało nie tylko od dobrej znajomości chorób występujących w danym gospodarstwie, ale także od właściwości zastosowanego środka farmakologicznego, leczonego gatunku oraz warunków środowiskowych. Podczas podawania substancji do wody, oprócz okresu półtrwania w rybach należy wziąć pod uwagę ich okres półtrwania w środowisku (Noga, 2010). Ryby bardzo szybko przyswajają substancje podane do wody. Dla większości substancji czas ( $t_{max}$ ) mijający od podania substancji do osiągnięcia w osoczu krwi maksymalnego stężenia ( $C_{max}$ ) substancji aktywnej u żadnego zbadanego gatunku nie jest dłuższy niż 30 minut, a u gatunków małych tropikalnych ryb ozdobnych może być krótszy niż 60 sekund. Po przekroczeniu tego czasu ryby będą pływać w substancji, której już nie potrzebują przyswajając, podobnie jak wszystkie inne ryby w tym samym zbiorniku lub stawie, niezależnie od zapotrzebowania na dawkę. Sytuacja ta będzie się utrzymywać aż do całkowitej wymiany wody (Treves-Brown, 2000).

Większość substancji dodawanych do wody jest niestabilna i szybko ulega degradacji, w związku z tym właściwe dawkowanie jest utrudnione, co może prowadzić do osiągnięcia niewłaściwego stężenia administrowanej substancji (zbyt niskiego lub zbyt wysokiego) (Noga, 2010; Treves-Brown, 2000). Ponadto substancje niestabilne w wodzie mogą wymagać wielokrotnego dawkowania i usuwania nieaktywnych produktów ubocznych substancji, częstokroć toksycznych, wraz z podmianami wody (Kleinow i in., 2008; McDonnell i Russell, 1999). Dodatkowo wykorzystywane substancje często mają niski indeks terapeutyczny i muszą być ściśle monitorowane pod kątem ichtiotoksyczności w trakcie stosowania (Noga, 2010; Treves-Brown, 2000). W przypadku środków przeznaczonych do leczenia chorób ogólnoustrojowych, konieczne jest osiągnięcie stężenia terapeutycznego w tkankach docelowych i tylko nieliczne z substancji podawanych w wodzie mogą je osiągnąć (Treves-Brown, 2000).

Na aktywność chemiczną i szybkość wchłaniania mogą mieć wpływ pH, temperatura, światło, twardość wody i wiele innych czynników (Lunestad, 1992; Treves-Brown, 2000). Prawie wszystkie dane dotyczące farmakologii leków i losów substancji w środowisku pochodzą ze środowisk o klimacie umiarkowanym. Większość dawek dla substancji podawanych do wody opiera się na badaniach gatunków ryb hodowlanych (np. łososiowatych), a stosunkowo niewiele informacji jest dostępnych o gatunkach tropikalnych (Noga, 2010; Reimschuessel i in., 2005). Podczas stosowania kąpeli profilaktycznych i leczniczych istnieje ryzyko wystąpienia reakcji idiosynkratycznych lub nadwrażliwości. Stosunkowo niewielkie różnice w dawkowaniu, czasie ekspozycji lub temperaturze mogą mieć duży wpływ na toksyczność substancji, nawet w przypadku gatunków ryb, dla których dawki terapeutyczne zostały ustalone (Heinen i in., 1995). Dlatego przed podaniem substancji zaleca się przeprowadzenie testu biologicznego na małej liczbie osobników przed zastosowaniem kąpeli profilaktycznych i leczniczych u ryb bez znanej historii reakcji na podanie danej substancji (Noga, 2010; Samuelson, 2006). Niestety, test biologiczny nie jest możliwy do wykonania przed leczeniem pojedynczej ryby ozdobnej. Odpowiedź ryb na tę samą substancję i w określonych warunkach środowiskowych może być zmienna nie tylko gatunkowo, ale również wiekowo. Młodsze ryby, zwłaszcza larwy, są znacznie mniej tolerancyjne na farmakoterapię niż ryby starsze (Noga, 2010; Treves-Brown, 2000).

Ponadto wpływ na skuteczność kąpeli będzie miał również stan fizjologiczny zwierzęcia - dostępność biologiczna substancji i dynamika ich wydalania różni się u zdrowych i chorych ryb (Terzi i in., 2020; Uno, 1996; Wang i in., 2015). Przeprowadzenie kąpeli powinno zależeć od dokładnej analizy aktualnego stanu zdrowotnego – jeżeli u danej grupy ryb potwierdzono infestację pasożytami zewnętrznymi, to istnieje bardzo silne wskazanie do przeprowadzenia kąpeli leczniczej. Jednakże w przypadku ryb klinicznie zdrowych, nie wykazujących objawów chorobowych, przeprowadzenie kąpeli może być czynnikiem stresowym, który nie tylko nie przyniesie korzyści zdrowotnych, lecz może doprowadzić do zwiększenia wrażliwości ryb na patogeny oportunistyczne, przebywające w środowisku (Naumowicz, 2017; Noga, 2010). Ryby nigdy nie powinny być pozostawione bez opieki podczas stosowania kąpeli profilaktycznych i leczniczych, ponieważ w przypadku wystąpienia reakcji niepożądaney, należy natychmiast przenieść je do czystej wody lub rozcieńczyć stężenie substancji przez dodanie czystej wody do zbiornika z kąpielą (Noga, 2010).

Ponadto, należy zwracać uwagę na właściwy sposób przeprowadzania kąpieli. Dotyczy to nie tylko odpowiednich dawek, czasu trwania zabiegu, zastosowania dodatkowego natlenienia wody, ale także liczby i częstotliwości powtórzeń (Grudniewska i Terech-Majewska, 2015; Naumowicz, 2017; Naumowicz i Terech-Majewska, 2019; Terech-Majewska i in., 2010).

Woda jest środowiskiem życia wielu gatunków i dodawanie do niej jakiegokolwiek substancji musi być wykonane z pełnym uwzględnieniem potencjalnego wpływu użytej substancji na jakość środowiska. Na przykład formaldehyd, stosowany jako środek pasożyto-bójczy, jest silnym środkiem redukującym i jeśli nie zapewni się odpowiedniego poziomu napowietrzenia, szybko zmniejszy poziom tlenu zawartego w wodzie (Noga, 2010). Co więcej, podane do wody substancje (np. niektóre antybiotyki czy wykorzystywane w akwarystyce błękit metylenowy), mogą silnie hamować rozwój i zdolność bakterii nitryfikacyjnych do detoksykacji odpadów azotowych w akwariach i systemach zwrotnego obiegu wody, prowadząc do akumulacji toksycznych metabolitów i zatrucia ryb amoniakiem lub azotynami, a w skrajnych przypadkach nawet śmierci (McDonnell i Russell, 1999; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000). Formaldehyd, chlorek sodu i siarczan miedzi (II) są zaliczane do substancji, które w dawkach terapeutycznych nie będą negatywnie wpływały na składniki biofiltra (Heinen i in., 1995; Treves-Brown, 2000). Zazwyczaj najbardziej toksyczną dla składników osadu filtrów biologicznych będzie metoda kąpieli w małej ilości wody, ale niektóre leki (np. erytromycyna, neomycyna lub błękit metylenowy) są toksyczne nawet przy zastosowaniu metody przedłużonej immersji (McDonnell i Russell, 1999; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000).

Przed rozpoczęciem podania substancji do wody należy opracować odpowiednie plany detoksykacji, usunięcia i unieszkodliwienia zużytych leków. Zużyte substancje należy usuwać w sposób odpowiedzialny. Procedury utylizacji będą zależały od rodzaju użytej substancji i aktualnie obowiązujących przepisów. Właściwa utylizacja jest szczególnie ważna w przypadku metody płukania i ciągłego przepływu. Przed zastosowaniem danej substancji należy zapoznać się z przepisami dotyczącymi ochrony środowiska, zwłaszcza jeśli woda z obiegu hodowlanego może przedostać się do wód publicznych (Noga, 2010). Niestety ze względu na udowodnione działanie mutagenne, rakotwórcze, silnie drażniące i alergizujące formaldehydu, podlega on pod regulację zawartą w pkt. 4, wykazu I, Załącznik 1 do Rozporządzenia Ministra Gospodarki Morskiej i Żeglugi Śródlądowej z dnia 12 lipca 2019 r. w sprawie substancji szczególnie

szkodliwych dla środowiska wodnego oraz warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu do wód lub do ziemi ścieków, a także przy odprowadzaniu wód opadowych lub roztopowych do wód lub do urządzeń wodnych (Dz. U. poz. 1311). Oznacza to, że nie może być stosowany w gospodarstwach prowadzących zrzut wody do środowiska naturalnego. Jeżeli woda w danym obiekcie (na przykład wykorzystującym systemy zwrotnego obiegu wody) trafia do oczyszczalni ścieków, to teoretycznie istnieje w nim możliwość zastosowania formaliny z przepisu lekarza.

Dodatkową wadą kąpiei antyseptycznych jest to, że są skuteczne przeciwko niektórym patogenom oddziałującym na skórę i skrzela, a niestety nie wpływają na patogeny wewnętrzne lub znajdujące się w przewodzie pokarmowym. Dzięki zastosowaniu kąpiei antyseptycznych liczba patogenów zazwyczaj ulega zmniejszeniu jedynie na tyle, aby przestać stanowić zagrożenie dla ryb, niestety nie jest możliwa całkowita likwidacja patogenów u danej ryby czy populacji (Noga, 2010). Jednakże udowodniono, że kąpiele ikry mogą skutecznie zapobiegać pionowej transmisji patogenów, jeżeli tylko znajdują się one na powierzchni a nie wewnątrz ziarna ikry (Munro i Gregory, 2010; Noga, 2010; Smail i Munro, 2008). Dlatego zawsze należy przestrzegać zasady mówiącej o dopasowaniu odpowiednich działań i środków leczniczych dopiero po postawieniu rzetelnej diagnozy (Naumowicz, 2017).

## **7.2. Reakcje na uszkodzenia i mechanizmy naprawcze w skórze i skrzelach ryb**

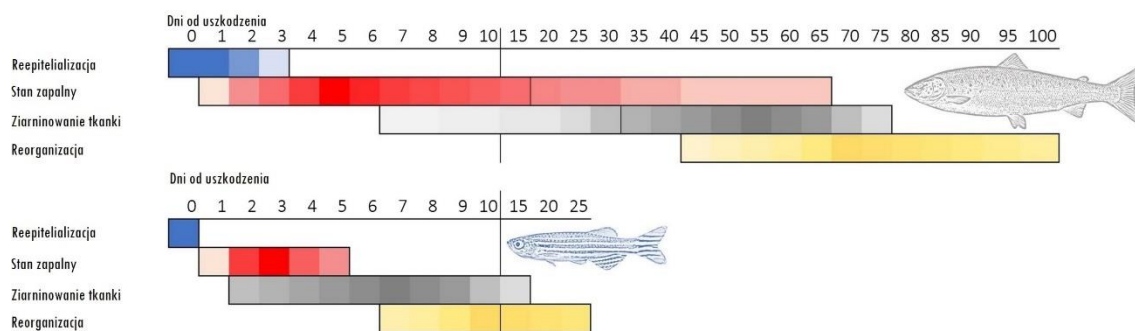
Ryby są często wykorzystywane jako zwierzęta modelowe w badaniach nad gojeniem się ran, ponieważ mechanizmy naprawcze w skórze u ryb przebiegają zdecydowanie szybciej niż u ssaków (Elliott, 2011a; Fontenot i Neiffer, 2004; Richardson i in., 2013; Sveen i in., 2018, 2019, 2020). Związane jest to z tym, że komórki nabłonkowe nie są zrogowaciałe i mają zdolność do ruchu, co stanowi kluczowy element unikalnego mechanizmu naprawy ran w powłokach ryb. Reakcja na uszkodzenie następuje już w ciągu kilku sekund lub minut po wystąpieniu urazu. Komórki nabłonka na brzegach rany zaczynają migrować grupami w kierunku jamy rany, jednocześnie podczas migracji zachowując kontakt między sobą. Komórki te szybko pokrywają ranę i zapewniają

mechaniczną barierę przed zakażeniem przez oportunistyczne patogeny z otaczającej wody na wczesnych etapach gojenia się rany (Elliott, 2011b).

Zamknięcie rany przez migrujące komórki nabłonka u ryb doskonałokostnych następuje z szybkością nawet  $5\text{--}12\ \mu\text{m min}^{-1}$ , z całkowitym zamknięciem rany występującym w ciągu kilku godzin do kilku dni. Szybkość zamykania się rany zależy od różnych czynników, w tym od temperatury wody, rozmiaru i głębokości rany, gatunku, stadium rozwojowego, diety, zagęszczenia i przepływu wody (Elliott, 2011a; Fontenot i Neiffer, 2004; Richardson i in., 2013; Schmidt i in., 2016; Sveen i in., 2018, 2019, 2020). Badania *in vitro* wykazały, że komórki nabłonka ryb są najszybciej poruszającymi się zbadanymi komórkami, poruszając się 10–20 razy szybciej niż komórki fibroblastów ssaków (Elliott, 2011b).

Na klasyczną kaskadę gojenia ran u ssaków składają się następujące po sobie procesy hemostazy, stanu zapalnego, proliferacji komórek, tworzenia ziarniny, reepitelializacji, skurczu okolicy rany i dojrzewania tkanek okalających. Procesy hemostazy przebiegają z wazokonstrykcją i koagulacją krwi, mającymi na celu wytworzenie włóknikowo-płytkowego zakrzepu. Reepitelializacja rozpoczyna się dzięki odpowiedzi zapalnej, najczęściej około 10-15 dni od powstania uszkodzenia, z jednoczesnym rozpoczęciem ziarninowania i tworzenia blizny.

U ryb kaskada gojenia ran wygląda odmiennie niż u ssaków – brak w niej początkowej fazy reakcji hemostatycznej, w związku z czym nie dochodzi do wytworzenia zakrzepu włóknikowego. Pierwszą reakcją tkanek u ryb jest reepitelializacja, dopiero po niej następują fazy: stanu zapalnego, tworzenia ziarniny i przebudowa tkanki (Ryc. 86). Uważa się również, że początkowy proces reepitelializacji zachodzi niezależnie od proliferacji komórek i stanu zapalnego (Caraguel i in., 2016; Richardson i in., 2013; Sveen i in., 2020). Należy pamiętać, że w przeciwieństwie do w większości homotermicznych ssaków, ryby są poikilotermiczne, ze zmienną temperaturą wewnętrzną, warunkowaną zmianami temperatury otoczenia, co wpływa na szybsze tempo gojenia ran u gatunków wód ciepłych i umiarkowanych niż u gatunków zimnowodnych (Elliott, 2011a; Fontenot i Neiffer, 2004; Richardson i in., 2013; Schmidt, 2013; Sveen i in., 2018, 2019, 2020).



Ryc. 86) Kaskada gojenia ran w czasie, porównanie pomiędzy gatunkiem zimnowodnym (łosoś atlantycki *Salmo salar*), a ciepłowodnym (danio pręgowany *Danio rerio*) (za Sveen i in. 2020).

Odpowiedź zapalna z rekrutacją leukocytów i makrofagów jest niezbędna do oczyszczenia rany z uszkodzonych fragmentów tkanki i dalszego przebiegu procesów naprawczych. Początkowo neutrofile pozostają za krawędzią miejsca reepitelializacji, a z czasem do miejsca rany napływa więcej neutrofili i makrofagów. U danio pręgowanego liczba neutrofili i makrofagów osiąga najwyższy poziom 8 godzin po uszkodzeniu i stopniowo spada w ciągu czterech dni, pozostawiając nieliczne makrofagi w łożysku rany. Badania u łososia atlantyckiego i pstrąga tęczowego sugerują podobne mechanizmy, z niewielkim opóźnieniem w czasie wystąpienia wczesnych wrodzonych odpowiedzi immunologicznych. Ponadto obserwowana jest również wczesna rekrutacja z następującym dojrzewaniem limfocytów B i T (Richardson i in., 2013; Schmidt i in., 2016; Sveen i in., 2018, 2019, 2020). Liczba leukocytów w skórze może znacznie wzrosnąć podczas gojenia się urazów skóry, niektórych chorób zakaźnych lub podczas ekspozycji na zanieczyszczenia lub inne stresory (Elliott, 2011a).

Oprócz zapewnienia pokrycia rany, migrujące komórki nabłonka mogą pomóc chronić powierzchnię skóry przed inwazją patogenów poprzez aktywność fagocytarną. Uczestniczą w usuwaniu ciał obcych z powłoki ciała w procesie, w którym komórki wypełnione substancją obcą są usuwane z powierzchni skóry. Ponadto pobieranie i sekwestracja ciał obcych i patogenów przez komórki nabłonka, bierze udział w reakcjach odporności miejscowej (Elliott, 2011a). Kolejną reakcją ochronną często obserwowaną u ryb jest proliferacja komórek nabłonka (rozrost), powodująca zgrubienie naskórka. Jest ona często związana z infestacją ektopasożytami skórnymi lub narażeniem na kontakt z zanieczyszczeniami. Występuje również w okresach, gdy ryby są narażone na zwiększone ścieranie skóry, np. podczas tarła, w wysokich zagęszczeniach obsad, przy przenoszeniu ryb i podczas gwałtownych reakcji stresowych (Elliott, 2011a).



Również kubkowe komórki śluzowe biorą udział w reakcji na uszkodzenia i w mechanizmach naprawczych. Ostra ekspozycja na czynniki drażniące może spowodować szybkie holokrynnne wydzielanie przez komórki kubkowe i w konsekwencji zmniejszenie ich liczby, podczas gdy ekspozycja przewlekła będzie skutkować wzrostem liczby komórek kubkowych, gdy nowe komórki różnicują się i przemieszczają na powierzchnię naskórka. W niektórych przypadkach nawet łagodny stresor, taki jak odłowienie, może sprzyjać proliferacji komórek kubkowych naskórka. Narażenie na działanie toksyn lub innych stresorów może również wpływać na zmiany wielkości lub morfologię komórek kubkowych. Ponadto często skutkuje zmianami w składzie chemicznym wytwarzanej wydzieliny. Nabłonek skrzelu ryb doskonałokostnych mimo, że nie jest uważany za część powłoki wspólnej, wydaje się być szczególnie predysponowany do tego typu reakcji ochronnej (Elliott, 2011a). Na liczbę komórek śluzowych będzie miała wpływ głębokość uszkodzenia – przy głębokich ranach początkowo występuje niewiele komórek śluzowych. Jednak wraz z proliferacją keratynocytów i pogrubieniem warstwy naskórka wzrasta liczba komórek śluzowych (Kumari i in., 2017; Sveen i in., 2019, 2020). W nowo utworzonym naskórku łososia atlantyckiego komórki śluzowe nie są przypadkowo rozproszone, ale ułożone powierzchniowo niczym „koraliki na sznurku” (Jensen i in., 2015; Sveen i in., 2019, 2020). Wydzielany przez komórki kubkowe śluz może również zmieniać swoją lepkość, skład i przywierać do powierzchni rany (Dash i in., 2018; Fast i in., 2002; Sveen i in., 2018, 2019, 2020).

Naczynia krwionośne znajdujące się w warstwie skóry właściwej są częścią wtórnego układu krążenia, biorąc udział w dostarczaniu składników odżywczych, przenoszeniu gazów i regulacji kwasowo-zasadowej. W stabilnych warunkach przepływ krwi w układzie wtórnym jest niski; jednak niedotlenienie lub wysiłek fizyczny mogą zwiększać przepływ krwi do układu wtórnego. Płytkie rany, takie jak utrata łuski czy obtarcia naskórka, nie będą krwawić, ale rany głębokie, penetrujące do unaczynionej tkanki podskórnej i/lub tkanki mięśniowej, będą krwawić. Pstrąg tęczowy wykazuje się niską tendencją do występowania krwawienia, nawet przy głębokich ranach, niestety nie wiadomo co jest przyczyną tego zjawiska (Schmidt, 2013; Sveen i in., 2020).

Możliwe reakcje na uszkodzenia ze względu na budowę skrzelu są dość ograniczone. Najczęściej obserwowane odstępstwa od normy odzwierciedlają zmiany w przepuszczalności błon na poziomie komórkowym. Zwykle objawiają się one

obrzękiem komórek nabłonka blaszek lub obrzękiem w podnabłonkowej warstwie bazalnych komórek nieodróżnicowanych. Najczęstszą przyczyną zmian przepuszczalności są czynniki drażniące w niskich stężeniach. Zwykle najwcześniejszą reakcją jest obrzęk lub przerost pojedynczych komórek, które powiększając się zwiększają grubość pojedynczej blaszki skrzelowej. Często towarzyszy temu wzrost objętości śluzu na powierzchni. Jeśli bodziec drażniący jest silniejszy, wówczas, w zależności od jego charakteru, mogą rozwinąć się cztery reakcje: uogólniony obrzęk blaszek, martwica nabłonka, przerost i rozrost blaszek, oraz zrastanie blaszek. Przy przedłużającym się działaniu czynnika często wszystkie występują jednocześnie (Roberts i Rodger, 2012).

Obrzęk blaszek występuje najczęściej po ekspozycji na czynniki chemiczne, takie jak metale ciężkie, toksyny alg, niektóre pestycydy oraz przedawkowanie formaliny lub nadtlenu wodoru. W sytuacjach skrajnych może dochodzić do całkowitego oddzielenia nabłonka oddechowego blaszek i listków skrzelowych, z martwicą komórek nabłonka i ciężkimi, często śmiertelnymi zaburzeniami oddechowymi i osmoregulacyjnymi (Albright i in., 1993; Chezian i in., 2012; Cruz i Enriquez, 1981; Roberts i Rodger, 2012; Skidmore i Tovell, 1972; Yang i Albright, 1992). Martwica komórek nabłonka skrzeli jest często obserwowana po ekspozycji na toksyny, drażniący fitoplankton lub uwolnienie nematocyst rurekoplawów lub meduz, prowadząc często do przekrwienia i krwotoków w skrzelach (Roberts i Rodger, 2012; Rodger, 2007).

Rozrost blaszek najczęściej jest reakcją na słabe i długotrwałe czynniki uszkodzające. Komórki nabłonka blaszek migrują dystalnie, często we wczesnych stadiach, powodując nagromadzenie komórek na szczytowych krańcach, zmieniając kształt blaszki na buławkowaty. W zależności od czynnika może mu towarzyszyć wzrost liczby komórek śluzowych. W sytuacjach skrajnych cała przestrzeń międzyblaszkowa może zostać wypełniona nowymi komórkami, często wykazującymi metaplastę śluzową. W rezultacie dochodzi do znacznego zmniejszenia powierzchni oddechowej. Dodatkowe współwystępowanie procesu zapalnego z towarzyszącym wysiękiem i zwiększeniem wydzielania śluzu, będzie pogłębiało problemy oddechowe i może stanowić substrat do szybkiego wzrostu bakterii (Roberts i Rodger, 2012).

Zrastanie blaszek może wynikać z uogólnionego rozrostu, prowadząc do łączenia wielu lub wszystkich naczyń włosowatych w masie nabłonka uległego rozrostowi. Zazwyczaj jednak poziom proliferacji jest mniejszy, ale ze względu na współwystępujące

zmiany konsystencji śluzu i utratę właściwości surfaktantu, poszczególne blaszki skrzelowe mogą zrastać ogniskowo, tworząc trójwymiarowe kompleksy w kształcie pętli lub sieci. Najczęściej ten rodzaj odpowiedzi związany jest z infekcjami pierwotniakowymi i pasożytniczymi, choć może być reakcją na czynniki toksyczne (Ellis i Wootten, 1978; Goldes i in., 1988; Karlsson-Norrgren i in., 1986; Roberts i Rodger, 2012).

Charakterystyczną zmianą patologiczną skrzeli, związaną z urazem fizycznym lub chemicznym, są tętniaki, nazywane też teleangiektazjami blaszek. Są powszechnie spotykane u ryb hodowlanych po manipulacjach związanych z odłowieniem i sortowaniem. Teleangiektazje powstają również w wyniku infestacji pasożytniczych, działaniu czynników drażniących. Mogą występować jako artefakty okołośmiertne wywołane procedurami anestezji i eutanazji (np. kąpiel lodowa, uraz głowy). Makroskopowo są to wypełnione krwią, jajowate rozszerzenia poszczególnych naczyń włosowatych blaszek skrzeli. Zmiana powstaje w wyniku uszkodzenia komórek podporowych i zazwyczaj ustępuje przez wytworzenie zakrzepu i włóknienie, zrastanie z sąsiednimi blaszkami lub ulega resorpcji. Liczne teleangiektazje prowadzą do upośledzenia funkcji oddechowej i predysponują do wystąpienia silnych krwotoków, jeśli będą pękać. Rozległe teleangiektazje ustępują znacznie dłużej niż zmiany przerostowe skrzeli. Stwierdzenie zakrzepicy może stanowić dowód, że zmiany teleangiektyczne były rzeczywiście obecne w skrzelach przed nekropsją. Odwrotnie, brak zmian zakrzepowych sugeruje, że czas trwania teleangiektazji był nadostry i w takich przypadkach może nie być prawdziwym objawem patologicznym (Roberts i Rodger, 2012; Wolf i in., 2015).

### **7.3.      Wskaźniki narządowe**

Wskaźniki narządowe są często stosowane w badaniach oceniających stres, ponieważ wylicza się je na podstawie łatwo mierzalnych parametrów - masy i długości (Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Neumann i in., 2012; Opuszyński, 1983). Ponadto, warto stosować je w badaniach, w których wykorzystywane są ryby pochodzące ze zróżnicowanych populacji hodowlanych, a nie z hodowli laboratoryjnych, ponieważ wskaźniki narządowe dostarczają cennych informacji wstępnych o stanie zdrowia i kondycji badanych zwierząt. Mogą wskazać na różnice osobnicze i skutki zmian

biochemicznych i fizjologicznych zachodzących w organizmie zwierzęcia, związanych z jego historią osobniczą i mogących mieć wpływ na uzyskane wyniki doświadczenia.

Spadki współczynnika kondycji lub zmiany w stosunku długości do masy, mogą wskazywać na zmianę stanu odżywienia lub energii, co jest odzwierciedleniem wyczerpania zapasów glikogenu wątrobowego oraz zapasów tłuszczowych organizmu. Spadki rezerw energetycznych, i tym samym wskaźnika kondycji, mogą być spowodowane zewnętrznymi czynnikami stresogennymi, w tym wysokim zagęszczeniem obsady, stanem chorobowym, niewłaściwym pH i innymi niekorzystnymi warunkami środowiskowymi (Goede i Barton, 1990). Tego typu stresory mogą bezpośrednio wpływać na zachowania żywieniowe oraz przyjmowanie pokarmu, zmiany tempa metabolizmu lub pozyskiwania energii z rezerw magazynowych do radzenia sobie ze stresem. Jednak spadki współczynnika kondycji ryb i zmiany w ich stosunku długości do masy mogą występować również z powodów zmian fizjologicznych. Należą do nich zmiany sezonowe i rozwojowe, takie jak naturalne wahania w dostępności żywności (Adams i in., 1982), dojrzewanie oraz rozwój gonad (Medford i Mackay, 1978) oraz smoltyfikacja anadromicznych ryb łososiowatych (Ewing i in., 1984; Vanstone i Markert, 1968). Co więcej, wskaźniki kondycji mogą ulegać zmianom w sytuacji, gdy inne biomarkery związane z kondycją wskazują na problemy ze zdrowiem ryb (Steyermark i in., 1999). Dlatego też uzyskane wyniki należy rozpatrywać ostrożnie i w kontekście innych uzyskanych danych (Goede i Barton, 1990).

Wskaźniki organosomatyczne jak VSI, HSI, i SSI są stosunkowo łatwo mierzalne w laboratorium i w terenie, dlatego też są powszechnie używane w wielu badaniach oceny stresu (Goede i Barton, 1990). Niższe niż przeciętne wartości VSI i HSI wskazują na wykorzystanie energii danej tkanki lub narządu w celu walki z stresem jakiegoś typu. Fizjologicznie wskaźniki organosomatyczne mogą zmieniać się wraz ze zmianami w dostępności pokarmu, dojrzałością płciową, stadium rozwoju, a także często wraz z porami roku. Obecność pasożytów w różnych narządach może również zaburzać interpretacyjną wartość indeksów organosomatycznych (Steyermark i in., 1999). Wady i zalety wskaźników zebrano w Tab. 66. Przyjmuje się, że minimalna liczba ryb w grupie do wyliczenia współczynnika kondycji i wskaźników organosomatycznych powinna wynosić  $n = 20$  (Goede i Barton, 1990).

Tab. 66) Wykorzystanie, wady i zalety wybranych wskaźników kondycyjnych używanych do wartościowania zmian w organizmach ryb, wynikających z działania stresu (za Barton i in., 2002 w modyfikacji własnej).

<b>WSKAŹNIK</b>	<b>ZASTOSOWANIE</b>	<b>ZALETY</b>	<b>WADY</b>
<i>Współczynnik kondycji (K)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• miara odżywienia ryby</li> <li>• może być używany do wskazania zmian w sposobie magazynowania energii, metabolizmie i prawdopodobnie aktywności żerowania</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• długość i masa są wartościami łatwymi do zmierzenia nieinwazyjnie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• względnie niewrażliwy na ostre stresory</li> <li>• zakłada stały wykładnik długości równy 3</li> <li>• zmienia się wraz z dojrzewaniem płciowym i rozmnażaniem, zwłaszcza u samic ze względu na ikrę</li> <li>• zmienia się wraz z porami roku i stadium rozwojowym</li> <li>• zmiany w nawodnieniu ciała mogą zaburzać interpretację</li> </ul>
<i>Wskaźnik trzewny (VSI)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wskaźnik stanu energetycznego i odżywienia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dość proste do uzyskania dane i kalkulacje</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wymaga poświęcenia życia ryby, by wyjąć i zważyć jej narządy</li> <li>• względnie niewrażliwy na ostre stresory</li> <li>• zmienia się wraz z porami roku i stadium rozwojowym</li> </ul>
<i>Wskaźnik wątrobowy (HSI)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wskaźnik stanu energetycznego i odżywienia</li> <li>• prawdopodobny wskaźnik przewlekłej ekspozycji na niektóre toksyny</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dość proste do uzyskania dane i kalkulacje</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wymaga poświęcenia życia ryby, by wyjąć i zważyć jej narządy</li> <li>• względnie niewrażliwy na ostre stresory</li> <li>• zmienia się wraz z porami roku i stadium rozwojowym</li> </ul>
<i>Wskaźnik śledzionowy (SSI)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wskaźnik możliwości hemopoetycznych ryby i zdolności przenikania krwinek z i do krążenia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dość proste do uzyskania dane i kalkulacje</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wymaga poświęcenia życia ryby, by wyjąć i zważyć jej narządy</li> <li>• względnie niewrażliwy na ostre stresory</li> <li>• zmienia się wraz z porami roku i stadium rozwojowym</li> </ul>

Wskaźnik wątrobowy jest najczęściej stosowanym wskaźnikiem organosomatycznym (Goede i Barton 1990). Wątroba jest głównym miejscem przechowywania glikogenu i dlatego też HSI może stanowić wskaźnik stanu odżywienia ryb, jak również odzwierciedlać zmiany sezonowe we wzroście ryb w danej populacji (Adams i McLean, 1985; Brown i Murphy, 2004; Heidinger i Crawford, 1977; Kim i in., 2012). Wartości HSI zmniejszają się u ryb zestresowanych przez zmiany jakości wody,

zmiany w przepływie i wielokrotne przenoszenie (Barnes i in., 1984; Goede i Barton, 1990; Lee i in., 1983). Wykazano również zwiększenie jego wartości po ekspozycji na zanieczyszczenia (Baumann i in., 1991; Fabacher i Baumann, 1985; Fletcher i in., 1982; Goede i Barton, 1990; Poels i in., 1980). W tym przypadku wzrost masy wątroby prawdopodobnie jest spowodowany zwiększeniem liczby (rozrost) i wielkości (przerost) komórek wątroby, na skutek indukcji systemu oksydazy wątrobowej (Fabacher i Baumann, 1985).

Wskaźnik śledzionowy również podlega zmianom związanym z porami roku i okresem tarłowym. W okresie tarła ulega obniżeniu i jest to związane z inwestycją energetyczną w rozwój gonad u ryb przystępujących do tarła. Co więcej, wykazano, że SSI będzie również zmniejszone w przypadku stresu wywołanego przez zmiany temperatury. Śledziona ryb w trakcie reakcji stresowej zmniejsza się w wyniku uwalniania leukocytów do ogólnego obiegu krwi (Sharma i in., 2017). Również niedotlenienie i wzrost wydzielania erytropoetyny w nerkach będzie wpływał na zmniejszenie SSI (Lai i in., 2006).

Przeprowadzone analizy nie wykazały istotnych statystycznie różnic w pomiarach biometrycznych i wskaźnikach narządowych. Ze względu na to, że zmiany tych wskaźników są względnie niewrażliwe na ostre stresory, to u ryb odstających od populacyjnej normy, należałoby rozważyć istnienie procesów patologicznych i przewlekłych, które rozpoczęły się przed trwaniem doświadczenia. Średnia długość badanych ryb wynosiła  $20,35 \pm 2,53$  cm, a współczynnik zmienności CV wyniósł 12,45% co świadczy o dość wyrównanym wzroście na długość. Znacznie wyższe zróżnicowanie wykazywała masa badanych ryb, która średnio wynosiła  $88,87 \pm 32,53$  g, przy współczynniku zmienności CV = 36,51%. Przyczynami zmienności mogły być pochodzenie ze stada hodowlanego o zróżnicowanym pochodzeniu i przeprowadzenie doświadczenia w okresie zimowym, które to czynniki nasilały występowanie różnic kondycyjnych (Dekic i in., 2016; Watz, 2015). Ze względu na to, współczynniki narządowe stanowią przeliczniki o rozkładzie nienormalnym, w pracy przedstawiono je zgodnie z zaleceniami statystyki opisowej w postaci median. Mediana współczynnika kondycji Fultona badanych ryb wynosiła 0,998, a współczynnik zmienności CV wyniósł 13,19%. Jest to bliskie wzorcowemu założeniu dla ryb łososiowatych, dla których współczynnik kondycji powinien być bliski 1 (Opuszyński, 1983). Mediana VSI badanych ryb wynosiła 9,50, a współczynnik zmienności CV wyniósł 14,15%, osiągając



wartość CV zbliżoną do CV współczynnika kondycji Fultona. Mediana HSI badanych ryb wynosiła 1,43, przy współczynniku zmienności CV równym 21,31%, zróżnicowanie prawdopodobnie wynikało z funkcji magazynującej wątroby, zwłaszcza w kontekście zimowego czasu przeprowadzania doświadczenia (Watz, 2015). Najwyższym zróżnicowaniem charakteryzował się SSI, którego mediana wynosiła 0,16, a współczynnik zmienności CV wynosił 47,95%, co było związane najprawdopodobniej z dużą częstotliwością występowania wśród badanych pstrągów tęczowych anomalii rozwojowej w postaci podzielonej śledziony (Ryc. 87), u niektórych osobników na 2 lub 3 części. Rozmiar śledziony u pstrąga tęczowego jest cechą dziedziczną, warunkowaną genetycznie (Hadidi i in., 2008), niestety w literaturze brak odniesień do występowania tej anomalii.



Ryc. 87) Dwa warianty anomalii w postaci podzielonej śledziony – po lewej ze znaczną różnicą rozmiaru, po prawej obie części w podobnym rozmiarze.

## 7.4. Ocena histopatologiczna

Ocena histopatologiczna jest podstawą laboratoryjnych i środowiskowych badań toksykologicznych u ryb. Jest wykorzystywana do określania skutków ekspozycji na substancje lecznicze i toksyczne, określania stężeń niepowodujących efektów (NOAEL, ang. no observed adverse effect level), dostarczania wskazówek dotyczących mechanizmów działania substancji, oceny skuteczności terapii farmakologicznych i działań środowiskowych oraz oceny stanu zdrowia badanych osobników (Shackelford i in., 2002; Wester i Canton, 1991; Wolf, 2018a). Dane patomorfologiczne często wyjaśniają inne zaobserwowane zmiany, są w znacznym stopniu uniwersalne, pozwala to na bezpośrednie porównanie procesów patologicznych i identyfikowalnych zmian (Scudamore i in., 2016). Zmiany patologiczne mogą być z łatwością wykorzystywane jako istotne „biomarkery” do wykrywania i wyjaśniania skutków zanieczyszczeń chemicznych w programach monitorujących wpływ zanieczyszczeń środowiskowych (Au, 2004; Goede i Barton, 1990; Strzyżewska-Worotyńska i in., 2017; Teh i in., 1997; van der Oost i in., 2003). Analizy histopatologiczne dają możliwość badania określonych narządów i komórek docelowych podczas ekspozycji *in vivo* na potencjalnie szkodliwe substancje zanieczyszczające środowisko. Dodatkowo ocena histopatologiczna może być wykorzystana do ustalenia określonych wzorców szkodliwego wpływu substancji na tkanki i narządy, zarówno ostrego, jak i przewlekłego, dostarczając prognostycznych dowodów na potencjalne skutki patofizjologiczne zarówno dla ludzi, jak i zwierząt (Liebel i in., 2013; Salamat i Zarie, 2016; Schwaiger i in., 1997).

Niestety badania histopatologiczne, zwłaszcza w przypadku ryb, charakteryzują się postępującym brakiem powtarzalności (Begley i Ioannidis, 2015; Law, 2003; Schofield i in., 2016; Scudamore i in., 2016; Wolf, 2018a, 2021; Wolf i in., 2014, 2015; Wolf i Maack, 2017). Na to zjawisko składa się wiele czynników. Niektóre są nieuniknione, takie jak międzygatunkowe różnice biologiczne. Do czynników, których można uniknąć zalicza się: nieodpowiedni projekt eksperymentu; niewłaściwa obróbka histologiczna; niewłaściwa analiza danych; błędna interpretacja diagnostyczna; wzajemna ocena przez osoby, które mają niewystarczającą wiedzę specjalistyczną w zakresie badanego gatunku, systemu modelowego lub stosowanych metod; nieprzestrzeganie istniejących wytycznych; oraz rosnąca presja, aby publikować szybko

i często (Begley i Ioannidis, 2015; Scudamore i in., 2016; Wolf, 2018a). Dodatkowo brak przejrzystości w artykułach, polegający na niepełnym opisanu części metodyki (czasami ze względu na wymagania edytorskie odnośnie liczby słów w czasopiśmie), a także niechęć do publikowania negatywnych wyników, często nasila negatywne skutki czynników, których można uniknąć (Scudamore i in., 2016).

Dane uzyskane dzięki ocenie histopatologicznej są kluczowym punktem końcowym w badaniach na zwierzętach, których znaczenie jest często pomijane przez zespoły badawcze (Cardiff i in., 2008). Bywa, że opisy oceny histopatologicznej w publikacjach ograniczone są do krótkiego opisu w tekście, czasami występującego tylko w legendzie mikrofotografii lub w sekcji danych uzupełniających, z pominięciem podania dokładnych informacji technicznych (Scudamore i in., 2016; Wolf, 2018a). Tłumaczy się to dość powszechnym, jednakże błędnym stwierdzeniem, że podstawowe techniki patologii są całkowicie wystandaryzowane w porównaniu z nowoczesnymi metodami molekularnymi, biochemicznymi, genetycznymi i „omicznymi” (Begley i Ioannidis, 2015; Cardiff i in., 2008; Schofield i in., 2016; Scudamore i in., 2016). W rzeczywistości wiele zmiennych może wpływać na wynik nawet „rutynowych” technik patologicznych, a brak zdefiniowania i uwzględnienia tych czynników w publikacji uniemożliwia pełny przegląd lub krytyczną ocenę wyników (Begley i Ioannidis, 2015; Cardiff i in., 2008; Schofield i in., 2016; Scudamore i in., 2016; Wolf, 2018a).

Badania histopatologiczne u ryb są dodatkowo narażone na brak powtarzalności. Jednym z możliwych powodów jest zróżnicowane doświadczenie naukowe i zestaw umiejętności technicznych badaczy tej dziedzin. Publikujący specjaliści mogą być z wykształcenia biologami, lekarzami klinicznymi, ekotoksykologami, anatomopatologami, diagnostami weterynaryjnymi, czy też specjalistami ds. zarządzania rybołówstwem. Drugim powodem jest faworyzacja dotowania projektów ukierunkowanych na zastosowania praktyczne i brak finansowania badań podstawowych. Trzecim czynnikiem jest relatywny niedostatek wiarygodnych materiałów referencyjnych i możliwości edukacyjnych poświęconych histopatologii ryb (w stosunku do patologii ssaków). Wreszcie, czynnikiem utrudniającym jest różnorodność anatomiczna ryb, w połączeniu z ogromną liczbą poznanych chorób ryb i niezliczonymi potencjalnymi zagrożeniami toksykologicznymi. Przyczynia się to do zwiększenia trudności w odróżnieniu prawdziwych zmian patologicznych od „szumu tła” - artefaktów

powstałych w wyniku autolizy pośmiertnej i obróbki histopatologicznej (Begley i Ioannidis, 2015; Wolf, 2018a; Wolf i in., 2015).

Do dwóch najczęstszych błędów występujących w publikacjach zawierających ocenę histopatologiczną u ryb zaliczane są: błędna diagnoza i niewłaściwa interpretacja. Błędna diagnoza występuje, gdy fizjologiczna cecha morfologiczna zostanie uznana za patologiczną lub gdy do opisu określonej obserwacji morfologicznej użyto niedokładnej lub nieprecyzyjnej terminologii. Trzy najczęściej spotykane przyczyny błędnej diagnozy to nieodpowiednie utrwalanie tkanek, niska jakość preparatu histologicznego oraz brak specjalistycznej wiedzy histopatologicznej. Niewłaściwa interpretacja polega zaś na wyciąganiu niewłaściwych wniosków z prawidłowo zidentyfikowanych i opisanych wyników morfologicznych. Błędna interpretacja danych histopatologicznych może przybierać różne formy. Pierwsza z nich wynika z rachunku błędów. Należy do niego stwierdzenie fałszywie pozytywnej różnicy pomiędzy badanymi grupami (błąd pierwszego rodzaju). Możliwe jest również zaistnienie sytuacji odwrotnej, rozumianej jako brak wykrycia faktycznie występujących różnic grupowych (błąd drugiego rodzaju). Do wystąpienia tej formy błędu predysponują niedociągnięcia w projekcie eksperymentalnym lub protokole pobierania próbek kontrolnych (np. zbyt mała liczba zwierząt w grupie porównawczej lub miejscu pobrania, zbyt mała liczba powtórzeń i/lub brak kontroli niektórych zmiennych niezależnych). Ponadto niewłaściwa interpretacja może wystąpić w sytuacji niewystarczającego zminimalizowania błędu systematycznego (obciążenia) podczas pobierania próbek lub podczas procesu oceny preparatu. Drugi rodzaj niewłaściwej interpretacji obejmuje przedwczesne założenie związku przyczynowo skutkowego, bez odpowiednich potwierdzających go dowodów w uzyskanych danych eksperymentalnych lub literaturze naukowej. Często wynika to z nieuwzględnienia alternatywnych wyjaśnień indukcji określonego efektu histopatologicznego. Trzecia forma błędnej interpretacji ma miejsce, gdy stwierdzeniu związanemu z leczeniem nadano wyolbrzymiony stopień znaczenia biologicznego, farmakodynamicznego, toksykologicznego lub ekologicznego, który nie jest poparty istniejącymi dowodami naukowymi (Taqi i in., 2018; Wolf, 2018a; Wolf i in., 2015).

Aby zwiększyć poziom rzetelności oceny histopatologicznej, koniecznym jest aby wszystkie aspekty badań były przejrzyste i otwarte na weryfikację przez czasopisma, recenzentów i czytelników. Pomaga w tym stworzenie ogólnie dostępnych wytycznych, które niestety wciąż w różnym stopniu są stosowane (Bolton i in., 2010; Crissman i in.,

2004; Keenan i in., 2015; Schofield i in., 2016; Scudamore i in., 2016; Wolf, 2018a; Wolf i Wolfe, 2003). Do międzynarodowych standardów zaliczane są: wytyczne dotyczące planowania badań „Badania na zwierzętach: wytyczne dotyczące raportowania eksperymentów *in vivo*” (ARRIVE, ang. Animal Research: Reporting In Vivo Experiments), uzupełniający je „Złoty Standard Publikacyjnej Listy Kontrolnej” (GSPC, ang. Gold Standard Publication Checklist) oraz zalecenia „Minimalne ilości informacji do publikacji doświadczalnych danych patologicznych” (MINPEPA, ang. Minimum Information for Publication of Experimental Pathology Data). Wytyczne kompleksowo obejmują planowanie badań, elementy publikacyjne i szczegółowe, techniczne aspekty dotyczące oceny histopatologicznej (Hooijmans i in., 2010, 2011; Kilkenny i in., 2010; Schofield i in., 2016; Scudamore i in., 2016; Wolf i Wolfe, 2003).

Skuteczne porównywanie danych histopatologicznych pomiędzy różnymi badaniami jest możliwe dzięki systemom wskaźników histopatologicznych i jest częstą praktyką w badaniach nad zdrowiem ryb (Bernet i in., 1999; Flores-Lopes i Thomaz, 2011; Liebel i in., 2013; Mitchell i in., 2012; Rašković i in., 2013; Saraiva i in., 2015; Steyermark i in., 1999; van Dyk i in., 2009; Yancheva i in., 2016). Celem tych systemów jest stworzenie obiektywnych narzędzi do dokumentowania, katalogowania i interpretacji wyników histopatologicznych oraz do tworzenia uproszczonych wyników ilościowych. Są zwykle stosowane w badaniach środowiskowych i populacyjnych różnych wodnych ekosystemów, ponieważ są dobrymi wskaźnikami zmian lub zanieczyszczenia środowiska. Wskaźniki histopatologiczne dostarczają informacji na temat chronicznego i subletalnego wpływu ksenobiotyków na narządy oraz są wykorzystywane do oceny stresu u ryb (Agbohessi i in., 2015; Braz-Mota i in., 2015; McHugh i in., 2011; Poleksić i in., 2010; Rašković i in., 2013; Saraiva i in., 2015; Shackelford i in., 2002; Wolf, 2018b; Zeni i in., 2015; Zimmerli i in., 2007). Systemy wskaźników zazwyczaj łączą rodzaje wyników oceny histopatologicznej w danym narzędziu lub tkance i wykorzystują wyniki ważone, co służy oszacowaniu zarówno stopnia występowania zmiany, jak i spodziewanego wynikającego z niej upośledzenia czynnościowego. Na podstawie systemów wskaźników histopatologicznych i wykorzystaniu innych wskaźników diagnostycznych, możliwe jest obliczenie ogólnych współczynników stanu zdrowia narządów lub całego zwierzęcia. Najczęściej ocenianymi narządami z wykorzystaniem wskaźników histopatologicznych są skrzela, wątroba, nerki i skóra (Agbohessi i in., 2015; Bernet i in., 1999; Braz-Mota i in., 2015; Flores-Lopes

i Thomaz, 2011; Liebel i in., 2013; McHugh i in., 2011; Mitchell i in., 2012; Poleksić i in., 2010; Rašković i in., 2013; Saraiva i in., 2015; Strzyżewska-Worotyńska i in., 2017; Wolf, 2018b; Zeni i in., 2015; Zimmerli i in., 2007).

Mimo licznych publikacji z wykorzystaniem wskaźników histopatologicznych, należy mieć na uwadze, że ich użycie w badaniach toksykologicznych opartych na hipotezach może być problematyczne. Przede wszystkim konieczne jest dokładne rozpatrzenie związku przyczynowo skutkowego między ekspozycją na konkretną badaną substancję lub zanieczyszczenie środowiska, a jej wpływem na wystąpienie zmian patomorfologicznych. Nie w każdym przypadku jest możliwe ustalenie takiej zależności *a priori* (Wolf, 2018b). Z tego powodu w pracy własnej zrezygnowano z analizy współczynnika zmian nowotworowych – zmiany te powstają w czasie znacznie dłuższym, niż czas trwania doświadczenia. Kolejnym utrudnieniem może być uzyskanie i łączenie wyników, które będą zawierać funkcjonalnie niepowiązane i potencjalnie sprzeczne diagnozy. Ponadto niektóre ze stworzonych systemów opierają się na obliczeniach z nadmierną liczbą ustaleń, z których niektóre mogą być przypadkowe dla wyniku badania. Co więcej, interpretacja rezultatów oceny histopatologicznej z wykorzystaniem wskaźników nie może być przeprowadzana bez kontekstu innych istotnych wyników, takich jak obserwacje kliniczne, ocena makroskopowa nekropsji, masy narządów i ciała, dane dotyczące patologii klinicznej oraz wyniki testów hormonalnych lub innych testów biochemicznych. Dodatkowo kwestią sporną dla niektórych autorów jest ustalenie stopnia dotkliwości zmian i wskaźnika ich istotności. Co więcej, systemy z wykorzystaniem wskaźników histopatologicznych w przypadku wystąpienia uchybień metodologicznych i niedokładnych diagnoz, będą miały tendencję do ich wzmacniania (Klopfleisch, 2013; Wolf, 2018b).

Mając na uwadze problematyczne aspekty stosowania wskaźników histopatologicznych, aby zwiększyć rzetelność oceny, preparaty mikroskopowe z grup kontrolnych oceniano dwukrotnie – najpierw odkodowane w celu ustalenia ogólnego wzorca, a następnie ponownie zakodowane i zmieszane z preparatami z pozostałych grup eksperymentalnych. Dwukrotna ocena wykazała powtarzalność. Co więcej, analiza statystyczna otrzymanych wartości wszystkich współczynników wzorców reakcji i współczynników reakcji narządów  $I_{S\Sigma}$  i  $I_{G\Sigma}$ , zarówno w skórze, jak i w skrzelach, nie wykazała różnic w obrębie grup kontrolnych. Świadczy to o tym, że zamknięcie przepływu wody w trakcie kąpieli, nie wykazywało wpływu na występowanie zmian



w zależności od powtórzeń w czasie. Skóra i skrzelą badanych ryb z grup kontrolnych nie były całkowicie pozbawione zmian, jednakże w kontekście zróżnicowania wyników wskaźnika kondycji, VSI, HSI i SSI, należy przypuszczać, że były to zmiany wynikające przede wszystkim z historii osobniczej, mającej miejsce przed rozpoczęciem doświadczenia.

#### **7.4.1. Formaldehyd**

Formaldehyd jest najczęściej stosowany w postaci 37-40% wodnego roztworu, nazywanego formaliną. Mechanizm działania formaliny polega na alkilowaniu grup chemicznych białek i kwasów nukleinowych. Czynniki alkilujące na ogół przyłączają się do metylowej lub etylowej grupy białek i DNA, powodując śmierć komórki (García-Magaña i in., 2019; van Ham i Hall, 1998). Omawiana substancja jest środkiem o szerokim spektrum zastosowań, wykorzystywanym w kąpielach do uśmiercania pasożytów (skutecznym przeciwko większości pasożytów zewnętrznych), przeciwpierwotniaczym, umiarkowanie przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybiczym (w stosunku do pleśni wodnych) i sporobójczym (Antychowicz, 2007; Boothe, 1998; Grudniewska i Terech-Majewska, 2015; Noga, 2010; Rowland i in., 2006, 2008; Tavares-Dias, 2021; Terech-Majewska i in., 2010; Treves-Brown, 2000; Wagner i in., 2008). Formalina jest środkiem silnie redukującym, w związku z czym każde 5 mg l<sup>-1</sup> formaliny dodane do wody chemicznie usuwa 1 mg l<sup>-1</sup> rozpuszczonego tlenu z wody. Wykazuje również działanie algobójcze i toksyczne na makrofity, może to dodatkowo redukować zawartość tlenu w wodzie. Największą toksyczność wykazuje w miękkiej, kwaśnej wodzie i w wysokiej temperaturze wody (Antychowicz, 2007; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000). Parametry wody utrzymujące się w trakcie doświadczenia wpływały więc na obniżenie toksyczności i umożliwiły zastosowanie stosunkowo wysokiej dawki środka, mimo że pstrąg tęczowy zaliczany jest do bardzo wrażliwych na jej działanie gatunków (Heinen i in., 1995; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000). Co więcej, analiza natlenienia i saturacji przez cały czas trwania kąpeli, nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami kontrolnymi a grupami z kąpielą z formaldehydem. W związku z tym można wnioskować, że przeprowadzona aeracja wody skutecznie rekompensowała silne redukcyjne właściwości formaliny. Przeciwwskazaniami do stosowania kąpeli z formaliną są widoczne owrzodzenia skóry

i wcześniejszy znane epizody stresowe (np. transport, sortowanie). Dodatkowo formaliny nigdy nie należy stosować do leczenia ryb, jeśli obecny jest biały osad paraformaldehydu (wytrącaniu sprzyja światło i temperatura poniżej 4°C), ponieważ jest wysoce ichtiotoksyczny. Formaliny nie należy mieszać z nadmanganianem potasu (Antychowicz, 2007; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000).

Po jednokrotnej kąpeli w 0,25 kg m<sup>-3</sup> formaliny w skórze najintensywniejsze były zmiany zapalne oraz zmiany wsteczne, zarówno w obrębie naskórka i skóry właściwej. Po zastosowaniu drugiej kąpeli reakcja zapalna wciąż była najsilniejsza oraz zmiany wsteczne, zarówno w obrębie naskórka, jak i skóry właściwej. Po trzykrotnej kąpeli zmiany zapalne oraz zmiany wsteczne, zarówno w obrębie naskórka, jak i skóry właściwej utrzymywały się, ale wystąpiło nasilenie zmian postępowych naskórka w stosunku do grup z jednorazową i dwukrotną kąpielą. Analizując zmiany w obrębie poszczególnych współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji (Tab. 67), można potwierdzić wysoce istotny statystycznie wzrost większości z nich. Wyjątek stanowił współczynnik zmian krążenia I<sub>SC</sub>, który nie wykazał istotnych zmian, co potwierdza doniesienia innych badaczy dotyczące słabo wyrażanej reakcji krążeniowej na uszkodzenia u pstrąga tęczowego (Schmidt, 2013; Sveen i in., 2020).

Tab. 67) Zmiany współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji pstrągów tęczowych na formalinę w dawce 0,25 kg m<sup>-3</sup> (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie p<0,05 przypisano oznaczenia literowe).

Narząd	Współczynnik	Formalina		
		1x	2x	3x
Skóra	I <sub>SC</sub>	a	a	a
	I <sub>SR</sub>	a	ab ↑	b ↑
	I <sub>SP</sub>	a	ab ↑	b ↑
	I <sub>SL</sub>	a	a	a
	I <sub>SΣ</sub>	a	ab ↑	b ↑
Skrzela	I <sub>GC</sub>	a	a	a
	I <sub>GR</sub>	a	b ↑	b ↑
	I <sub>GP</sub>	a	b ↑	b ↑
	I <sub>GL</sub>	a	ab ↑	b ↑
	I <sub>GΣ</sub>	a	b ↑	b ↑

Liczba komórek śluzowych w naskórku zliczanych z preparatów barwionych AB/PAS po ekspozycji na drugą dawkę formaldehydu zmniejszyła się, aby po trzecim podaniu znowu wzrosnąć. Otrzymane wyniki w zakresie reakcji skóry pokrywają się

częściowo z wynikami innych badaczy. Buchmann i in. (2004) badali wpływ formaldehydu na naskórek i gęstość komórek śluzowych u dwumiesięcznych pstrągów tęczowych. Ograniczona ekspozycja (50 ppm, przez 1 h) stymulowała proliferację komórek śluzowych. Natomiast wysokie stężenia (200–300 ppm, przez 1 h) lub długotrwała ekspozycja (24 h) przy niższych stężeniach, powodowały spadek gęstości komórek śluzowych. Autorzy stwierdzili pękanie błon komórkowych nabłonka, zwiększone uwalnianie śluzu i wysoce nieregularną organizację komórek, z regionalnymi różnicami występującymi w różnych częściach płetw (Buchmann i in., 2004). Z kolei Monfared i in. (2013) przy miesięcznej ekspozycji na dawki 25, 50 i 100 ppm, zaobserwowali martwicę i wakuolizację naskórka, zaburzenia w ułożeniu keratynocytów i dysplazję komórkową w warstwie skóry właściwej.

Charakterystyczne dla formaliny było występowanie melanocytów w formie skupionej, zwłaszcza w kąpieli dwukrotnej i trzykrotnej. Prawdopodobnie jest to rodzaj reakcji stresowej, związanej ze zwiększeniem poziomu adrenaliny (Aspengren i in., 2003; Fujii i in., 2002; Sköld i in., 2002; Wedemeyer, 1971). W grupach z kąpielami z dodatkiem chlorku sodu i siarczanu miedzi nie zaobserwowano tak licznych melanocytów w formie skupionej. Zjawisko to prawdopodobnie w dłuższym czasie makroskopowo objawiałoby się pociemnieniem powłok (García-Magaña i in., 2019; Nouh i Selim, 2013), jednakże w trakcie trwania doświadczenia nie zaobserwowano tej zmiany.

W skrzelach w grupie z jednokrotną kąpielą z formaldehydem najintensywniejsze były zaburzenia krążenia, zmiany zapalne i zmiany wsteczne w obrębie nabłonka. Po zastosowaniu drugiej kąpieli intensywniej wyrażone stały się zmiany zapalne, zaburzenia krążenia i zmiany wsteczne w obrębie nabłonka. Z kolei po trzykrotnej kąpieli, oprócz silnych zmian związanych z zaburzeniami krążenia, zmian zapalnych, w obrębie nabłonka i tkanek podporowych wystąpiły znaczne zmiany postępowe. Analizując zmiany w obrębie poszczególnych współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji (Tab. 67), można potwierdzić wysoce istotny statystycznie wzrost większości z nich. Wyjątek stanowił współczynnik zmian krążenia  $I_{GC}$ , który podobnie jak w skórze, nie wykazał istotnych zmian. Zaburzeniem w krążeniu, charakterystycznym w tej grupie, zwłaszcza u ryb w grupach z użyciem dwukrotnej i trzykrotnej kąpieli, było występowanie tętniaków charakteryzujących się tworzeniem włókniaka i zrastaniem z sąsiednimi blaszkami skrzelowymi. Ponadto częstą zmianą

był obrzęk blaszek z charakterystycznym odrywaniem nabłonka, oraz naciek zapalny. W dużej liczbie preparatów można było zaobserwować naciek zapalny i aktywację melanomakrofagów, przemieszczających się do dystalnych części blaszek skrzelowych. Wzrost liczby makrofagów i szybkie wystąpienie reakcji zapalnej najprawdopodobniej wynika z obecności ILT w skrzelach, które ułatwia rekrutację komórek odpornościowych. Wzrost liczby makrofagów po ekspozycji na formalinę może być również związany z reakcją śledziony (Monfared i in., 2013).

W badaniach Hung i in. (2019) przy kąpieli pstrąga tęczowego formaliną w dawce 50 ppm, w badaniu histopatologicznym obserwowano obrzęk i oddzielenie nabłonka blaszek skrzelowych, przerost i martwicę. Wykazano, że zmiany w skrzelach ustąpiły po 96-godzinnej ekspozycji na formalinę. Dodatkowo badania pokazały bardzo szybki metabolizm formaldehydu - u pstrąga tęczowego stężenie formaliny w wątrobie i mięśniach było poniżej granicy wykrywalności przy dawce 25 ppm odpowiednio po upływie 96 i 240 godzin, a przy dawce 50 ppm odpowiednio 8 i 24 godzin. W tym doświadczeniu ustalono również wartość  $LC_{50}$  dla formaliny u pstrąga tęczowego, po 48 godzinach wynosiła 211 ppm (Hung i in., 2019), co jest sprzeczne z wynikami Buchmann i in. (2004) oraz z wynikami przeprowadzonego doświadczenia.

#### **7.4.2. Chlorek sodu**

Chlorek sodu ( $NaCl$ ) jest jedną z najczęściej stosowanych substancji w profilaktyce i leczeniu ryb słodkowodnych (Demska-Zakęś i in., 2021; González i in., 2016; Mifsud i Rowland, 2008; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000; Wangen, 2012). Paradoksalnie, jak na najpopularniejszą substancję leczniczą w akwakulturze, wartość chlorku sodu polega na braku jakiegokolwiek działania farmakologicznego na ryby. Stosowany jest tylko w wodach słodkich, gdzie jedynym jego działaniem jest podniesienie ciśnienia osmotycznego wody, a w efekcie zmniejszenie gradientu osmotycznego między wodą a rybą i zmniejszenie osmotycznego napływu wody do ryb (Noga, 2010; Treves-Brown, 2000; Wangen, 2012). Obecność nietoksycznych jonów  $Na^+$  i  $Cl^-$  w wodzie zmniejsza wchłanianie rozpuszczalnych toksyn, w tym amoniaku, azotynów i formaliny. Ponadto chlorek sodu wykazuje działanie ściągające. Działanie na

ektopasożyty polega na ich mniejszej tolerancji na wysokie ciśnienie osmotyczne (Treves-Brown, 2000).

Chlorek sodu dostępny jest w formie soli kuchennej, kamiennej lub morskiej. W obu przypadkach jest zanieczyszczony, ale zazwyczaj w nietoksycznych stężeniach. Dzięki temu sól kuchenna może być bezpiecznie używana do leczenia ryb, o ile nie jest jodowana i nie zawiera przeciwbrylaczy, ponieważ jodek sodu i przeciwbrylający pruszydek sodu (żelazocyjanek sodu; YPS, ang. yellow prussiate of soda) są wysoce ichtiotoksyczne. W przypadku dłuższych kąpiei zalecane jest stosowanie zbilansowanych mieszanek soli, z dodatkiem innych istotnych minerałów (np. Ca, Mg). Komercyjne formy soli odpowiednie do stosowania w leczeniu ryb to: dowolna przeznaczona do spożycia przez ludzi z wyjątkiem soli jodowanej i z YPS, dowolna przeznaczona do spożycia przez zwierzęta, która nie zawiera dodanych minerałów, sól przeznaczona do uzupełniania zmiękczaczy wody, sztuczne sole morskie (McDermott i Petty, 2011; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000; Wangen, 2012).

Chlorek sodu zalecany jest we wszystkich następujących wskazaniach:

- redukcja stresu osmotycznego, dzięki „odżywczemu” zastosowaniu u ryb z chorobą dowolnego narządu osmoregulacyjnego,
- zapobieganie utracie jonów chlorkowych w trakcie stresu manipulacyjnego i transportowego,
- zmniejszenie toksyczności amoniaku lub azotynów oraz zmniejszenie toksyczności kwaśnych deszczy,
- terapia wspomagająca w leczeniu bakteryjnej choroby skrzeli, zmniejszająca wydzielanie śluzu w skrzelach, a tym samym wspomagająca funkcjonowanie skrzeli,
- zapobieganie chorobie kolumnowej wywoływanej przez *Flavobacterium columnare*,
- zwalczanie saprolegniozy *Saprolegnia* sp., zarówno u dorosłych ryb, jak i podczas inkubacji ikry,
- zwalczanie ektopasożytniczych pierwotniaków, m.in. *Costia* sp., *Trichodina* sp., *Ichthyophthirius* sp., *Scyphidia* sp., *Epistylis* sp., *Vorticella* sp., *Trichophyra* sp., *Tetrahymena* sp., *Chilodonella* sp. i *Oodinium* sp.,
- zwalczanie inwazji przywr monogenicznych, gromada Monogenea,
- zwalczanie ektopasożytniczych skorupiaków,

- zwiększanie wchłaniania innych leków w napływie hiperosmotycznym,
- wzmocnienie przeciwpasożytniczego działania formaliny i łagodzenie skutków ubocznych jej stosowania (Antychowicz, 2007; Demska-Zakęś i in., 2021; Enevova i in., 2018; Grudniewska i Terech-Majewska, 2015; Magondu i in., 2011; Mifsud i Rowland, 2008; Noga, 2010; Picon-Camacho i in., 2012; Rasowo i in., 2007; Treves-Brown, 2000).

W praktyce stosuje się krótko- i długoterminowe kąpiele w roztworach chlorku sodu, zazwyczaj wraz ze wzrostem dawki skracając czas kąpeli. Stosowane stężenie soli waha się dość szeroko od 0,015-35,0 g l<sup>-1</sup>, w zależności od wieku i gatunku ryby, a także wskazania do zastosowania (Antychowicz, 2007; Burgdorf-Moisuk i in., 2011; Demska-Zakęś i in., 2021; González i in., 2016; Noga, 2010; Treves-Brown, 2000; Wangen, 2012). Do zwalczania pasożytów zewnętrznych preferowane są kąpiele w wyższych stężeniach, jednak związane są one z silną reakcją stresową i zmianami hematologicznymi (Harper i Wolf, 2009; Hvas i in., 2018; Kolbadinezhad i in., 2012; Kültz, 2015; Sardella i in., 2004; Soegianto i in., 2017; Sui i in., 2016; Treves-Brown, 2000; Tsui i in., 2012). W trakcie trwania doświadczenia w grupach z chlorkiem sodu, przez pierwsze 15 minut trwania kąpeli ryby wykazywały zwiększoną intensywność ruchu i przyspieszone ruchy wieczka skrzelowego, po czym uspokajały się, co zgadza się z obserwacjami wyżej wymienionych autorów.

Po jednokrotnej kąpeli z dodatkiem chlorku sodu w dawce 20 g l<sup>-1</sup> najintensywniej wyrażone były zmiany związane z zaburzeniami krążenia i zmiany zapalne, a także zmiany postępowe w obrębie naskórka. Podobne zmiany obserwowano u pstrągów tęczowych w grupach ryb poddanych kąpeli dwukrotnie, z tą różnicą, że w obrębie naskórka dominowały zmiany wsteczne. Przy kąpeli trzykrotnej również najsilniej wyrażone były zmiany zapalne, zmiany wsteczne w obrębie naskórka oraz zaburzenia krążenia. Ma to swoje odzwierciedlenie w braku istotnych statystycznie zmian w obrębie poszczególnych współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji (Tab. 68). Wyjątek stanowi współczynnik zmian wstecznych  $ISR$ , który po kolejnych ekspozycjach wysoce istotnie wzrósł. Nasilenie zmian wstecznych najprawdopodobniej związane było z silną reakcją stresową, przekraczającą możliwości adaptacyjne skóry. Zmiany krążeniowe związane były z występowaniem obrzęków, we wszystkich warstwach skóry, co również wskazuje na zaburzenia osmotyczne wywołane zmianami zasolenia. Liczba komórek śluzowych w naskórku uległa



zwiększeniu, widoczne były również zmiany chemicznego charakteru wydzieliny, uwidocznione w barwieniu AB/PAS. Wzrost ilości sjałomucyn i mucyn siarczkowych obserwowany był również przez innych badaczy (Tacchi i in., 2015). Ciekawym był fakt silnego wzbudzenia odpowiedzi zapalnej, niezależny od liczby ekspozycji. Prawdopodobnie związany jest z aktywującym wpływem zmian osmotycznych na enzymy biorące udział w reakcjach odpornościowych (Sui i in., 2016). Wzrost liczby leukocytów obserwowali też inni autorzy (Enevova i in., 2018). Sugerowałoby to immunomodulujące działanie soli, jednakże dokładny mechanizm leżący u podstaw tej hipotezy wymaga dalszej weryfikacji, ponieważ niektórzy autorzy nie potwierdzają wpływu soli na wystąpienie stanu zapalnego w skórze (Tacchi i in., 2015). Obserwowano również melanocyty w formie pośredniej pomiędzy skupioną a rozproszoną, jednakże skupianie było znacznie mniejsze niż w przypadku kąpeli z formaliną, co zgadzałoby się ze zmianami obserwowanymi przez García-Magaña i in., (2019).

Tab. 68) Zmiany współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji pstrągów tęczowych na chlorek sodu w dawce  $20 \text{ kg m}^{-3}$  (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie  $p < 0,05$  przypisano oznaczenia literowe).

Narząd	Współczynnik	Chlorek sodu		
		1x	2x	3x
Skóra	$I_{SC}$	a	a	a
	$I_{SR}$	a	ab ↑	b ↑
	$I_{SP}$	a	a	a
	$I_{SL}$	a	a	a
	$I_{SZ}$	a	a	a
Skrzeła	$I_{GC}$	a	a	a
	$I_{GR}$	a	b ↑	ab ↓
	$I_{GP}$	a	a	a
	$I_{GL}$	a	a	a
	$I_{GZ}$	a	a	a

Zmiany obserwowane w skrzelach korespondowały ze zmianami w skórze. Po jednokrotnej kąpeli z chlorkiem sodu w dawce  $20 \text{ g l}^{-1}$  obserwowano zmiany zapalne, zaburzenia krążenia i zmiany postępowe w obrębie nabłonka oraz tkanek podporowych. Po dwukrotnej ekspozycji wysoce istotnie statystycznie zwiększyła się intensywność zmian wstecznych w obrębie nabłonka, zmiany zapalne i zaburzenia krążenia utrzymywały się na podobnym poziomie. W grupie z trzykrotną kąpielą najsilniej wyrażone były zmiany zapalne, zmiany związane z zaburzeniami krążenia, a zmiany wsteczne w obrębie nabłonka zmniejszyły się w porównaniu do grupy z dwukrotną

kąpielą, znajdując odzwierciedlenie w zmianie  $I_{GR}$  (Tab. 68). Już jednokrotna ekspozycja na chlorek sodu w wysokim stężeniu pobudzała silną reakcję zapalną w skrzelach, fakt ten znajduje uzasadnienie w kontekście obecności ILT. Współczynnik wzorca reakcji zmian wstecznych przy trzykrotnej ekspozycji uległ zmniejszeniu, było to związane z obserwowanymi uszkodzeniami błon komórek nabłonkowych i chlorkowych. Komórki nabłonkowe w znacznej mierze ulegały martwicy, złuszczeniu i usuwaniu, a następnie były zastępowane różnicującymi się komórkami z warstwy bazalnej. Po trzykrotnym zastosowaniu dawki u pstrągów tęczowych powoli zaczęły przeważać procesy regeneracji. Nie zaobserwowano zwiększenia liczby komórek chlorkowych, jednakże ulegały one przerostowi. Sardella i in., (2004) u tilapii mozambijskiej (*Oreochromis mosambicus*) obserwowali podobną stałość liczby komórek chlorkowych w ekspozycji 120 h na  $35\text{--}55\text{ g l}^{-1}$  NaCl, jednakże zmiany związane z martwicą komórek nabłonka skrzeli wykazali dopiero w 120 h zasoleniu o stężeniu  $95\text{ g l}^{-1}$ . Najprawdopodobniej wynika to z większego zakresu zasolenia tolerowanego przez tilapię mozambijską w stosunku do pstrąga tęczowego, również uznawanego za gatunek euryhalinowy (Kültz, 2015). Na liczbę komórek chlorkowych w skrzelach wpływa podanie 10% w/V NaCl w paszy (Trombetti i in., 1996). W skrzelach badanych ryb trzykrotna kąpiel z chlorkiem sodu wpłynęła również na migrację komórek śluzowych do szczytowych części blaszek oraz ich złuszczenie.

#### 7.4.3. Siarczan miedzi (II)

Siarczan miedzi (II) w akwakulturze wykorzystywany jest jako środek bójczy o szerokim spektrum zastosowań. Mechanizm działania polega na uwalnianiu wolnych jonów miedzi do wody. Miedź jest niezbędnym mikroelementem i działa jako kofaktor wielu procesów enzymatycznych, ale jest potencjalnie toksyczna dla organizmów wodnych, a jej toksyczność u ryb jest dość dobrze poznana. Skrzela są uważane za główny narząd wychwyty jonów miedzi z wody, a główny metabolizm i przetworzenie zachodzi w wątrobie. W akwakulturze stosowane są również inne niż siarczan miedzi (II) źródła miedzi, między innymi jej formy chelatowane oraz nanocząsteczki (Al-Bairuty i in., 2013, 2016; Grosell i in., 1996, 2007; Handy, 2003; Noga, 2010; Shaw i in., 2012; Wilson i Taylor, 1993).

Siarczan miedzi przede wszystkim jest wykorzystywany jako środek zwalczający ektopasożytnicze pierwotniaki *Amyloodinium* sp., *Cryptocaryon* sp., *Ichthyophthirius* sp., przywry monogeniczne, pleśnie wodne. Ze względu na właściwości ściągające stosowany jest również wspomagająco przeciwko bakteriom *Flavobacterium* sp.. Siarczan miedzi działa też glonobójczo, zarówno na glony nitkowate, jak i glony wyższe. Przy użyciu jako herbicyd, kumuluje się w tkankach roślinnych w stężeniach wielokrotnie wyższych w stosunku do stężeń w otaczającej wodzie. W związku z tym może stanowić zagrożenie dla zwierząt żywiących się roślinami wodnymi. Siarczan miedzi jest również toksyczny dla zooplanktonu, dlatego nie należy używać go w stawach, w których zooplankton stanowi naturalny pokarm (np. w stawach narybkowych, karpowych). Ze względu na wysoką toksyczność w stosunku do bezkręgowców, siarczan miedzi stosowany jest do eradykacji ślimaków i nie może być podawany w akwariach społecznościowych zawierających te organizmy. Ponadto charakteryzuje się wysoką toksycznością u ryb z podgromady spodoustych Elasmobranchii, w związku z tym odradza się stosowanie go u spodoustych. Siarczan miedzi jest również toksyczny dla ryb, które zostały gwałtownie narażone na obniżone ciśnienie osmotyczne, bez czasu na aklimatyzację, ponieważ utrata jonów sodu nasila toksyczność miedzi (Antychowicz, 2007; Li i in., 1996; Noga, 2010; Nouh i Selim, 2013; Rowland i in., 2008; Treves-Brown, 2000).

Ze względu na bardzo niski indeks terapeutyczny, podczas podawania siarczanu miedzi do wody preferowana jest metoda kąpieli o przedłużonej immersji lub metoda stałego przepływu. Nie zaleca się stosowania kąpieli krótkotrwałych. Stężenia terapeutyczne są zwykle rozpatrywane w kategoriach jonów miedzi, a nie soli i będą zależę od różnych czynników, z czego za kluczowe uważa się pH i twardość wody. Odczyn wody będzie wpływał na rozpuszczalność siarczanu miedzi i dostępność wolnych jonów poprzez oddziaływanie na rozpuszczalność tlenku miedzi (II) (CuO). Tlenek miedzi jest czarnym, drobnokrystalicznym proszkiem nierozpuszczalnym w wodzie, tworzącym stabilną fazę stałą. Roztworza się jednak w kwasach poniżej pH 7 i w roztworach amoniaku. Stężenia jonów miedzi zmniejszają się wykładniczo wraz ze wzrostem pH, nawet 100-krotnie co jednostkę pH. Panuje pogląd, że jeśli całkowita zasadowość wody jest niższa niż 50 mg l<sup>-1</sup>, siarczan miedzi jest nieprzewidywalnie toksyczny i dlatego jego użycie jest odradzane. Wartością absolutnie graniczną jest zasadowość ogólna mniejsza niż 20 mg l<sup>-1</sup>, przy której bezwzględnie nie powinno się stosować siarczanu miedzi. W wodzie o wysokiej zasadowości (> 250 mg l<sup>-1</sup>) siarczan

miedzi będzie szybko dysocjował i będzie dochodziło do wiązania miedzi w postaci węglanu miedzi (II)  $\text{CuCO}_3$ , uniemożliwi to uzyskanie stężenia terapeutycznego jonów miedzi w wodzie. Miedź będzie również wiązana i dezaktywowana przez materię organiczną. Wpływa to na dużą rozpiętość dawek stosowanych w praktyce – od  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$  do nawet  $20 \text{ mg l}^{-1}$  (Antychowicz, 2007; MacRae i in., 1999; Noga, 2010; Straus i Tucker, 1993; Treves-Brown, 2000).

Po jednokrotnej kąpeli z dodatkiem siarczanu miedzi (II) w dawce  $3 \text{ mg l}^{-1}$  w skórze najintensywniej wyrażone były zmiany zapalne, zmiany wsteczne w obrębie naskórka oraz postępowe w obrębie naskórka, dotyczące przede wszystkim komórek śluzowych. Po dwukrotnej ekspozycji na siarczan miedzi zmiany zapalne utrzymywały się na podobnym poziomie, zaobserwowano nasilenie zmian wstecznych w obrębie naskórka i skóry właściwej. Przy trzykrotnej kąpeli zmiany zapalne wciąż się utrzymywały, a zmiany wsteczne w obrębie naskórka i skóry właściwej były wysoce istotnie silniejsze w porównaniu do jednokrotnej ekspozycji. Dokładny przebieg zmian w obrębie poszczególnych współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji przedstawiono w Tab. 69. Współczynnik wzorca reakcji zmian wstecznych w skórze  $I_{SR}$  był czynnikiem najsilniej wpływającym na wysoce istotny statystycznie wzrost współczynnika narządu  $I_{SZ}$ .

Tab. 69) Zmiany współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji pstrągów tęczowych na siarczan miedzi (II) w dawce  $3 \text{ g l}^{-1}$  (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie  $p < 0,05$  przypisano oznaczenia literowe).

Narząd	Współczynnik	Siarczan miedzi (II)		
		1x	2x	3x
Skóra	$I_{SC}$	a	a	a
	$I_{SR}$	a	ab ↑	b ↑
	$I_{SP}$	a	a	a
	$I_{SL}$	a	a	a
	$I_{SZ}$	a	ab ↑	b ↑
Skrzela	$I_{GC}$	a	a	b ↓
	$I_{GR}$	a	a	a
	$I_{GP}$	a	a	a
	$I_{GL}$	a	a	a
	$I_{GZ}$	a	a	a

Zmiany w skrzelach po jednokrotnej ekspozycji na siarczan miedzi były podobne do obserwowanych w skórze – obserwowano przede wszystkim zaburzenia krążenia, zmiany zapalne, oraz zmiany wsteczne w obrębie nabłonka blaszek i tkanek

podporowych. Dwukrotna ekspozycja nie wpłynęła w istotny sposób na nasilenie występujących zmian. Przy trzykrotnej ekspozycji obserwowany był utrzymujący się stan zapalny, zmiany związane z zaburzeniami krążenia, oraz zmiany wsteczne w obrębie nabłonka. Widoczne były również blaszki z całkowicie złuszczonej komórkami śluzowymi i nabłonka, podlegające procesowi regeneracji. Zmianą występującą u pstrągów tęczowych we wszystkich grupach z użyciem siarczanu miedzi, był obrzęk listków skrzelowych. Zmiany obserwowane przez innych autorów podczas ostrej toksyczności w skrzelach obejmują obrzęk, oddzielenie nabłonka blaszek skrzelowych i zrastanie blaszek obszary rozrostu u podstawy blaszek wtórnych, obrzęk nabłonka skrzeli, zrost blaszek, pałkowate końce, sporadyczny tętniak w blaszkach wtórnych i obrzęk mukocytów (Al-Bairuty i in., 2013; Figueiredo-Fernandes i in., 2007; Sola i in., 1995), a przy ekspozycji przewlekłej zmiany w proporcjach komórek nabłonkowych i mukocytów w przewlekłej ekspozycji (Dang i in., 1999).

Kwestia wywoływania stanu zapalnego przez kąpiel w siarczanie miedzi jest niejednoznaczna, ponieważ przy pewnych ekspozycjach miedź może działać immunosupresyjnie (Hetrick i in., 1979), a nawet immunotoksycznie (Handy, 2003). Również Treves-Brown (2000) opisuje immunosupresyjny wpływ na ryby łososiowate, gdzie siarczan miedzi w stężeniach subletalnych czyni je bardziej podatnymi na zakażenie wirusem zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego (IHNV, ang. Infectious Hematopoietic Necrosis Virus), wibriozę (*Vibrio anguillarum*) i chorobę czerwonej gęby (*Yersinia ruckeri*). Powód, dla którego wyższe stężenia subletalne powodują mniejszą podatność, nie jest znany. Być może jest to związane z tym, że długotrwała ekspozycja na miedź wywołuje reakcję aklimatyzacyjną, która obejmuje kompensację funkcji zaburzonych przez miedź i dostosowanie jej homeostatycznego poziomu, umożliwiając rybom przeżycie pomimo ciągłego narażenia i tolerowanie kolejnych ekspozycji na wyższe stężenia. Chociaż nie są określone ilościowo, reakcje aklimatyzacji zachodzą kosztem organizmu, prawdopodobnie wyjaśniając obserwacje zmniejszonego wzrostu, wydajności rozrodczej i wydajności pływania (Grosell, 2011). Miedź może również działać w niektórych przypadkach jako immunostymulant (Griffin i Mitchell, 2007; Noga, 2010).

## 8. WNIOSKI

1. Podanie formaliny do wody w postaci trzydziestominutowych kąpiei profilaktycznych w dawce  $0,25 \text{ kg m}^{-3}$  u narybku pstrąga tęczowego w wieku 0+:
  - przy zastosowaniu jednokrotnym nie powoduje wystąpienia istotnych zmian w skórze, w stosunku do grupy kontrolnej, a w przypadku skrzeli wywołuje istotne zmiany krążeniowe  $I_{GC}$ , postępowe  $I_{GC}$  i zapalne  $I_{GC}$ ;
  - zachowanie środków bezpieczeństwa w postaci zwiększenia aeracji w basenach i utrzymaniu stałego pH przy jednokrotnej kąpiei skutecznie obniża toksyczne działanie formaliny – w przypadku skrzeli znacznie, a w przypadku skóry zupełnie;
  - przy zastosowaniu dwukrotnym powoduje wystąpienie istotnych zmian zarówno w skórze, jak i w skrzelach w obrębie prawie wszystkich badanych współczynników poza zmianami krążenia w skórze  $I_{GC}$ ;
  - przy zastosowaniu trzykrotnym powoduje wystąpienie istotnych zmian zarówno w skórze, jak i w skrzelach, w obrębie wszystkich badanych współczynników;
  - toksyczność formaliny wzrasta wraz z zastosowaniem kolejnych dawek.
  
2. Podanie chlorku sodu do wody w postaci trzydziestominutowych kąpiei profilaktycznych w dawce  $20 \text{ kg m}^{-3}$  u narybku pstrąga tęczowego w wieku 0+:
  - przy zastosowaniu jednokrotnym powoduje wystąpienie istotnych zmian w skórze, w stosunku do grupy kontrolnej, w obrębie większości badanych współczynników, nie nasilając jedynie występowania zmian wstecznych  $I_{SR}$ ;
  - przy zastosowaniu jednokrotnym w skrzelach nie wywołuje zmian w całkowitym wzorcu reakcji narządu  $I_{G\Sigma}$ , mimo, że powoduje nasilenie zmian krążeniowych  $I_{GC}$ , postępowych  $I_{GC}$  i zapalnych  $I_{GC}$ ;
  - przy zastosowaniu dwukrotnym powoduje wystąpienie istotnych zmian w skórze w obrębie wszystkich badanych współczynników i wykazuje podobny całkowity wpływ na skórę, jak dwukrotnie zastosowana formalina;
  - przy zastosowaniu dwukrotnym powoduje nasilenie występowania istotnych zmian w skrzelach w porównaniu do podania jednokrotnego, jednakże nie wpływając na zaburzenia krążenia  $I_{GC}$  i występowanie zmian postępowych  $I_{GC}$ ;



- przy zastosowaniu trzykrotnym powoduje wystąpienie istotnych zmian zarówno w skórze, jak i w skrzelach w obrębie wszystkich badanych współczynników, na poziomie zmian równym trzykrotnemu podaniu formaliny;
  - jednokrotna ekspozycja na chlorek sodu powoduje większe zróżnicowanie zmian niż jednokrotna ekspozycja na formalinę, a różnice pomiędzy tymi substancjami maleją wraz z ekspozycją na drugą i trzecią dawkę;
  - przy zastosowaniu dwukrotnym chlorku sodu szybka regeneracja nabłonka skrzelu wpływa na obniżenie sumarycznej oceny zmian w skrzelach pstrągów tęczowych;
  - chlorek sodu ma działanie toksyczne na skórę i skrzel pstrągów tęczowych, przez co wpływa na rezultaty oceny patomorfologicznej tych narządów.
3. Podanie siarczanu miedzi (II) do wody w postaci trzydziestominutowych kąpiei profilaktycznych w dawce  $0,003 \text{ kg m}^{-3}$  u narybku pstrąga tęczowego w wieku 0+:
- przy zastosowaniu jednokrotnym w skórze powoduje wystąpienie istotnych zmian w obrębie wszystkich badanych współczynników, na podobnym poziomie do jednokrotnie zastosowanego chlorku sodu;
  - przy jednokrotnej ekspozycji w skrzelach powoduje wystąpienie istotnych zmian, w stosunku do grupy kontrolnej, w obrębie wszystkich badanych współczynników, ponadto powoduje istotne nasilenie zmian krążeniowych  $I_{GC}$  i stanu zapalnego  $I_{GI}$  w stosunku do grup z jednokrotną ekspozycją na formalinę i chlorek sodu;
  - przy dwukrotnej ekspozycji powoduje wystąpienie istotnych zmian w skórze w obrębie wszystkich badanych współczynników, w stosunku do grup kontrolnych, z wyjątkiem współczynnika zaburzeń krążenia  $I_{SC}$ ;
  - po dwukrotnej ekspozycji wpływa istotnie na poziom zmian wstecznych w skórze  $I_{RC}$  w stosunku do zmian wywołanych w skórze po dwukrotnej ekspozycji na chlorek sodu i jest podobny do dwukrotnie zastosowanej formaliny;
  - przy dwukrotnej ekspozycji powoduje wystąpienie istotnych zmian w skrzelach, w stosunku do grup kontrolnych, a w obrębie współczynnika zmian zapalnych  $I_{GI}$  i całkowitego wzorca reakcji narządu  $I_{G\Sigma}$  wykazuje podobieństwo do działania dwukrotnie podanej formaliny;

- przy trzykrotnym zastosowaniu powoduje wystąpienie istotnych zmian w stosunku do grup kontrolnych zarówno w skórze, jak i w skrzelach w obrębie wszystkich badanych współczynników;
  - przy trzykrotnym zastosowaniu w skórze powoduje najsilniejsze zmiany całkowitego wzorca reakcji narządu  $I_{S\Sigma}$  i poziomu zmian wstecznych  $I_{SR}$ ;
  - przy trzykrotnym zastosowaniu w skrzelach wywołuje zmiany na poziomie porównywalnym do poziomu zmian wywołanych trzykrotnym zastosowaniem formaliny i chlorku sodu;
  - niezależnie od liczby dawek, zastosowanie kąpiei profilaktycznej z siarczanem miedzi (II) w dawce  $0,003 \text{ kg m}^{-3}$  powoduje wystąpienie największych całkowitych zmian w ocenie patomorfologicznej u pstrąga tęczowego, świadcząc o najwyższej toksyczności wśród badanych substancji.
4. Przeprowadzona ocena wpływu kąpiei profilaktycznych z użyciem formaliny, chlorku sodu i siarczanu miedzi (II) na obraz patomorfologiczny wybranych narządów pstrąga tęczowego wykazała, że:
- brak istotnych statystycznie różnic, zarówno w skórze, jak i w skrzelach, wszystkich współczynników wzorców reakcji, współczynników reakcji narządów  $I_{S\Sigma}$  i  $I_{G\Sigma}$ , oraz wskaźnika całościowej oceny histologicznej Tot I u badanych ryb z grup kontrolnych;
  - zamknięcie przepływu wody w trakcie kąpiei w grupach kontrolnych nie wpływa na występowanie zmian, niezależnie od powtórzeń w czasie;
  - współczynnik zaburzeń krążenia w skórze  $I_{Sc}$  charakteryzuje się najmniejszą reaktywnością na stosowanie kąpiei profilaktycznych z użyciem formaliny, chlorku sodu i siarczanu miedzi (II), niezależnie od liczby ekspozycji;
  - stan zapalny wywołany przez kąpiele profilaktyczne może mieć efekt immunomodulujący.

## 9. PIŚMIENNICTWO

- Aas, I. B., Austbø, L., Falk, K., Hordvik, I., Koppang, E. O. (2017). The interbranchial lymphoid tissue likely contributes to immune tolerance and defense in the gills of Atlantic salmon. *Developmental and Comparative Immunology*, 76, 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.06.013>
- Adams, S. M., McLean, R. B. (1985). Estimation of largemouth bass, *Micropterus salmoides* Lacepede, growth using the liver somatic index and physiological variables. *Journal of Fish Biology*, 26(2), 111–126. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1985.tb04248.x>
- Adams, S. M., McLean, R. B., Parrotta, J. A. (1982). Energy Partitioning in Largemouth Bass under Conditions of Seasonally Fluctuating Prey Availability. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111(5), 549–558. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1982\)111<549:EPILBU>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1982)111<549:EPILBU>2.0.CO;2)
- Agbohessi, P. T., Imorou Toko, I., Ouédraogo, A., Jauniaux, T., Mandiki, S. N. M., Kestemont, P. (2015). Assessment of the health status of wild fish inhabiting a cotton basin heavily impacted by pesticides in Benin (West Africa). *Science of The Total Environment*, 506–507, 567–584. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.047>
- Al-Bairuty, G. A., Boyle, D., Henry, T. B., Handy, R. D. (2016). Sublethal effects of copper sulphate compared to copper nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at low pH: Physiology and metal accumulation. *Aquatic Toxicology*, 174, 188–198. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.006>
- Al-Bairuty, G. A., Shaw, B. J., Handy, R. D., Henry, T. B. (2013). Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 126, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.10.005>
- Albright, L. J., Yang, C. Z., Johnson, S. (1993). Sub-lethal concentrations of the harmful diatoms, *Chaetoceros concavicornis* and *C. convolutus*, increase mortality rates of penned Pacific salmon. *Aquaculture*, 117(3–4), 215–225. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90321-O](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90321-O)
- Alexander, J. B., Ingram, G. A. (1992). Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 249–279. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90066](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90066)
- Antychowicz, J. (2007). Kąpiele dezynfekcyjne i przeciwpasożytnicze. W T. Mikołajczyk, A. Sopińska (Red.), *Choroby ryb śródlądowych* (ss. 374–377). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne.

- Aspengren, S., Sköld, H. N., Quiroga, G., Mårtensson, L., Wallin, M. (2003). Noradrenaline- and Melatonin-Mediated Regulation of Pigment Aggregation in Fish Melanophores. *Pigment Cell Research*, 16(1), 59–64. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2003.00003.x>
- Assefa, A., Abunna, F. (2018). Maintenance of Fish Health in Aquaculture: Review of Epidemiological Approaches for Prevention and Control of Infectious Disease of Fish. *Veterinary Medicine International*, 5432497, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2018/5432497>
- Au, D. W. T. (2004). The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 48(9–10), 817–834. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.032>
- Bancroft, J. D., Layton, C. (2019). The hematoxylin and eosin. W S. K. Suvarna, C. Layton, J. D. Bancroft (Red.), *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques* (8. wyd., ss. 126–138). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00010-4>
- Barnes, M. A., Power, G., Downer, R. G. H. (1984). Stress-related changes in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) associated with a hydroelectric control structure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41(10), 1528–1533. <https://doi.org/10.1139/f84-189>
- Barton, B. A., Morgan, J. D., Vijayan, M. M. (2002). Physiological and Condition-Related Indicators of Environmental Stress in Fish. W S. M. Adams, (Red.), *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress* (ss. 111–148). American Fisheries Society.
- Baumann, P. C., Mac, M. J., Smith, S. B., Harshbarger, J. C. (1991). Tumor Frequencies in Walleye (*Stizostedion vitreum*) and Brown Bullhead (*Ictalurus nebulosus*) and Sediment Contaminants in Tributaries of the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(9), 1804–1810. <https://doi.org/10.1139/f91-213>
- Bayne, C. J., Gerwick, L. (2001). The acute phase response and innate immunity of fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 25(8–9), 725–743. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00033-7](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00033-7)
- Begley, C. G., Ioannidis, J. P. A. (2015). Reproducibility in science: Improving the standard for basic and preclinical research. *Circulation Research*, 116(1), 116–126. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.303819>
- Behnke, R. J. (1992). *Native trout of western North America* (Monograph). American Fisheries Society (AFS).
- Behnke, R. J. (2002). *Trout and Salmon of North America* (G. Scott (red.)). Free Press.

- Benhamed, S., Guardiola, F. A., Mars, M., Esteban, M. Á. (2014). Pathogen bacteria adhesion to skin mucus of fishes. *Veterinary Microbiology*, 171(1–2), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.03.008>
- Bergsjø, T., Bergsjø, T. H. (1978). Absorption from water as an alternative method for the administration of sulphonamides to rainbow trout, *salmo gairdneri*. The significance of the pKa value of the sulphonamides and the pH and salt content of the water. *Acta veterinaria Scandinavica*, 19(1), 102–109. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26193>
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22, 25–34. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x>
- Bjørgen, H., Koppang, E. O. (2021). Anatomy of teleost fish immune structures and organs. *Immunogenetics*, 73(1), 53–63. <https://doi.org/10.1007/s00251-020-01196-0>
- Bjørgen, H., Løken, O. M., Aas, I. B., Fjellidal, P. G., Hansen, T., Austbø, L., Koppang, E. O. (2019). Visualization of CCL19-like transcripts in the ILT, thymus and head kidney of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 93, 763–765. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.044>
- Blanc, J. M., Poisson, H., Quillet, E. (2006). A Blue Variant in the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *Journal of Heredity*, 97(1), 89–93. <https://doi.org/10.1093/jhered/esj010>
- Bolon, B., Barale-Thomas, E., Bradley, A., Ettlin, R. A., Franchi, C. A. S., George, C., Giusti, A. M., Hall, R., Jacobsen, M., Konishi, Y., Ledieu, D., Morton, D., Park, J.-H., Scudamore, C. L., Tsuda, H., Vijayasarathi, S. K., Wijnands, M. V. W. (2010). International Recommendations for Training Future Toxicologic Pathologists Participating in Regulatory-type, Nonclinical Toxicity Studies. *Toxicologic Pathology*, 38(6), 984–992. <https://doi.org/10.1177/0192623310378137>
- Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P. (2008). Meeting the Future Demand for Aquatic Food through Aquaculture: the Role of Aquatic Animal Health. W K. Tsukamoto, T. Kawamura, T. Takeuchi, T. D. J. Beard, M. J. Kaiser (Red.), *Fisheries for Global Welfare and Environment, 5th World Fisheries Congress 2008* (ss. 197–207). TERRAPUB.
- Boothe, H. W. (1998). Antiseptics and Disinfectants. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 28(2), 233–248. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(98\)82003-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(98)82003-2)
- Braasch, I., Volff, J.-N., Scharl, M. (2008). The evolution of teleost pigmentation and the fish-specific genome duplication. *Journal of Fish Biology*, 73(8), 1891–1918. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02011.x>

- Braz-Mota, S., Sadauskas-Henrique, H., Duarte, R. M., Val, A. L., Almeida-Val, V. M. F. (2015). Roundup® exposure promotes gills and liver impairments, DNA damage and inhibition of brain cholinergic activity in the Amazon teleost fish *Colossoma macropomum*. *Chemosphere*, 135, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.042>
- Brengballe, J. (2015). *A Guide to Recirculation Aquaculture: An introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), EUROFISH International Organisation. <http://www.fao.org/3/i4626e/i4626e.pdf>
- Brown, M. L., Murphy, B. R. (2004). Seasonal dynamics of direct and indirect condition indices in relation to energy allocation in largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacépède). *Ecology of Freshwater Fish*, 13(1), 23–36. <https://doi.org/10.1111/j.0906-6691.2004.00031.x>
- Buchmann, K., Bresciani, J., Jappe, C. (2004). Effects of formalin treatment on epithelial structure and mucous cell densities in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), skin. *Journal of Fish Diseases*, 27(2), 99–104. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2003.00519.x>
- Burgdorf-Moisuk, A., Mitchell, M. A., Watson, M. (2011). Clinical and Physiologic Effects of Sodium Chloride Baths in Goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 42(4), 586–592. <https://doi.org/10.1638/2010-0156.1>
- Burton, D. (2011). THE SKIN | Coloration and Chromatophores in Fishes. W A. P. Farrell (Red.), *Encyclopedia of Fish Physiology* (1. wyd., ss. 489–496). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00041-1>
- Cabillon, N., Lazado, C. (2019). Mucosal Barrier Functions of Fish under Changing Environmental Conditions. *Fishes*, 4(1), 2. <https://doi.org/10.3390/fishes4010002>
- Caraguel, F., Bessonov, N., Demongeot, J., Dhouailly, D., Volpert, V. (2016). Wound Healing and Scale Modelling in Zebrafish. *Acta Biotheoretica*, 64(4), 343–358. <https://doi.org/10.1007/s10441-016-9298-8>
- Cardiff, R. D., Ward, J. M., Barthold, S. W. (2008). ‘One medicine—one pathology’: are veterinary and human pathology prepared? *Laboratory Investigation*, 88(1), 18–26. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700695>
- Carl, L. M., Hunt, C., Ihssen, P. E. (1994). Rainbow Trout of the Athabasca River, Alberta: A Unique Population. *Transactions of the American Fisheries Society*, 123(2), 129–140. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1994\)123<0129:RTOTAR>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1994)123<0129:RTOTAR>2.3.CO;2)



- Chezian, A., Senthamils, D., Kabilan, N. (2012). Histological Changes Induced by Ammonia and pH on the Gills of Fresh Water Fish *Cyprinus carpio* var. *communis* (Linnaeus). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(7), 588–596. <https://doi.org/10.3923/ajava.2012.588.596>
- Claver, J. A., Quaglia, A. I. E. (2009). Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2), 87–97. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>
- Colihueque, N. (2010). Genetics of salmonid skin pigmentation: clues and prospects for improving the external appearance of farmed salmonids. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20(1), 71–86. <https://doi.org/10.1007/s11160-009-9121-6>
- Cordero, H., Morcillo, P., Cuesta, A., Brinchmann, M. F., Esteban, M. A. (2016). Differential proteome profile of skin mucus of gilthead seabream (*Sparus aurata*) after probiotic intake and/or overcrowding stress. *Journal of Proteomics*, 132, 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.11.017>
- Crawford, S. S., Muir, A. M. (2008). Global introductions of salmon and trout in the genus *Oncorhynchus*: 1870–2007. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18(3), 313–344. <https://doi.org/10.1007/s11160-007-9079-1>
- Crissman, J. W., Goodman, D. G., Hildebrandt, P. K., Maronpot, R. R., Prater, D. A., Riley, J. H., Seaman, W. J., Thake, D. C. (2004). Society of Toxicologic Pathology Guideline Best Practices Guideline: Toxicologic Histopathology. *Toxicologic Pathology*, 32, 126–131. <https://doi.org/10.1080/01926230490268756>
- Cruz, E. R., Enriquez, G. L. (1981). Gill lesions associated with acute exposure to ammonia. *SEAFDEC Aquaculture Department Quarterly Research Report*, 5(3), 5–8.
- Dale, O. B. (2019). Fish Disease Diagnostic: Norwegian approaches and experiences in a field of growing importance. W European Union Reference Laboratory for Fish and Crustacean Diseases training course “Introduction to Histopathology in fish and crustacean diseases”.
- Dalmo, R. A., Ingebrigtsen, K., Bogwald, J. (1997). Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of Fish Diseases*, 20(4), 241–273. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1997.00302.x>
- Dang, Z., Lock, R. A. C., Flik, G., Bonga, S. E. W. (1999). Metallothionein response in gills of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper in fresh water. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 277(1), R320–R331. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.277.1.R320>

- Dash, S., Das, S., Samal, J., Thatoi, H. (2018). Epidermal mucus, a major determinant in fish health: A review. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(2), 72–81. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2018.4849>
- Dekic, R., Savic, N., Manojlovic, M., Golub, D., Pavlicevic, J. (2016). Condition factor and organosomatic indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Wal.) from different brood stock. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 32(2), 229–237. <https://doi.org/10.2298/BAH1602229D>
- Demska-Zakęś, K., Gomułka, P., Rożyński, M., Zakęś, Z. (2021). Effect of a short-term sodium chloride bath on juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) welfare. *Aquaculture Reports*, 19, 100569. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100569>
- Elliott, D. G. (2011a). THE SKIN | Functional Morphology of the Integumentary System in Fishes. W A. P. Farrell (Red.), *Encyclopedia of Fish Physiology* (ss. 476–488). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00108-8>
- Elliott, D. G. (2011b). THE SKIN | The Many Functions of Fish Integument. W A. P. Farrell (Red.), *Encyclopedia of Fish Physiology* (ss. 471–475). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00285-9>
- Ellis, A. E. (2001). Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Developmental and Comparative Immunology*, 25(8–9), 827–839. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00038-6)
- Ellis, A. E., Wootten, R. (1978). Costiasis of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. smelts in seawater. *Journal of Fish Diseases*, 1(4), 389–393. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1978.tb00043.x>
- Enevova, V., Palikova, M., Blahova, J., Modra, H., Vojtek, L., Papezikova, I., Tichy, F., Mares, J., Navratil, S., Vecerek, V., Svobodova, Z. (2018). Sodium chloride treatment effects on rainbow trout suffering from proliferative kidney disease caused by *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 131(2), 157–166. <https://doi.org/10.3354/dao03287>
- Erickson, R. J., McKim, J. M. (1990). A simple flow-limited model for exchange of organic chemicals at fish gills. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9(2), 159–165. <https://doi.org/10.1002/etc.5620090205>
- Erickson, R. J., Nichols, J. W., Cook, P. M., Ankley, G. T. (2008). Bioavailability of Chemical Contaminants in Aquatic Systems. W R. T. Di Giulio D. E. Hinton (Red.), *The Toxicology of Fishes* (1. wyd., ss. 9–54). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203647295>

- Esteban, M. Á. (2012). An Overview of the Immunological Defenses in Fish Skin. *ISRN Immunology*, 2012, 1–29. <https://doi.org/10.5402/2012/853470>
- Esteban, M. Á., Cerezuela, R. (2015). Fish mucosal immunity: skin. W B. H. Beck E. Peatman (Red.), *Mucosal Health in Aquaculture* (1. wyd., ss. 67–92). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417186-2.00004-2>
- EUMOFA. (2017). *Fresh portion trout in Poland*. <https://doi.org/10.2771/740133>
- EUMOFA. (2019). *Species Profile: Rainbow Trout* (s. 9). European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products. [https://www.eumofa.eu/documents/20178/137160/Rainbow+trout\\_31-1.pdf](https://www.eumofa.eu/documents/20178/137160/Rainbow+trout_31-1.pdf)
- EUMOFA. (2020). *The EU fish market*. <https://doi.org/10.2771/664425>
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., Choe, K. P. (2005). The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. *Physiological Reviews*, 85(1), 97–177. <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>
- Evans, D. L., Jaso-Friedmann, L. (1992). Nonspecific cytotoxic cells as effectors of immunity in fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2(C), 109–121. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90059-7](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90059-7)
- Evans, D. L., Leary, J., Jaso-Friedmann, L. (2001). Nonspecific cytotoxic cells and innate immunity: regulation by programmed cell death. *Developmental Comparative Immunology*, 25(8–9), 791–805. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00036-2](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00036-2)
- Ewing, R. D., Evenson, M. D., Birks, E. K., Hemmingsen, A. R. (1984). Indices of parr-smolt transformation in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) undergoing volitional release at Cole Rivers Hatchery, Oregon. *Aquaculture*, 40(3), 209–221. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90188-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90188-1)
- Fabacher, D. L., Baumann, P. C. (1985). Enlarged livers and hepatic microsomal mixed-function oxidase components in tumor-bearing brown bullheads from a chemically contaminated river. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 4(5), 703–710. <https://doi.org/10.1002/etc.5620040514>
- FAO. (2017). *The future of food and agriculture – Trends and challenges*. <http://www.fao.org/3/i6583e/i6583e.pdf>
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

- Fast, M. D., Sims, D. E., Burka, J. F., Mustafa, A., Ross, N. W. (2002). Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular Integrative Physiology*, 132(3), 645–657. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00109-5](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00109-5)
- FEAP. (2020). *European Aquaculture Production Report 2014-2019*. [http://feap.info/wp-content/uploads/2020/12/20201218\\_feap-production-report-2020.pdf](http://feap.info/wp-content/uploads/2020/12/20201218_feap-production-report-2020.pdf)
- Ferguson, H. W. (2006). Skin. W H. W. Ferguson (Red.), *Systemic Pathology of Fish - A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease* (2. wyd., ss. 65–89). Scotian Press.
- Figueiredo-Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J. V., Garcia-Santos, S., Monteiro, S. M., Carrola, J., Matos, P., Fontáinhas-Fernandes, A. (2007). Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper copper. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 27(3), 103–109. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2007000300004>
- Fletcher, G. L., King, M. J., Kiceniuk, J. W., Addison, R. F. (1982). Liver hypertrophy in winter flounder following exposure to experimentally oiled sediments. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 73(2), 457–462. [https://doi.org/10.1016/0306-4492\(82\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0306-4492(82)90153-8)
- Flores-Lopes, F., Thomaz, A. T. (2011). Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Brazilian Journal of Biology*, 71(1), 179–188. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000100026>
- Fontenot, D. K., Neiffer, D. L. (2004). Wound management in teleost fish: Biology of the healing process, evaluation, and treatment. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 7(1), 57–86. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2003.08.007>
- Fournie, J. W., Krol, R. M., Hawkins, W. E. (2000). Fixation of Fish Tissues. W G. K. Ostrander (Red.), *The Laboratory Fish* (1. wyd., ss. 569–578). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012529650-2/50043-3>
- Fujii, R., Goda, M., Oshima, N. (2002). Mechanism by which an elevation of extracellular glucide concentration induces pigment aggregation in medaka melanophores. *Microscopy Research and Technique*, 58(6), 514–522. <https://doi.org/10.1002/jemt.10170>
- García-Magaña, L., Amparo Rodríguez-Santiago, M., Grano-Maldonado, M. I., Jiménez-Vasconcelos, L., Guerra-Santos, J. (2019). The effectiveness of sodium chloride and formalin in trichodiniasis of farmed freshwater tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus,

- 1758) in southeastern Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(1), 164–174. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue1-fulltext-18>
- Goede, R. W., Barton, B. A. (1990). Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicators of health and condition of fish. W S. M. Adams (Red.), *Biological indicators of stress in fish* (ss. 93–108). American Fisheries Society.
- Goldes, S. A., Ferguson, H. W., Moccia, R. D., Daoust, P. Y. (1988). Histological effects of the inert suspended clay kaolin on the gills of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 11(1), 23–33. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1988.tb00520.x>
- Gomez, D., Sunyer, J. O., Salinas, I. (2013). The mucosal immune system of fish: The evolution of tolerating commensals while fighting pathogens. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(6), 1729–1739. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.032>
- González, V., Labbé, B., Valerio, V., Vargas-Chacoff, L., Martínez, D., Oyarzún, R., Muñoz, J. (2016). Physicochemical parameters associated with the methods of application of salt baths and their field assessment of blood parameters of Atlantic salmon in water pre-smolt stage. *Archivos de medicina veterinaria*, 48(2), 223–230. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2016000200013>
- Goryczko, K. (2000). Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*). W M. Brylińska (Red.), *Ryby słodkowodne Polski* (ss. 428–431). Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Goryczko, K. (2008a). Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*). W J. A. Szczerbowski (Red.), *Rybacktwo śródlądowe* (ss. 316–329). Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Śródlądowego.
- Goryczko, K. (2008b). Stawy pstrągowe. W J. A. Szczerbowski (Red.), *Rybacktwo śródlądowe* (ss. 61–63). Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Śródlądowego.
- Griffin, B. R., Mitchell, A. J. (2007). Susceptibility of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), to *Edwardsiella ictaluri* challenge following copper sulphate exposure. *Journal of Fish Diseases*, 30(10), 581–585. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2007.00838.x>
- Grosell, M. (2011). Copper. W C. M. Wood, A. P. Farrell, C. J. Brauner (Red.), *Homeostasis and Toxicology of Essential Metals* (ss. 53–133). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(11\)31002-3](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(11)31002-3)
- Grosell, M., Blanchard, J., Brix, K. V., Gerdes, R. (2007). Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. *Aquatic Toxicology*, 84(2), 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.03.026>

- Grosell, M., Boëtius, I., Hansen, H. J. M., Rosenkilde, P. (1996). Influence of preexposure to sublethal levels of copper on  $^{64}\text{Cu}$  uptake and distribution among tissues of the European eel (*Anguilla anguilla*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 114(3), 229–235. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(96\)00038-2](https://doi.org/10.1016/0742-8413(96)00038-2)
- Grudniewska, J., Terech-Majewska, E. (2015). Metody dezynfekcji w hodowli ryb. Zwalczanie ektopasożytów ryb. W P. Hliwa, M. Woźniak, J. Król, P. Gomułka (Red.), *Ochrona zdrowia ryb w aspekcie jakości i bezpieczeństwa żywności* (ss. 72–89). PUH „Janter” s.c. Sławomir Terlikowski, Marek Jankowicz. [https://www.trafoon.org/sites/trafoon.org/files/download/805/tw\\_wp3\\_fish\\_olsztyn\\_book.pdf](https://www.trafoon.org/sites/trafoon.org/files/download/805/tw_wp3_fish_olsztyn_book.pdf)
- Guziur, J., Goryczko, K. (2003). Historia chowu pstrąga tęczowego. W J. Szarek, K. A. Skibniewska, J. Zakrzewski, J. Guziur (Red.), *Jakość pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) z technologii stosowanych w Polsce* (ss. 11–17). Pracownia Wydawnicza „ElSet”.
- Hadidi, S., Glenney, G. W., Welch, T. J., Silverstein, J. T., Wiens, G. D. (2008). Spleen Size Predicts Resistance of Rainbow Trout to *Flavobacterium psychrophilum* Challenge. *The Journal of Immunology*, 180(6), 4156–4165. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.6.4156>
- Handy, R. D. (2003). Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: two sides of the same toxicological process? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular Integrative Physiology*, 135(1), 25–38. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00018-7](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00018-7)
- Harper, C., Wolf, J. C. (2009). Morphologic Effects of the Stress Response in Fish. *ILAR Journal*, 50(4), 387–396. <https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.387>
- Hattori, R. S., Yoshinaga, T. T., Butzge, A. J., Hattori-Ihara, S., Tsukamoto, R. Y., Takahashi, N. S., Tabata, Y. A. (2020). Generation of a white-albino phenotype from cobalt blue and yellow-albino rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Inheritance pattern and chromatophores analysis. *PLOS ONE*, 15(1), e0214034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214034>
- Haugarvoll, E., Bjerkås, I., Nowak, B. F., Hordvik, I., Koppang, E. O. (2008). Identification and characterization of a novel intraepithelial lymphoid tissue in the gills of Atlantic salmon. *Journal of Anatomy*, 213, 202–209. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.00943.x>



- Haugland, T., Rudolfson, G., Figenschou, L., Folstad, I. (2011). Is the adipose fin and the lower jaw (kype) related to social dominance in male Arctic charr *Salvelinus alpinus*? *Journal of Fish Biology*, 79(4), 1076–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03087.x>
- Heidinger, R. C., Crawford, S. D. (1977). Effect of Temperature and Feeding Rate on the Liver–Somatic Index of the Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 34(5), 633–638. <https://doi.org/10.1139/f77-099>
- Heinen, J. M., Weber, A. L., Noble, A. C., Morton, J. D. (1995). Tolerance to Formalin by a Fluidized-Bed Biofilter and Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* in a Recirculating Culture System. *Journal of the World Aquaculture Society*, 26(1), 65–71. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1995.tb00210.x>
- Hetrick, F. M., Knittel, M. D., Fryer, J. L. (1979). Increased Susceptibility of Rainbow Trout to Infectious Hematopoietic Necrosis Virus After Exposure to Copper. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(2), 198–201. <https://doi.org/10.1128/aem.37.2.198-201.1979>
- Hine, M., Adams, S., Arthur, J. R., Bartley, D., Bondad-Reantaso, M. G., Chávez, C., Clausen, J. H., Dalsgaard, A., Flegel, T., Gudding, R., Hallerman, E., Hewitt, C., Karunasagar, I., Madsen, H., Mohan, C. V., Murrell, D., Perera, R., Smith, P., Subasinghe, R. P., Wardle, R. (2012). Improving biosecurity: a necessity for aquaculture sustainability. W R. P. Subasinghe, J. R. Arthur, D. M. Bartley, S. S. De Silva, M. Halwart, N. Hishamunda, C. V. Mohan, P. Sorgeloos (Red.), *Farming the Waters for People and Food. Proceedings of the Global Conference on Aquaculture 2010* (ss. 437–494). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). [https://www.researchgate.net/profile/Melba-Bondad-Reantaso/publication/336853331\\_Improving\\_Biosecurity\\_Aquaculture\\_Conference\\_2020\\_i2734e/links/5db710264585151435cdc586/Improving-Biosecurity-Aquaculture-Conference-2020-i2734e.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Melba-Bondad-Reantaso/publication/336853331_Improving_Biosecurity_Aquaculture_Conference_2020_i2734e/links/5db710264585151435cdc586/Improving-Biosecurity-Aquaculture-Conference-2020-i2734e.pdf)
- Hooijmans, C. R., de Vries, R., Leenaars, M., Curfs, J., Ritskes-Hoitinga, M. (2011). Improving planning, design, reporting and scientific quality of animal experiments by using the Gold Standard Publication Checklist, in addition to the ARRIVE guidelines. *British Journal of Pharmacology*, 162(6), 1259–1260. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01128.x>
- Hooijmans, C. R., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M. (2010). A gold standard publication checklist to improve the quality of animal studies, to fully integrate the three Rs, and to make systematic reviews more feasible. *ATLA Alternatives to Laboratory Animals*, 38(2), 167–182. <https://doi.org/10.1177/026119291003800208>

- Hu, Y., Maisey, K., Subramani, P. A., Liu, F., Flores-Kossack, C., Imarai, M., Secombes, C. J., Wang, T. (2018). Characterisation of rainbow trout peripheral blood leucocytes prepared by hypotonic lysis of erythrocytes, and analysis of their phagocytic activity, proliferation and response to PAMPs and proinflammatory cytokines. *Developmental and Comparative Immunology*, 88, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.07.010>
- Huffman, P. A., Arkoosh, M. R., Casillas, E. (1997). Characteristics of Peripheral Blood Cells from Rainbow Trout Evaluated by Particle Counter, Image Analysis, and Hemocytometric Techniques. *Journal of Aquatic Animal Health*, 9(4), 239–248. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1997\)009<0239:COPBCF>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1997)009<0239:COPBCF>2.3.CO;2)
- Hung, Y. W., Lin, Y. H., Huang, H. Y., Wang, W. S., Chiu, C. F., Chiu, C. C., Chiu, H. W., Tsai, W. H., Hung, S. W. (2019). Acute Toxicity and Drug Residue Analysis of Formalin in Two Cold Water Fishes: Cultured Hybrid Bester Sturgeon (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *United Journal of Biomedical Engineering and Science*, 1(1), 1–10. <https://www.untprimepub.com/>
- Hvas, M., Nilsen, T. O., Oppedal, F. (2018). Oxygen Uptake and Osmotic Balance of Atlantic Salmon in Relation to Exercise and Salinity Acclimation. *Frontiers in Marine Science*, 5, 368. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00368>
- Jennings, S., Stentiford, G. D., Leocadio, A. M., Jeffery, K. R., Metcalfe, J. D., Katsiadaki, I., Auchterlonie, N. A., Mangi, S. C., Pinnegar, J. K., Ellis, T., Peeler, E. J., Luisetti, T., Baker-Austin, C., Brown, M., Catchpole, T. L., Clyne, F. J., Dye, S. R., Edmonds, N. J., Hyder, K., Verner-Jeffreys, D. W. (2016). Aquatic food security: insights into challenges and solutions from an analysis of interactions between fisheries, aquaculture, food safety, human health, fish and human welfare, economy and environment. *Fish and Fisheries*, 17(4), 893–938. <https://doi.org/10.1111/faf.12152>
- Jensen, L. B., Wahli, T., McGurk, C., Eriksen, T. B., Obach, A., Waagbø, R., Handler, A., Tafalla, C. (2015). Effect of temperature and diet on wound healing in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(6), 1527–1543. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0105-2>
- Jiang, N., Tan, N. S., Ho, B., Ding, J. L. (2007). Respiratory protein-generated reactive oxygen species as an antimicrobial strategy. *Nature Immunology*, 8(10), 1114–1122. <https://doi.org/10.1038/ni1501>
- Karlsson-Norrgren, L., Dickson, W., Ljunberg, O., Runn, P. (1986). Acid water and aluminium exposure: gill lesions and aluminium accumulation in farmed brown trout, *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Diseases*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1986.tb00974.x>

- Keenan, C. M., Baker, J. F., Bradley, A. E., Goodman, D. G., Harada, T., Herbert, R., Kaufmann, W., Kellner, R., Mahler, B., Meseck, E., Nolte, T., Rittinghausen, S., Vahle, J., Yoshizawa, K., Keenan, C. M., Lilly, E. (2015). International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND) progress to date and future plans. *Journal of Toxicologic Pathology*, 28(1), 51–53. <https://doi.org/10.1293/tox.2014-0049>
- Kendall, N. W., McMillan, J. R., Sloat, M. R., Buehrens, T. W., Quinn, T. P., Pess, G. R., Kuzishchin, K. V., McClure, M. M., Zabel, R. W. (2015). Anadromy and residency in steelhead and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a review of the processes and patterns. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 72(3), 319–342. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0192>
- Kendall, R. L. (1988). Taxonomic Changes in North American Trout Names. *Transactions of the American Fisheries Society*, 117(4), 321–321. <https://doi.org/10.1577/1548-8659-117.4.321>
- Kilarski, W. (2012a). Pokrycie ciała. W A. Boroń K. Bieniarz (Red.), *Anatomia ryb* (1. wyd., ss. 339–360). Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne Sp. z o.o.
- Kilarski, W. (2012b). Układ oddechowy. W A. Boroń K. Bieniarz (Red.), *Anatomia ryb* (1. wyd., ss. 275–291). Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne Sp. z o.o.
- Kilkenny, C., Browne, W., Cuthill, I. C., Emerson, M., Altman, D. G. (2010). Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. *British Journal of Pharmacology*, 160(7), 1577–1579. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00872.x>
- Kim, J.-H., Han, S.-Y., Yeom, D.-H. (2012). The Ecological Health Screening Assessment of Agricultural area using Biomarkers and Bioindicators in *Misgurnus anguillicaudatus* (case study). *The Korean Journal of Pesticide Science*, 16(1), 62–68. <https://doi.org/10.7585/kjps.2012.16.1.062>
- Kleinow, K. M., Nichols, J. W., Hayton, W. L., McKim, J. M., Barron, M. G. (2008). Toxicokinetics in Fishes. W R. T. Di Giulio D. E. Hinton (Red.), *The Toxicology of Fishes* (1. wyd., ss. 55–152). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203647295>
- Klopfleisch, R. (2013). Multiparametric and semiquantitative scoring systems for the evaluation of mouse model histopathology - a systematic review. *BMC Veterinary Research*, 9(1), 123. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-123>
- Kolbadinezhad, S. M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., Joshaghani, H., Wilson, J. M. (2012). Effects of gradual salinity increase on osmoregulation in Caspian roach *Rutilus caspicus*. *Journal of Fish Biology*, 81, 125–134. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03317.x>

- Koppang, E. O., Kvellestad, A., Fischer, U. (2015). Fish mucosal immunity: gill. W B. H. Beckman E. Peatman (Red.), *Mucosal Health in Aquaculture* (1. wyd., ss. 93–133). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417186-2.00005-4>
- Kültz, D. (2015). Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. *Journal of Experimental Biology*, 218(12), 1907–1914. <https://doi.org/10.1242/jeb.118695>
- Kumari, U., Verma, N., Nigam, A. K., Mittal, S., Mittal, A. K. (2017). Wound-healing potential of curcumin in the carp, *Labeo rohita*. *Aquaculture Research*, 48(5), 2411–2427. <https://doi.org/10.1111/are.13077>
- Lai, J. C. C., Kakuta, I., Mok, H. O. L., Rummer, J. L., Randall, D. (2006). Effects of moderate and substantial hypoxia on erythropoietin levels in rainbow trout kidney and spleen. *Journal of Experimental Biology*, 209(14), 2734–2738. <https://doi.org/10.1242/jeb.02279>
- Law, J. M. (2003). Issues Related to the Use of Fish Models in Toxicologic Pathology: Session Introduction. *Toxicologic Pathology*, 31(Suppl.), 49–52. <https://doi.org/10.1080/01926230390174922>
- Layton, C., Bancroft, J. D. (2019). Carbohydrates. W S. K. Suvarna, C. Layton, J. D. Bancroft (Red.), *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques* (8. wyd., ss. 176–197). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00013-X>
- Leal, E., Granja, A. G., Zarza, C., Tafalla, C. (2016). Distribution of T Cells in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Skin and Responsiveness to Viral Infection. *PLoS ONE*, 11(1): e0147477 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147477>
- Lee, R. M., Gerking, S. D., Jezierska, B. (1983). Electrolyte balance and energy mobilization in acid-stressed rainbow trout, *Salmo gairdneri*, and their relation to reproductive success. *Environmental Biology of Fishes*, 8(2), 115–123. <https://doi.org/10.1007/BF00005178>
- Li, M. H., Wise, D. J., Robinson, E. H. (1996). Chemical Prevention and Treatment of Winter Saprolegniosis („Winter Kill”) in Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27(1), 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1996.tb00587.x>
- Liebel, S., Tomotake, M. E. M., Oliveira-ribeiro, C. A. (2013). Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 8(2), 9–15. <https://doi.org/10.5132/eec.2013.02.002>
- Lloyd, R., Herbert, D. W. M. (1960). The influence of carbon dioxide on the toxicity of un-ionized ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Annals of Applied Biology*, 48(2), 399–404. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1960.tb03536.x>

- Lunestad, B. T. (1992). Fate and effects of antibacterial agents in aquatic environments. W C. Michel D. J. Alderman (Red.), *Chemotherapy in Aquaculture: From Theory to Reality* (ss. 152–161). Office International des Epizooties OIE.
- Lunestad, B. T., Goksøyr, J. (1990). Reduction in the antibacterial effect of oxytetracycline in sea water by complex formation with magnesium and calcium. *Diseases of Aquatic Organisms*, 9, 67–72. <https://doi.org/10.3354/dao009067>
- Lunestad, B. T., Samuelson, O. B. (2001). Effects of sea water on the activity of antimicrobial agents used in aquaculture; implications for MIC testing. *Aquaculture*, 196(3–4), 319–323. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00545-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00545-2)
- MacRae, R. K., Smith, D. E., Swoboda-Colberg, N., Meyer, J. S., Bergman, H. L. (1999). Copper Binding Affinity of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) Gills: Implications for Assessing Bioavailable Metal. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(6), 1180–1189. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(1999\)018<1180:CBAORT>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(1999)018<1180:CBAORT>2.3.CO;2)
- Magundu, E. W., Rasowo, J., Oyoo-Okoth, E., Charo-Karisa, H. (2011). Evaluation of sodium chloride (NaCl) for potential prophylactic treatment and its short-term toxicity to African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) yolk-sac and swim-up fry. *Aquaculture*, 319(1–2), 307–310. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.038>
- McCusker, M. R., Parkinson, E., Taylor, E. B. (2000). Mitochondrial DNA variation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across its native range: testing biogeographical hypotheses and their relevance to conservation. *Molecular Ecology*, 9(12), 2089–2108. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.01121.x>
- McDermott, A. J., Petty, B. D. (2011). Use of Iodized Versus Non-iodized Sodium Chloride in Therapeutic Dips and Baths for Freshwater Fish. *Journal of Applied Aquaculture*, 23(4), 351–357. <https://doi.org/10.1080/10454438.2011.626968>
- McDonnell, G., Russell, A. D. (1999). Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147–179. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- McHugh, K. J., Smit, N. J., Van Vuren, J. H. J., Van Dyk, J. C., Bervoets, L., Covaci, A., Wepener, V. (2011). A histology-based fish health assessment of the tigerfish, *Hydrocynus vittatus* from a DDT-affected area. *Physics and Chemistry of the Earth*, 36(14–15), 895–904. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2011.07.077>

- McKim, J., Schmieder, P., Veith, G. (1985). Absorption dynamics of organic chemical transport across trout gills as related to octanol-water partition coefficient. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 77(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(85\)90262-5](https://doi.org/10.1016/0041-008X(85)90262-5)
- McPhee, M. V., Utter, F., Stanford, J. A., Kuzishchin, K. V., Savvaitova, K. A., Pavlov, D. S., Allendorf, F. W. (2007). Population structure and partial anadromy in *Oncorhynchus mykiss* from Kamchatka: relevance for conservation strategies around the Pacific Rim. *Ecology of Freshwater Fish*, 16(4), 539–547. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2007.00248.x>
- Medford, B. A., Mackay, W. C. (1978). Protein and Lipid Content of Gonads, Liver, and Muscle of Northern Pike (*Esox lucius*) in Relation to Gonad Growth. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35(2), 213–219. <https://doi.org/10.1139/f78-035>
- Mifsud, C., Rowland, S. J. (2008). Use of salt to control ichthyophthiriosis and prevent saprolegniosis in silver perch, *Bidyanus bidyanus*. *Aquaculture Research*, 39(11), 1175–1180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01981.x>
- Miki, M., Ohishi, N., Nakamura, E., Furumi, A., Mizuhashi, F. (2018). Improved fixation of the whole bodies of fish by a double-fixation method with formalin solution and Bouin's fluid or Davidson's fluid. *Journal of Toxicologic Pathology*, 31(3), 201–206. <https://doi.org/10.1293/tox.2018-0001>
- Mitchell, S. O., Baxter, E. J., Holland, C., Rodger, H. D. (2012). Development of a novel histopathological gill scoring protocol for assessment of gill health during a longitudinal study in marine-farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture International*, 20(5), 813–825. <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9504-x>
- Monfared, A. L., Naward, S. H., Bakhteyari, Z., Azizian, H., Rahimi, S. (2013). Histological changes of the lymphatic organs and white blood cell count following formaldehyde administration in the rainbow trout. *European Journal of Experimental Biology*, 3(3), 572–575.
- Morera, D., Roher, N., Ribas, L., Balasch, J. C., Doñate, C., Callol, A., Boltaña, S., Roberts, S., Goetz, G., Goetz, F. W., MacKenzie, S. A. (2011). RNA-Seq Reveals an Integrated Immune Response in Nucleated Erythrocytes. *PLoS ONE*, 6(10), e26998. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026998>
- Morgan, J. D., Iwama, G. K. (1997). Measurements of stressed states in the field. W G. K. Iwama, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, C. B. Schreck (Red.), *Fish stress and health in aquaculture* (1. wyd., ss. 247–268). Cambridge University Press.

- Morrison, C. M., Odense, P. H. (1978). Distribution and Morphology of the Rodlet Cell in Fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35(1), 101–116. <https://doi.org/10.1139/f78-014>
- Muhlfeld, C. C., Dauwalter, D. C., D'Angelo, V. S., Ferguson, A., Giersch, J. J., Impson, D., Koizumi, I., Kovach, R., McGinnity, P., Schöeffmann, J., Vøllestad, A. L., Epifanio, J. (2019). Global status of trout and char: Conservation challenges in the twenty-first century. W J. L. Kershner, J. E. Williams, R. E. Gresswell, J. Lobón-Cervia (Red.), *Trout and Char of the World* (ss. 717–760). American Fisheries Society. <https://doi.org/10.47886/9781934874547>
- Munro, E. S., Gregory, A. (2010). The risk associated with vertical transmission of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 30(4), 154-158.
- Naumowicz, K. (2017). Bioasekuracja w akwakulturowych systemach recyrkulacyjnych. W D. Kucharczyk, J. Łuczyński, J. Nowosad (Red.), *Recyrkulaty w praktyce hodowlanej – część I* (ss. 117–131). Gustaw Fish Sp. z o.o.
- Naumowicz, K., Terech-Majewska, E. (2019). Zasady bioasekuracji w gospodarstwach rybackich. W A. Kowalska R. Kowalski (Red.), *XLIV Szkolenie – Konferencja hodowców ryb łososiowatych* (ss. 162–172). Stowarzyszenie Producentów Ryb Łososiowatych.
- Needham, P. R., Behnke, R. J. (1962). The Origin of Hatchery Rainbow Trout. *The Progressive Fish-Culturist*, 24(4), 156–158. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1962\)24\[156:TOOVRT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1962)24[156:TOOVRT]2.0.CO;2)
- Needham, P. R., Gard, R. (1959). *Rainbow Trout in Mexico and California: With Notes on the Cutthroat Series, Tom 67* (Vol. 67). University of California Press.
- Neumann, R. M., Guy, C. S., Willis, D. W. (2012). Length, Weight, and Associated Indices. W A. V. Zale, D. L. Parrish, T. M. Sutton (Red.), *Fisheries Techniques* (3. wyd.). American Fisheries Society. <https://doi.org/10.47886/9781934874295.ch14>
- Noga, E. J. (2010). *Fish Disease: Diagnosis and Treatment* (2. wyd.). Blackwell Publishing, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118786758>
- Nombela, I., Puente-Marin, S., Chico, V., Villena, A. J., Carracedo, B., Ciordia, S., Mena, M. C., Mercado, L., Perez, L., Coll, J., Estepa, A., Ortega-Villaizan, M. del M. (2018). Identification of diverse defense mechanisms in rainbow trout red blood cells in response to halted replication of VHS virus. *F1000Research*, 6, 1958. <https://doi.org/10.12688/f1000research.12985.2>



- Nombela, I., Requena-Platek, R., Morales-Lange, B., Chico, V., Puente-Marin, S., Ciordia, S., Mena, M., Coll, J., Perez, L., Mercado, L., Ortega-Villaizan, M. (2019). Rainbow Trout Red Blood Cells Exposed to Viral Hemorrhagic Septicemia Virus Up-Regulate Antigen-Processing Mechanisms and MHC I&II, CD86, and CD83 Antigen-presenting Cell Markers. *Cells*, 8(5), 386. <https://doi.org/10.3390/cells8050386>
- Nouh, W. G., Selim, A. G. (2013). Toxopathological Studies on the Effect of Formalin and Copper Sulphate in Tilapia as A Commonly Used Disinfectant in Aquaculture. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 3(6), 7–20.
- OIE. (2021). *OIE Aquatic Animal Health Strategy 2021–2025* (s. 32). World Organisation for Animal Health (OIE).
- Olesen, N. J. (2019). The legislative basis for aquaculture animal health and the sampling and diagnostic procedures to use. W *European Union Reference Laboratory for Fish and Crustacean Diseases training course “Methods for implementation of surveillance procedures for listed Fish Diseases”*.
- Olson, K. R. (2002). Gill circulation: regulation of perfusion distribution and metabolism of regulatory molecules. *Journal of Experimental Zoology*, 293(3), 320–335. <https://doi.org/10.1002/jez.10126>
- Opuszyński, K. (1983). Kondycja. W K. Bieniarz, Z. Grodziński, H. Szarski (Red.), *Podstawy biologii ryb* (2. wyd., ss. 297–300). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne.
- Page, L. M., Burr, B. M. (2011). *Peterson Field Guide to Freshwater Fishes of North America North of Mexico* (2. wyd.). Houghton Mifflin Harcourt.
- Pajdak-Czaus, J. (2020). *Badanie mechanizmu oddziaływania wirusa IPN na patogenność Yersinia ruckeri u pstrąga tęczowego (Oncorhynchus mykiss)*. Uniwersytet-Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.
- Palić, D., Scarfe, A. D., Walster, C. I. (2015). A Standardized Approach for Meeting National and International Aquaculture Biosecurity Requirements for Preventing, Controlling, and Eradicating Infectious Diseases. *Journal of Applied Aquaculture*, 27(3), 185–219. <https://doi.org/10.1080/10454438.2015.1084164>
- Parra, D., Reyes-Lopez, F. E., Tort, L. (2015). Mucosal immunity and B cells in teleosts: Effect of vaccination and stress. *Frontiers in Immunology*, 6, 354. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00354>

- Peterson, T. S. (2015). Overview of mucosal structure and function in teleost fishes. W B. H. Beck E. Peatman (Red.), *Mucosal Health in Aquaculture* (1. wyd., ss. 55–65). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417186-2.00003-0>
- Picon-Camacho, S. M., Marcos-Lopez, M., Bron, J. E., Shinn, A. P. (2012). An assessment of the use of drug and non-drug interventions in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876, a protozoan parasite of freshwater fish. W *Parasitology* (T. 139, Numer 2). <https://doi.org/10.1017/S0031182011001867>
- Playle, R. C., Wood, C. M. (1989). Water chemistry changes in the gill micro-environment of rainbow trout: experimental observations and theory. *Journal of Comparative Physiology*, 159(5), 527–537. <https://doi.org/10.1007/BF00694377>
- Poels, C. L. M., Van der Gaag, M. A., Van de Kerkhoff, J. F. J. (1980). An investigation into the long-term effects of rhine water on rainbow trout. *Water Research*, 14(8), 1029–1035. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(80\)90148-7](https://doi.org/10.1016/0043-1354(80)90148-7)
- Poleksić, V., Lenhardt, M., Jarić, I., Djordjević, D., Gacić, Z., Cvijanović, G., Rašković, B. (2010). Liver, gills, and skin histopathology and heavy metal content of the Danube sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(3), 515–521. <https://doi.org/10.1002/etc.82>
- Puente-Marin, S., Thwaite, R., Mercado, L., Coll, J., Roher, N., Ortega-Villaizan, M. D. M. (2019). Fish Red Blood Cells Modulate Immune Genes in Response to Bacterial Inclusion Bodies Made of TNF $\alpha$  and a G-VHSV Fragment. *Frontiers in Immunology*, 10, 1055. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01055>
- Rairat, T., Thongpiam, W., Hsieh, C. Y., Liu, Y. K., Tunkijjanukij, S., Chou, C. C. (2020). Salinity-dependent pharmacokinetics of florfenicol in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its implication in optimal dosing regimen. *Aquaculture*, 519. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734900>
- Randelli, E., Buonocore, F., Scapigliati, G. (2008). Cell markers and determinants in fish immunology. *Fish and Shellfish Immunology*, 25(4), 326–340. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.019>
- Rašković, B., Jarić, I., Koko, V., Spasić, M., Dulić, Z., Marković, Z., Poleksić, V. (2013). Histopathological indicators: a useful fish health monitoring tool in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) culture. *Open Life Sciences*, 8(10), 975–985. <https://doi.org/10.2478/s11535-013-0220-y>

- Rasmussen, J. B., Taylor, E. B. (2009). *Status of the Athabasca Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) in Alberta* (s. 32). Alberta Sustainable Resource Development. <https://open.alberta.ca/dataset/9f9cb929-cd34-409b-a27c-98575d26eb61/resource/956425dd-cb08-4236-9cfa-9f2d693eeba1/download/2009-SAR-StatusAthabascaRainbowTroutAlberta-Jun2009.pdf>
- Rasowo, J., Okoth, O. E., Ngugi, C. C. (2007). Effects of formaldehyde, sodium chloride, potassium permanganate and hydrogen peroxide on hatch rate of African catfish *Clarias gariepinus* eggs. *Aquaculture*, 269(1–4), 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.087>
- Reimschuessel, R., Stewart, L., Squibb, E., Hirokawa, K., Brady, T., Brooks, D., Shaikh, B., Hodsdon, C. (2005). Fish drug analysis—Phish-pharm: A searchable database of pharmacokinetics data in fish. *The AAPS Journal*, 7(2), E288–E327. <https://doi.org/10.1208/aapsj070230>
- Reite, O. B. (2005). The rodlet cells of teleostean fish: their potential role in host defence in relation to the role of mast cells/eosinophilic granule cells. *Fish Shellfish Immunology*, 19(3), 253–267. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.002>
- Reite, O. B., Evensen, Ø. (2006). Inflammatory cells of teleostean fish: A review focusing on mast cells/eosinophilic granule cells and rodlet cells. *Fish Shellfish Immunology*, 20(2), 192–208. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.012>
- Rességuier, J., Dalum, A. S., Du Pasquier, L., Zhang, Y., Koppang, E. O., Boudinot, P., Wiegertjes, G. F. (2020). Lymphoid Tissue in Teleost Gills: Variations on a Theme. *Biology*, 9(6), 127. <https://doi.org/10.3390/biology9060127>
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. (2018). Biological and Ecological Roles of External Fish Mucus: A Review. *Fishes*, 3(4), 41. <https://doi.org/10.3390/fishes3040041>
- Richardson, R., Slanchev, K., Kraus, C., Knyphausen, P., Eming, S., Hammerschmidt, M. (2013). Adult zebrafish as a model system for cutaneous wound-healing research. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(6), 1655–1665. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.16>
- Roberts, R. J., Ellis, A. E. (2012). The Anatomy and Physiology of Teleosts. W R. J. Roberts (Red.), *Fish Pathology* (4. wyd., ss. 17–61). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118222942.ch2>

- Roberts, R. J., Rodger, H. D. (2012). The Pathophysiology and Systematic Pathology of Teleosts. W. R. J. Roberts (Red.), *Fish Pathology* (4. wyd., ss. 62–143). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118222942.ch3>
- Rodger, H. D. (2007). Erythrocytic inclusion body syndrome virus in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 30(7), 411–418. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2007.00831.x>
- Rombough, P. (2002). Gills are needed for ionoregulation before they are needed for O<sub>2</sub> uptake in developing zebrafish, *Danio rerio*. *Journal of Experimental Biology*, 205(12), 1787–1794. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.12.1787>
- Rowland, S. J., Mifsud, C., Nixon, M., Read, P., Landos, M. (2008). Use of formalin and copper to control ichthyophthiriosis in the Australian freshwater fish silver perch (*Bidyanus bidyanus* Mitchell). *Aquaculture Research*, 40(1), 44–54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02061.x>
- Rowland, S. J., Nixon, M., Landos, M., Mifsud, C., Read, P., Boyd, P. (2006). Effects of formalin on water quality and parasitic monogeneans on silver perch (*Bidyanus bidyanus* Mitchell) in earthen ponds. *Aquaculture Research*, 37(9), 869–876. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01505.x>
- Salamat, N., Zarie, M. (2016). Fish histopathology as a tool for use in marine environment monitoring: a review. *Comparative Clinical Pathology*, 25(6), 1273–1278. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-2037-0>
- Salinas, I. (2015). The Mucosal Immune System of Teleost Fish. *Biology*, 4(3), 525–539. <https://doi.org/10.3390/biology4030525>
- Samuelsen, O. B. (2006). Pharmacokinetics of quinolones in fish: A review. *Aquaculture*, 255(1–4), 55–75. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.008>
- Saraiva, A., Costa, J., Serrão, J., Cruz, C., Eiras, J. C. (2015). A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, 448, 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.028>
- Sardella, B. a, Matey, V., Cooper, J., Gonzalez, R. J., Brauner, C. J. (2004). Physiological, biochemical and morphological indicators of osmoregulatory stress in „California” Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) exposed to hypersaline water. *The Journal of Experimental Biology*, 207(8), 1399–1413. <https://doi.org/10.1242/jeb.00895>

- Scarfe, A. D., Lee, C.-S., O'Bryen, P. J. (2006). *Aquaculture Biosecurity: Prevention, Control, and Eradication of Aquatic Animal Disease* (A. D. Scarfe, C.-S. Lee, P. J. O'Bryen (red.); 1. wyd.). Blackwell Publishing. <https://www.wiley-vch.de/en/areas-interest/natural-sciences/aquaculture-biosecurity-978-0-8138-0539-9>
- Scarfe, A. D., Palić, D. (2020). Aquaculture biosecurity: Practical approach to prevent, control, and eradicate diseases. W F. S. B. Kibenge M. D. Powell (Red.), *Aquaculture Health Management* (ss. 75–116). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813359-0.00003-8>
- Schmidt, J. G. (2013). *Wound healing in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and common carp (Cyprinus carpio) with a focus on gene expression and wound imaging* [Technical University of Denmark]. [https://backend.orbit.dtu.dk/ws/portalfiles/portal/100553979/PhD\\_thesis\\_Jacob\\_G\\_nther\\_Schmidt.pdf](https://backend.orbit.dtu.dk/ws/portalfiles/portal/100553979/PhD_thesis_Jacob_G_nther_Schmidt.pdf)
- Schmidt, J. G., Andersen, E. W., Ersbøll, B. K., Nielsen, M. E. (2016). Muscle wound healing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunology*, 48, 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.12.010>
- Schofield, P. N., Ward, J. M., Sundberg, J. P. (2016). Show and tell: Disclosure and data sharing in experimental pathology. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 9(6), 601–605. <https://doi.org/10.1242/dmm.026054>
- Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Hönnen, W., Triebkorn, R. (1997). The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 6(1), 75–86. <https://doi.org/10.1023/A:1008212000208>
- Scudamore, C. L., Soilleux, E. J., Karp, N. A., Smith, K., Poulsom, R., Herrington, C. S., Day, M. J., Brayton, C. F., Bolon, B., Whitelaw, B., White, E. S., Everitt, J. I., Arends, M. J. (2016). Recommendations for minimum information for publication of experimental pathology data: MINPEPA guidelines. *The Journal of Pathology*, 238(2), 359–367. <https://doi.org/10.1002/path.4642>
- Shackelford, C., Long, G., Wolf, J., Okerberg, C., Herbert, R. (2002). Qualitative and Quantitative Analysis of Nonneoplastic Lesions in Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*, 30(1), 93–96. <https://doi.org/10.1080/01926230252824761>
- Sharma, J., Dar, S. A., Langer, S., Sayani, A. (2017). Seasonal variations in the spleen somatic index (SSI) of *Garra gotyla gotyla*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3), 173–175.

- Shaw, B. J., Al-Bairuty, G., Handy, R. D. (2012). Effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Physiology and accumulation. *Aquatic Toxicology*, 116–117, 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.02.032>
- Skidmore, J. F., Tovell, P. W. A. (1972). Toxic effects of zinc sulphate on the gills of rainbow trout. *Water Research*, 6(3), 217–228, IN1–IN2, 229–230, IN3–IN4. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(72\)90001-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(72)90001-2)
- Sköld, H. N., Aspengren, S., Wallin, M. (2002). The cytoskeleton in fish melanophore melanosome positioning. *Microscopy Research and Technique*, 58(6), 464–469. <https://doi.org/10.1002/jemt.10164>
- Smail, D. A., Munro, E. S. (2008). Isolation and quantification of infectious pancreatic necrosis virus from ovarian and seminal fluids of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. 1984. *Journal of Fish Disease*, 31(1), 49–58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2007.00866.x>
- Smith, G. R., Stearley, R. F. (1989). The Classification and Scientific Names of Rainbow and Cutthroat Trout. *Fisheries*, 14(1), 4–10. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1989\)014<0004:TCASNO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1989)014<0004:TCASNO>2.0.CO;2)
- Smith, S. A., Newman, S. J., Coleman, M. P., Alex, C. (2018). Characterization of the histologic appearance of normal gill tissue using special staining techniques. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30(5), 688–698. <https://doi.org/10.1177/1040638718791819>
- Soegianto, A., Adhim, M. H., Zainuddin, A., Putranto, T. W. C., Irawan, B. (2017). Effect of different salinity on serum osmolality, ion levels and hematological parameters of East Java strain tilapia *Oreochromis niloticus*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 50(2), 105–113. <https://doi.org/10.1080/10236244.2017.1333391>
- Sola, F., Isaia, J., Masoni, A. (1995). Effects of copper on gill structure and transport function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Toxicology*, 15(5), 391–398. <https://doi.org/10.1002/jat.2550150509>
- Speare, D. J., Ferguson, H. W. (2006). Gills and Pseudobranchs. W H. W. Ferguson (Red.), *Systemic Pathology of Fish - A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease* (2. wyd., ss. 25–63). Scotian Press.
- Stadnicka, J., Schirmer, K., Ashauer, R., Eawag, (2012). Predicting Concentrations of Organic Chemicals in Fish by Using Toxicokinetic Models. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3273–3280. <https://doi.org/10.1021/es2043728>

- Stanković, D., Crivelli, A. J., Snoj, A. (2015). Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts. *Reviews in Fisheries Science Aquaculture*, 23(1), 39–71. <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1024825>
- Steyermark, A. C., Spotila, J. R., Gillette, D., Isseroff, H. (1999). Biomarkers Indicate Health Problems in Brown Bullheads from the Industrialized Schuylkill River, Philadelphia. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128(2), 328–338. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1999\)128<0328:BIHPIB>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1999)128<0328:BIHPIB>2.0.CO;2)
- Straus, D. L., Tucker, C. S. (1993). Acute Toxicity of Copper Sulfate and Chelated Copper to Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24(3), 390–395. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1993.tb00170.x>
- Strzyżewska-Worotyńska, E., Szarek, J., Babińska, I., Gulda, D. (2017). Gills as morphological biomarkers in extensive and intensive rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) production technologies. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(12), 611. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6278-7>
- Sui, Y., Huang, X., Kong, H., Lu, W., Wang, Y. (2016). Physiological responses to salinity increase in blood parrotfish (*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂). *SpringerPlus*, 5(1), 1246. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2930-x>
- Sveen, L. R., Karlsen, C., Ytteborg, E. (2020). Mechanical induced wounds in fish – a review on models and healing mechanisms. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2446–2465. <https://doi.org/10.1111/raq.12443>
- Sveen, L. R., Timmerhaus, G., Krasnov, A., Takle, H., Handeland, S., Ytteborg, E. (2019). Wound healing in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Scientific Reports*, 9(1), 3565. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39080-x>
- Sveen, L. R., Timmerhaus, G., Krasnov, A., Takle, H., Stefansson, S. O., Handeland, S. O., Ytteborg, E. (2018). High fish density delays wound healing in Atlantic salmon (*Salmo salar*) OPEN. *Scientific Reports*, 8, 16907. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35002-5>
- Tacchi, L., Lowrey, L., Musharrafieh, R., Crossey, K., Larragoite, E. T., Salinas, I. (2015). Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 435, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.027>



- Tamkee, P., Parkinson, E., Taylor, E. B. (2010). The influence of Wisconsinan glaciation and contemporary stream hydrology on microsatellite DNA variation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 67(6), 919–935. <https://doi.org/10.1139/F10-034>
- Tao, S., Liu, G., Xu, F., Pan, B. (2002). Estimation of conditional stability constant for copper binding to fish gill surface with consideration of chemistry of the fish gill microenvironment. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 133(1–2), 219–226. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00092-3](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00092-3)
- Taqi, S. A., Sami, S. A., Sami, L. B., Zaki, S. A. (2018). A review of artifacts in histopathology. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 22(2), 279. [https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP\\_125\\_15](https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_125_15)
- Tavares-Dias, M. (2006). A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 68(6), 1822–1833. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01089.x>
- Tavares-Dias, M., Ono, E. A., Pilarski, F., Moraes, F. R. (2007). Can thrombocytes participate in the removal of cellular debris in the blood circulation of teleost fish? A cytochemical study and ultrastructural analysis. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(6), 709–712. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.00850.x>
- Tavares-Dias, M. (2021). Toxicity, physiological, histopathological and antiparasitic effects of the formalin, a chemotherapeutic of fish aquaculture. *Aquaculture Research*, 52(5), 1803–1823. <https://doi.org/10.1111/are.15069>
- Taylor, E. B., Tamkee, P., Sterling, G., Hughson, W. (2006). Microsatellite DNA analysis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from western Alberta, Canada: native status and evolutionary distinctiveness of “Athabasca” rainbow trout. *Conservation Genetics*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9142-9>
- Teh, S., Adams, S. M., Hinton, D. E. (1997). Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology*, 37(1), 51–70. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(96\)00808-9](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(96)00808-9)
- Terech-Majewska, E., Grudniewska, J., Siwicki, A. K. (2010). Dezynfekcja jako metoda profilaktyki i wspomagania terapii chorób ryb, w oparciu o najskuteczniejsze środki biobójcze. *Komunikaty Rybackie*, 2(115), 11–16. [https://www.infish.com.pl/wydawnictwo/KR/KR\\_numer/KR2010/Praca\\_2010\\_02\\_04.pdf](https://www.infish.com.pl/wydawnictwo/KR/KR_numer/KR2010/Praca_2010_02_04.pdf)

- Terzi, E., Corum, O., Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Atik, O., Uney, K. (2020). Pharmacokinetics of danofloxacin in rainbow trout after different routes of administration. *Aquaculture*, 520. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734984>
- Tierney, K. B., Kennedy, C. J., Gobas, F., Gledhill, M., Sekela, M. (2013). Organic Contaminants and Fish. W K. B. Tierney, A. P. Farrell, C. J. Brauner (Red.), *Organic Chemical Toxicology of Fishes, FISH PHYSIOLOGY Volume 33* (1. wyd., ss. 1–52). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398254-4.00001-7>
- Tompkins, D. M., Wilson, K. (1998). Wildlife disease ecology: from theory to policy. *Trends in Ecology Evolution*, 13(12), 476–478. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01499-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01499-2)
- Tort, L., Balasch, J. C., Mackenzie, S. (2003). Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. *Immunologia*, 22, 277–286.
- Treves-Brown, K. M. (2000). *Applied Fish Pharmacology* (1. wyd.). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0761-9>
- Trombetti, F., Ventrella, V., Pagliarani, A., Ballestrazzi, R., Galeotti, M., Trigari, G., Pirini, M., Borgatti, A. R. (1996). Response of rainbow trout gill (Na<sup>++</sup>K<sup>+</sup>)-ATPase and chloride cells to T3 and NaCl administration. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15(3), 265–274. <https://doi.org/10.1007/BF01875577>
- Tsui, W.-C., Chen, J.-C., Cheng, S.-Y. (2012). The effects of a sudden salinity change on cortisol, glucose, lactate, and osmolality levels in grouper *Epinephelus malabaricus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(5), 1323–1329. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9620-6>
- Ulucan, A., Yüksel, H., Dörtbudak, M. B., Yüksel, S. (2019). Comparative Examination of Commonly Used Some Fixatives with Routine Histochemical Staining's for The Optimal Histological Appearance in The Gill Tissue of Zebrafish. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12(2), 158–167. <https://doi.org/10.30607/kvj.526779>
- Uno, K. (1996). Pharmacokinetic study of oxytetracycline in healthy and vibriosis-infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture*, 143(1), 33–42. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01225-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01225-7)
- Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R., Moran, G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinární Medicina*, 56(10), 486–503. <http://vri.cz/docs/vetmed/56-10-486.pdf>
- van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57–149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)

- van Dyk, J. C., Marchand, M. J., Smit, N. J., Pieterse, G. M. (2009). A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *African Journal of Aquatic Science*, 34(3), 273–282. <https://doi.org/10.2989/AJAS.2009.34.3.9.985>
- van Ham, E. H., Hall, M. R. (1998). The Effects of Prophylactic Formalin Bath Treatment on Blood Glucose in the Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(3), 357–364. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1998.tb00659.x>
- Vanstone, W. E., Markert, J. R. (1968). Some Morphological and Biochemical Changes in Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*, During Parr–Smolt Transformation. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 25(11), 2403–2418. <https://doi.org/10.1139/f68-208>
- Velisek, J., Stara, A., Li, Z. H., Silovska, S., Turek, J. (2011). Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture*, 310(3–4), 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.010>
- Wagner, E. J., Arndt, R. E., Billman, E. J., Forest, A., Cavender, W. (2008). Comparison of the Efficacy of Iodine, Formalin, Salt, and Hydrogen Peroxide for Control of External Bacteria on Rainbow Trout Eggs. *North American Journal of Aquaculture*, 70(2), 118–127. <https://doi.org/10.1577/a06-068.1>
- Wang, L., Han, Y.-N., Jin, S., Ma, Y., Wang, G.-L., Zhao, Q., Chen, Y.-E. (2015). Pharmacokinetic Study of Florfenicol in Healthy and Vibriosis-infected *Pseudosciaena crocea* after Oral Administration. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 58(4), 363–368. <https://doi.org/10.3839/jabc.2015.057>
- Wang, T., Secombes, C. J. (2013). The cytokine networks of adaptive immunity in fish. *Fish Shellfish Immunology*, 35(6), 1703–1718. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.08.030>
- Wangen, K. (2012). Therapeutic Review: Sodium Chloride. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21(1), 94–98. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.11.012>
- Watz, J. (2015). *Salmonid behaviour under winter conditions* [Karlstad University]. <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:868880/FULLTEXT01.pdf>
- Wedemeyer, G. (1971). The Stress of Formalin Treatments in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) and Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 28(12), 1899–1904. <https://doi.org/10.1139/f71-285>
- Wegner, N. C. (2011). VENTILATION AND ANIMAL RESPIRATION | Gill Respiratory Morphometrics. W A. P. Farrell (Red.), *Encyclopedia of Fish Physiology* (1. wyd., ss. 803–811). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00166-0>

- Wester, P. W., Canton, J. H. (1991). The usefulness of histopathology in aquatic toxicity studies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(1–2), 115–117. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(91\)90135-G](https://doi.org/10.1016/0742-8413(91)90135-G)
- WHO. (2015). *WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015*. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf;jsessionid=06D82EBE269A3A55739BEC2379709A4A?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf;jsessionid=06D82EBE269A3A55739BEC2379709A4A?sequence=1)
- Wilson, J. M., Laurent, P. (2002). Fish gill morphology: Inside out. *Journal of Experimental Zoology*, 293(3), 192–213. <https://doi.org/10.1002/jez.10124>
- Wilson, R. W., Taylor, E. W. (1993). The physiological responses of freshwater rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure. *Journal of Comparative Physiology B*, 163(1), 38–47. <https://doi.org/10.1007/BF00309663>
- Wolf, J. C. (2018a). Fish toxicologic pathology: the growing credibility gap and how to bridge it. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 38(2), 51–64.
- Wolf, J. C. (2018b). Comparing apples and oranges and pears and kumquats: The misuse of index systems for processing histopathology data in fish toxicological bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(6), 1688–1695. <https://doi.org/10.1002/etc.4117>
- Wolf, J. C. (2021). A Critical Review of Morphologic Findings and Data From 14 Toxicological Studies Involving Fish Exposures to Diclofenac. *Toxicologic Pathology*, 49(5), 1024–1041. <https://doi.org/10.1177/0192623321989653>
- Wolf, J. C., Baumgartner, W. a, Blazer, V. S., Camus, A. C., Engelhardt, J. a, Fournie, J. W., Frasca, S., Groman, D. B., Kent, M. L., Khoo, L. H., Law, J. M., Lombardini, E. D., Ruehl-Fehlert, C., Segner, H. E., Smith, S. a, Spitsbergen, J. M., Weber, K., Wolfe, M. J. (2015). Nonlesions, Misdiagnoses, Missed Diagnoses, and Other Interpretive Challenges in Fish Histopathology Studies. *Toxicologic Pathology*, 43(3), 297–325. <https://doi.org/10.1177/0192623314540229>
- Wolf, J. C., Maack, G. (2017). Evaluating the credibility of histopathology data in environmental endocrine toxicity studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(3), 601–611. <https://doi.org/10.1002/etc.3695>
- Wolf, J. C., Ruehl-Fehlert, C., Segner, H. E., Weber, K., Hardisty, J. F. (2014). Pathology working group review of histopathologic specimens from three laboratory studies of diclofenac in trout. *Aquatic Toxicology*, 146, 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.033>

- Wolf, J. C., Wolfe, M. J. (2003). Good Laboratory Practice Considerations in the Use of Fish Models. *Toxicologic Pathology*, 31(1\_suppl), 53–57. <https://doi.org/10.1080/01926230390178739>
- Wolke, R. E. (1992). Piscine macrophage aggregates: A review. *Annual Review of Fish Diseases*, 2(C), 91–108. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90058-6](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90058-6)
- Wright, P., Heming, T., Randall, D. (1986). Downstream pH changes in water flowing over the gills of rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 126(1), 499–512. <https://doi.org/10.1242/jeb.126.1.499>
- Xu, Z., Parra, D., Gomez, D., Salinas, I., Zhang, Y.-A., von Gersdorff Jørgensen, L., Heinecke, R. D., Buchmann, K., LaPatra, S., Sunyer, J. O. (2013). Teleost skin, an ancient mucosal surface that elicits gut-like immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(32), 13097–13102. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304319110>
- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S., Georgieva, E. (2016). Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: A review. *Applied Ecology and Environmental Research*, 14(1), 47–75. [https://doi.org/10.15666/aeer/1401\\_047075](https://doi.org/10.15666/aeer/1401_047075)
- Yang, C., Albright, L. (1992). Effects of the harmful diatom *Chaetoceros concavicornis* on respiration of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 14, 105–114. <https://doi.org/10.3354/dao014105>
- Zapata, A., Diez, B., Cejalvo, T., Gutiérrez-de Frías, C., Cortés, A. (2006). Ontogeny of the immune system of fish. *Fish Shellfish Immunology*, 20(2), 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.005>
- Zawistowski, S. (1975). Odwadnianie utrwalonych odcinków. W B. Stolarska (Red.), *Technika histologiczna, histologia oraz podstawy histopatologii* (3. wyd., ss. 81–83). Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich.
- Żelazny, J., Gomułka, P. (2015). Specyfika i zasady stosowania leków u ryb w UE i w Polsce. Dozwolone i zakazane substancje lecznicze w akwakulturze. W P. Hliwa, M. Woźniak, J. Król, P. Gomułka (Red.), *Ochrona zdrowia ryb w aspekcie jakości i bezpieczeństwa żywności* (ss. 12–39). PUH „Janter” s.c. Sławomir Terlikowski, Marek Jankowicz.
- Zeni, T., Horodesky, A., Castilho-Westphal, G., Ostrensky, A. (2015). Analysis of Tissue Alterations and Quantitative Histopathological Indices in *Rhamdia quelen* (Quoy Gaimard, 1824) and *Metynnis maculatus* (Kner, 1858) During Treatment of Ichthyophthiriasis. *Annual Research Review in Biology*, 8(5), 1–10. <https://doi.org/10.9734/arrb/2015/21944>

- Zhang, Y.-A., Salinas, I., Li, J., Parra, D., Bjork, S., Xu, Z., LaPatra, S. E., Bartholomew, J., Sunyer, J. O. (2010). IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. *Nature immunology*, *11*(9), 827–835. <https://doi.org/10.1038/ni.1913>
- Zimmerli, S., Bernet, D., Burkhardt-Holm, P., Schmidt-Posthaus, H., Vonlanthen, P., Wahli, T., Segner, H. (2007). Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. *Aquatic Sciences*, *69*(1), 11–25. <https://doi.org/10.1007/s00027-006-0844-3>

## 10. SPIS AKTÓW NORMATYWNYCH

Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/880 z dnia 23 maja 2017 r. ustanawiające zasady stosowania maksymalnego limitu pozostałości ustalonego dla substancji farmakologicznie czynnej w danym środku spożywczym w odniesieniu do innego środka spożywczego uzyskanego z tego samego gatunku oraz stosowania maksymalnego limitu pozostałości ustalonego dla substancji farmakologicznie czynnej u jednego gatunku lub większej ich liczby w odniesieniu do innych gatunków, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009 (Dz. U. UE. L. z 2017 r. Nr 135, str. 1).

Rozporządzenie Komisji (UE) nr 37/2010 z dnia 22 grudnia 2009 r. w sprawie substancji farmakologicznie czynnych i ich klasyfikacji w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. UE. L. z 2010 r. Nr 15, str. 1 z późn. zm.).

Rozporządzenie Ministra Gospodarki Morskiej i Żeglugi Śródlądowej z dnia 12 lipca 2019 r. w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego oraz warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu do wód lub do ziemi ścieków, a także przy odprowadzaniu wód opadowych lub roztopowych do wód lub do urządzeń wodnych (Dz. U. poz. 1311).

Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 4 czerwca 2008 r. w sprawie kategorii stosowania produktu leczniczego weterynaryjnego oraz kryteriów zaliczania produktu leczniczego weterynaryjnego do poszczególnych kategorii stosowania i dostępności (Dz. U. Nr 107, poz. 683).

Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 listopada 2008 r. w sprawie sposobu postępowania przy stosowaniu produktów leczniczych, w sytuacji gdy brak jest odpowiedniego produktu leczniczego weterynaryjnego dopuszczonego do obrotu dla danego gatunku zwierząt (Dz. U. Nr 217, poz. 1388).

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/429 z dnia 9 marca 2016 r. w sprawie przenośnych chorób zwierząt oraz zmieniające i uchylające niektóre akty w dziedzinie zdrowia zwierząt („Prawo o zdrowiu zwierząt”) (Dz. U. UE. L. z 2016 r. Nr 84, str. 1 z późn. zm.).

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylające dyrektywę 2001/82/WE (Dz. U. UE. L. z 2019 r. Nr 4, str. 43).



Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009 z dnia 6 maja 2009 r. ustanawiające wspólnotowe procedury określania maksymalnych limitów pozostałości substancji farmakologicznie czynnych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 2377/90 oraz zmieniające dyrektywę 2001/82/WE Parlamentu Europejskiego i Rady i rozporządzenie (WE) nr 726/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady (Dz. U. UE. L. z 2009 r. Nr 152, str. 11).

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009 z dnia 6 maja 2009 r. ustanawiające wspólnotowe procedury określania maksymalnych limitów pozostałości substancji farmakologicznie czynnych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 2377/90 oraz zmieniające dyrektywę 2001/82/WE Parlamentu Europejskiego i Rady i rozporządzenie (WE) nr 726/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady (Dz.U. L 152 z 16.6.2009, str. 11-22).

Rozporządzenie Rady (EWG) NR 2377/90 z dnia 26 czerwca 1990 r. ustanawiające wspólnotową procedurę dla określania maksymalnego limitu pozostałości weterynaryjnych produktów leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (Dz.U. L 224 z 18.8.1990, str. 1-8).

Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska (Dz. U. z 2018 r. poz. 799 z późn. zm.).

Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2017 r. poz. 2211 z późn. zm.).

## 11. SPIS TABEL, RYCIN I RÓWNAŃ

### 11.1. Spis tabel

Tab. 1) Podgatunki pstrąga tęczowego (za Behnke, 2002 w modyfikacji własnej).....	10
Tab. 2) Popularne środki antyseptyczne w kąpielach profilaktycznych i leczniczych (za Terech-Majewska i in., 2010, w modyfikacji własnej).....	31
Tab. 3) Dozwolone substancje farmakologicznie czynne i ich klasyfikacja w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości (MLP). ....	34
Tab. 4) Rodzaje chromatoforów występujących u ryb (za Burton, 2011, w modyfikacji własnej).....	42
Tab. 5) Ustawienia programu NIS-Elements Br dla poszczególnych powiększeń obiektów. ....	68
Tab. 6) Półilościowa ocena zmian występujących w skórze (za Bernet i in., 1999).....	70
Tab. 7) Półilościowa ocena zmian występujących w skrzelach (za Bernet i in., 1999).....	71
Tab. 8) Statystyki opisowe masy badanych ryb z podziałem na grupy. ....	79
Tab. 9) Statystyki opisowe długości badanych ryb z podziałem na grupy. ....	79
Tab. 10) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	83
Tab. 11) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	84
Tab. 12) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie K48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	85
Tab. 13) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie F0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999). ....	87
Tab. 14) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie F24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999). ....	88

Tab. 15) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie F48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999). .....	89
Tab. 16) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	92
Tab. 17) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	93
Tab. 18) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie N48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	94
Tab. 19) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie C0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	97
Tab. 20) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie C24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	98
Tab. 21) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skórze pstrągów tęczowych w grupie C48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	99
Tab. 22) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zaburzeń krążenia w skórze I <sub>SC</sub> .....	103
Tab. 23) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zaburzeń krążenia w skórze I <sub>SC</sub> .....	103
Tab. 24) ) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian wstecznych w skórze I <sub>SR</sub> .....	105
Tab. 25) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian wstecznych w skórze I <sub>SR</sub> . ....	105
Tab. 26) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian postępowych w skórze I <sub>SP</sub> . ....	107
Tab. 27) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian postępowych w skórze I <sub>SP</sub> . ....	107
Tab. 28) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian zapalnych w skórze I <sub>SL</sub> . ....	109

Tab. 29) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian zapalnych w skórze $I_{SI}$ .....	109
Tab. 30) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika reakcji skóry $I_{S\Sigma}$ .	111
Tab. 31) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika reakcji skóry $I_{S\Sigma}$ .....	111
Tab. 32) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	112
Tab. 33) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	113
Tab. 34) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie K48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	114
Tab. 35) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999). ....	116
Tab. 36) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999). ....	117
Tab. 37) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie F48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999). ....	118
Tab. 38) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	121
Tab. 39) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	122
Tab. 40) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie N48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	123
Tab. 41) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C0 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	126
Tab. 42) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C24 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	127

Tab. 43) Mapa cieplna obserwowanych zmian histopatologicznych w skrzelach pstrągów tęczowych w grupie C48 (opracowanie własne na podstawie Bernet i in., 1999).....	128
Tab. 44) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zaburzeń krążenia w skrzelach $I_{GC}$ .....	132
Tab. 45) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zaburzeń krążenia w skrzelach $I_{GC}$ .....	132
Tab. 46) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian wstecznych w skrzelach $I_{GR}$ .....	134
Tab. 47) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian wstecznych w skrzelach $I_{GR}$ .....	134
Tab. 48) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian postępowych w skrzelach $I_{GP}$ .....	136
Tab. 49) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian postępowych w skrzelach $I_{GP}$ .....	136
Tab. 50) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika zmian zapalnych w skrzelach $I_{GI}$ .....	138
Tab. 51) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika zmian zapalnych w skrzelach $I_{GI}$ .....	138
Tab. 52) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla współczynnika reakcji skrzeli $I_{G\Sigma}$ .....	140
Tab. 53) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla współczynnika reakcji skrzeli $I_{G\Sigma}$ .....	140
Tab. 54) Porównanie istotności statystycznej różnic współczynników wzorców reakcji i reakcji narządów u pstrągów tęczowych po jednokrotnej, dwukrotnej i trzykrotnej kąpieli w badanych substancjach (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie $p < 0,05$ przypisano oznaczenia literowe).....	141
Tab. 55) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całościowego współczynnika zaburzeń krążenia $I_C$ .....	143

Tab. 56) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika zaburzeń krążenia $I_C$ .....	143
Tab. 57) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika zmian wstecznych $I_R$ .....	145
Tab. 58) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika zmian wstecznych $I_R$ .....	145
Tab. 59) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika zmian postępowych $I_P$ .....	147
Tab. 60) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika zmian postępowych $I_P$ .....	147
Tab. 61) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika zmian zapalnych $I_L$ .....	149
Tab. 62) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika zmian zapalnych $I_L$ .....	149
Tab. 63) Wyniki testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa dla całosciowego współczynnika oceny histologicznej Tot I.....	151
Tab. 64) Wyniki testu porównań wielokrotnych (dwustronnych) Dunna dla całosciowego współczynnika oceny histologicznej Tot I.....	151
Tab. 65) Porównanie istotności statystycznej różnic całosciowych współczynników wzorców reakcji i całosciowego współczynnika oceny histologicznej Tot I u pstrągów tęczowych po jednokrotnej, dwukrotnej i trzykrotnej kąpieli w badanych substancjach (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie $p < 0,05$ przypisano oznaczenia literowe). ....	152
Tab. 66) Wykorzystanie, wady i zalety wybranych wskaźników kondycyjnych używanych do wartościowania zmian w organizmach ryb, wynikających z działania stresu (za Barton i in., 2002 w modyfikacji własnej).....	167
Tab. 67) Zmiany współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji pstrągów tęczowych na formalinę w dawce $0,25 \text{ kg m}^{-3}$ (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie $p < 0,05$ przypisano oznaczenia literowe). ....	176

Tab. 68) Zmiany współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji pstrągów tęczowych na chlorek sodu w dawce $20 \text{ kg m}^{-3}$ (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie $p < 0,05$ przypisano oznaczenia literowe).....	181
Tab. 69) Zmiany współczynników wzorców reakcji w kontekście wielokrotnej ekspozycji pstrągów tęczowych na siarczan miedzi (II) w dawce $3 \text{ g l}^{-1}$ (w obrębie wiersza różnicom istotnym statystycznie $p < 0,05$ przypisano oznaczenia literowe).....	184



## 11.2. Spis rycin

Ryc. 1) Dojrzały samiec pstrąga czerwonosmugiego ( <i>O. m. gairdnerii</i> ) w okresie tarłowym (za Behnke, 2002).....	9
Ryc. 2) Typowe ubarwienie hodowlanego pstrąga tęczowego (Źródło: <a href="https://www.pngkit.com/png/detail/84-842116_rainbow-trout-png-rainbow-trout.png">https://www.pngkit.com/png/detail/84-842116_rainbow-trout-png-rainbow-trout.png</a> , dostęp 04.03.2021 r.). ....	14
Ryc. 3) Narybek pstrąga tęczowego z wyraźnie zaznaczonymi znakami narybkowymi (Źródło: <a href="https://cdn5.nzgeo.com/1970/01/trout_flock-1600x1065.jpg">https://cdn5.nzgeo.com/1970/01/trout_flock-1600x1065.jpg</a> , autor zdjęcia: George Novak, dostęp 04.03.2021 r.).....	14
Ryc. 4) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu albinotycznego (Źródło: <a href="https://live.staticflickr.com/5014/5424066807_37908c69d9_h.jpg">https://live.staticflickr.com/5014/5424066807_37908c69d9_h.jpg</a> , dostęp 04.03.2021 r.). ....	15
Ryc. 5) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu palomino (Źródło: <a href="https://9b16f79ca967fd0708d1-2713572fef44aa49ec323e813b06d2d9.ssl.cf2.rackcdn.com/1140x_a10-7_cTC/TROUTgolden2-jpg-1536773859.jpg">https://9b16f79ca967fd0708d1-2713572fef44aa49ec323e813b06d2d9.ssl.cf2.rackcdn.com/1140x_a10-7_cTC/TROUTgolden2-jpg-1536773859.jpg</a> , dostęp 04.03.2021 r.). ..	15
Ryc. 6) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu palomino (Źródło: <a href="https://i.ytimg.com/vi/Coesq3R9aR8/maxresdefault.jpg">https://i.ytimg.com/vi/Coesq3R9aR8/maxresdefault.jpg</a> , dostęp 04.03.2021 r.). ....	16
Ryc. 7) Ubarwienie pstrąga hodowlanego typu kobaltowego/niebieskiego (Źródło: <a href="http://www.nortonfishery.com/images/VickBlueTrout.jpg">http://www.nortonfishery.com/images/VickBlueTrout.jpg</a> , dostęp 04.03.2021 r.). ....	16
Ryc. 8) Ubarwienie pstrąga typu cętkowanego/appaloosa (Źródło: <a href="https://www.ramblingangler.com/wp-content/uploads/2018/08/fishing-Alaska-Rainbow-Trout-web-e1595100911587.png">https://www.ramblingangler.com/wp-content/uploads/2018/08/fishing-Alaska-Rainbow-Trout-web-e1595100911587.png</a> , dostęp 04.03.2021 r.).....	17
Ryc. 9) Zasięg naturalnego występowania pstrąga tęczowego, na skali zaznaczono relatywne prawdopodobieństwo występowania (Źródło: Computer generated distribution maps for <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Rainbow trout), <a href="http://www.aquamaps.org">www.aquamaps.org</a> , version 10/2019, dostęp 15.01 2021 r.).....	18
Ryc. 10) Występowanie pstrąga tęczowego według krajów, z wyróżnieniem obszarów rodzimych i introdukowanych (za Muhlfeld i in., 2019). ....	19
Ryc. 11) Ziarno ikry pstrąga tęczowego, widoczne krople tłuszczowe woreczka żółtkowego (Źródło: <a href="https://cdn6.nzgeo.com/1970/01/117_troutegg_header-2000x1330.jpg">https://cdn6.nzgeo.com/1970/01/117_troutegg_header-2000x1330.jpg</a> , autor zdjęcia: George Novak, dostęp 04.03.2021 r.).....	20

Ryc. 12) Początkowe stadia ontogenetyczne pstrąga tęczowego (Źródło: <a href="https://cdn5.nzgeo.com/2012/09/trout_infographic-867x1300.jpg">https://cdn5.nzgeo.com/2012/09/trout_infographic-867x1300.jpg</a> autor zdjęcia: George Novak, dostęp 04.03.2021 r.).....	21
Ryc. 13) Uproszczony schemat cyklu hodowlanego (za Pajdak-Czaus, 2020). ....	23
Ryc. 14) Całkowite światowe połowy i produkcja akwakultury w 2018 r. (opracowanie własne na podstawie danych: EUMOFA, 2020; FAO, 2020).....	24
Ryc. 15) Światowa i europejska produkcja akwakultury pstrąga tęczowego (w tonach) w latach 1950-2016 (opracowanie własne na podstawie danych: FAO, 2020). ....	25
Ryc. 16) Produkcja akwakultury pstrąga tęczowego w krajach Unii Europejskiej (w tonach) w latach 1999-2018 (opracowanie własne na podstawie danych: FAO, 2020). ....	26
Ryc. 17) Udział poszczególnych gatunków hodowlanych w produkcji akwakultury (w tonach) w Polsce w latach 2014-2019 (opracowanie własne na podstawie danych: FEAP, 2020). ....	26
Ryc. 18) Wielkość produkcji pstrąga tęczowego (w tonach) w 2016 r. według województw (opracowanie własne, na podstawie danych: EUMOFA, 2017). ....	27
Ryc. 19) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Centralnie widoczne mechanosensoryczne neuromasty kanałowe (strzałka). Barwienie HE.....	36
Ryc. 20) Pstrąg tęczowy, schematyczna budowa skóry. Pasek pionowy wskazuje na poszczególne warstwy skóry. Barwienie HE. ....	38
Ryc. 21) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Jaskrawo wybarwione komórki kubkowe (strzałki), nieznaczny rozrost naskórka (gwiazdki), liczba komórek śluzowych w normie. Barwienie AB/PAS.....	40
Ryc. 22) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Przekrój przez zachodzące na siebie łuski z widocznymi ząbkami listewek sklerytowych (strzałki). Barwienie HE.....	41
Ryc. 23) Pstrąg tęczowy, skóra, grupa kontrolna. Centralnie widoczne dendrytycznie rozgałęzione melanofory warstwy gąbczastej skóry właściwej z rozproszonymi melanosomami. Barwienie HE. ....	43
Ryc. 24) Pstrąg tęczowy, skrzela, grupa kontrolna. Listki skrzelowe z regularnie rozmieszczonymi blaszkami skrzelowymi. Zmiany histopatologiczne - zwiększenie liczby i objętości komórek kubkowych śluzowych dystalnych części blaszek oddechowych (strzałki). Barwienie HE. ....	46

Ryc. 25) Pstrąg tęczowy, skrzela, wyrostki filtracyjne, grupa kontrolna. Nabłonek pokrywający powierzchnię kostnych wyrostków filtracyjnych bogaty w komórki śluzowe. Barwienie HE.....	49
Ryc. 26) Diagram niektórych z funkcji śluzu ryb, podzielonych na role, obejmujące wytwarzanie i utrzymywanie warstwy śluzu otaczającego rybę oraz uwalnianie substancji do wody (za Elliott, 2011b). ....	51
Ryc. 27) Pstrąg tęczowy, skrzela, grupa kontrolna. Struktura śródskrzelowej tkanki limfatycznej. Barwienie HE.....	55
Ryc. 28) Obieg doświadczalny. ....	59
Ryc. 29) Diagram rozmieszczenia ryb w poszczególnych grupach doświadczalnych w basenach.....	61
Ryc. 30) Diagram procedury kąpieli.....	62
Ryc. 31) Procedura ważenia i mierzenia ryb po eutanazji. ....	63
Ryc. 32) Diagram blokowy procesu obróbki histopatologicznej skóry i skrzeli ryb. ....	65
Ryc. 33) Wykres zmian temperatury wody w trakcie trwania doświadczenia. ....	75
Ryc. 34) Wykres zmian pH wody w trakcie trwania doświadczenia. ....	76
Ryc. 35) Wykres zmian natlenienia wody w trakcie trwania doświadczenia. ....	76
Ryc. 36) Wykres zmian saturacji wody tlenem w trakcie trwania doświadczenia. ....	77
Ryc. 37) Wykres zmian zasolenia wody w trakcie trwania doświadczenia. ....	78
Ryc. 38) Wykres zmian przewodności wody w trakcie trwania doświadczenia.....	78
Ryc. 39) Współczynnik kondycji Fultona badanych ryb z podziałem na grupy.....	80
Ryc. 40) Współczynnik wiscerosomatyczny badanych ryb z podziałem na grupy. ....	81
Ryc. 41) Współczynnik hepatosomatyczny badanych ryb z podziałem na grupy. ....	81
Ryc. 42) Współczynnik splenosomatyczny badanych ryb z podziałem na grupy. ....	82
Ryc. 43) Skóra, grupa kontrolna, centralnie przekrój przez kanał linii nabocznej. Łagodnie zaznaczony przerost naskórka, łagodnie wyrażone zmiany wsteczne w cytoplazmie fibroblastów warstwy luźnej podnaskórkowej oraz włókien kolagenowych warstwy zbitej skóry właściwej. Barwienie HE.....	86

- Ryc. 44) Skóra, grupa kontrolna, naskórek. W warstwie luźnej podnaskórkowej widoczne melanocyty w formie dendrytycznej z rozproszonymi melanosomami (strzałki). Barwienie HE..... 86
- Ryc. 45) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z formaldehydem; przekrój przez kanał linii nabocznej. Znaczny rozrost naskórka (gwiazdka) oraz naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów, obejmujący naskórek, skórę właściwą oraz warstwę podskórną. Barwienie HE..... 90
- Ryc. 46) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Melanocyty w formie skupionej, zlokalizowane w warstwie luźnej podnaskórkowej oraz w tkance podskórnej (strzałki). Barwienie HE..... 90
- Ryc. 47) Skóra, grupa z jednokrotną kąpielą z formaldehydem. Rozrost naskórka (gwiazdki) oraz wynaczynienie (strzałka) w warstwie luźnej skóry właściwej. Barwienie HE. .... 91
- Ryc. 48) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z formaldehydem, warstwa luźna skóry właściwej. Ognisko martwicy, resztki wysięku zapalnego oraz okrągłe melanocyty (strzałki). Barwienie HE..... 91
- Ryc. 49) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z chlorkiem sodu, warstwa luźna. Przesięk prowadzący do obrzęku warstwy luźnej skóry właściwej (strzałka). Barwienie HE. .... 95
- Ryc. 50) Skóra, grupa z jednokrotną kąpielą z chlorkiem sodu, warstwa zbita. Przesięk prowadzący do obrzęku warstwy zbitej skóry właściwej (strzałka) . Barwienie HE. .... 95
- Ryc. 51) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą w chlorku sodu, naskórek i warstwa luźna. Rozrost keratynocytów (gwiazdki), naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie luźnej skóry właściwej (strzałki) oraz podnaskórkowe melanocyty w formie pośredniej pomiędzy dendrytyczną a skupioną (główki strzałek). Barwienie HE..... 96
- Ryc. 52) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Rozrost keratynocytów keratynocytów (czarna strzałka), naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie naskórka, warstwie luźnej skóry właściwej oraz w tkance podskórnej właściwej (białe strzałki). Barwienie HE..... 96
- Ryc. 53) Skóra, grupa z jednokrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Miejscowy rozrost keratynocytów i komórek śluzowych w naskórku (biała strzałka) oraz niewielki naciek zapalny z komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie luźnej skóry właściwej (czarna strzałka). Barwienie HE. .... 100

Ryc. 54) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Rozrost keratynocytów (czarna strzałka) oraz rozległy naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów w obrębie naskórka i warstwy luźnej skóry właściwej (główki strzałek). Barwienie HE. ....	100
Ryc. 55) Skóra, grupa z dwukrotną kąpielą z siarczanem miedzi, przekrój przez kanał linii nabocznej. Rozrost keratynocytów (czarna strzałka) oraz naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów w warstwie luźnej skóry właściwej (białe strzałki). Barwienie HE.....	101
Ryc. 56) Skóra, grupa z trzykrotną kąpielą z siarczanem miedzi, przekrój przez kanał linii nabocznej. Naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów w świetle kanału linii nabocznej (biała strzałka) oraz w warstwie luźnej skóry właściwej (czarne strzałki). Barwienie HE.....	101
Ryc. 57) Współczynnik zaburzeń krążenia w skórze $I_{SC}$ . ....	102
Ryc. 58) Współczynnik zmian wstecznych w skórze $I_{SR}$ . ....	104
Ryc. 59) Współczynnik zmian postępowych w skórze $I_{SP}$ . ....	106
Ryc. 60) Współczynnik zmian zapalnych w skórze $I_{SI}$ . ....	108
Ryc. 61) Współczynnik reakcji skóry $I_{\Sigma}$ . ....	110
Ryc. 62) Skrzela, grupa kontrolna. Prawidłowa morfologia narządu. Barwienie HE. ....	115
Ryc. 63) Skrzela, grupa kontrolna. Listki skrzelowe z regularnie rozmieszczonymi blaszkami skrzelowymi; słabo zaznaczone zmiany histopatologiczne - poszerzenie dystalnych fragmentów blaszek oddechowych (strzałki), zwiększenie objętości komórek kubkowych śluzowych (główki strzałek) i słabo wyrażony rozrost komórek warstwy rozrodczej, wywołany hipoksją. Barwienie HE.....	115
Ryc. 64) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Liczne tętniaki (strzałki), prowadzące do uszkodzenia struktury blaszek. Barwienie HE.....	119
Ryc. 65) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z formaldehydem. Przerost i rozrost w obrębie nabłonka blaszek (strzałki) oraz bazalnych komórek niezróżnicowanych (główki strzałek). Barwienie HE.....	119
Ryc. 66) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Widoczny prześiek i obrzęk blaszek oraz w obrębie listka skrzelowego (strzałki). Barwienie HE.....	120
Ryc. 67) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z formaldehydem. Naciek zapalny z komórek limfoidalnych, neutrofilów i melanomakrofagów (strzałki). W prawym dolnym rogu	

widoczny rozrost, prowadzący do zlania się blaszek (główki strzałek). Barwienie HE.....	120
Ryc. 68) Skrzela, grupa z jednokrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Tętniaki uszkodzające dystalne części blaszek (strzałki), wysięk i naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów (czarne główki strzałek) oraz przerost i rozrost nabłonka blaszek (białe główki strzałek). Barwienie HE.....	124
Ryc. 69) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Rozrost komórek nabłonka (białe główki strzałek), zmiany wsteczne w cytoplazmie bazalnych komórek niezróżnicowanych (oznaczone strzałkami) oraz naciek zapalny komórek limfoidalnych i neutrofilów (czarne główki strzałek). Barwienie HE.....	124
Ryc. 70) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Martwica nabłonka blaszek (strzałki), centralnie wysięk zapalny z obecnością komórek linii limfoidalnej i pojedynczymi komórkami linii mieloidalnej (główki strzałek). Barwienie HE. ....	125
Ryc. 71) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z chlorkiem sodu. Zwiększenie liczby komórek śluzowych, gromadzących się w szczytowej części blaszek (strzałki). Barwienie HE.....	125
Ryc. 72) Skrzela, grupa z jednokrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Obrzęk i naciek zapalny z obecnością komórek linii limfoidalnej i pojedynczymi komórkami linii mieloidalnej w warstwie bazalnych komórek niezróżnicowanych (strzałki). Barwienie HE.....	129
Ryc. 73) Skrzela, grupa z dwukrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Naciek w obrębie listka skrzelowego (czarne główki strzałek) oraz w warstwie bazalnych komórek niezróżnicowanych (białe główki strzałek), rozrost bazalnych komórek niezróżnicowanych oraz nabłonka (strzałki), zrastanie blaszek (gwiazdki). Barwienie HE. ....	129
Ryc. 74) Skrzela, grupa z jednokrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Obrzęk w warstwie bazalnych komórek niezróżnicowanych (czarne strzałki), rozrost bazalnych komórek niezróżnicowanych (białe strzałki) i przerost komórek nabłonka blaszek (czarne główki strzałek). Barwienie HE.....	130
Ryc. 75) Skrzela, grupa z trzykrotną kąpielą z siarczanem miedzi. Centralnie usytuowane komórki nabłonka ulegające złuszczeniu z dystalnej części blaszki (strzałka). Barwienie HE.....	130
Ryc. 76) Współczynnik zaburzeń krążenia w skrzelach I <sub>GC</sub> . ....	131
Ryc. 77) Współczynnik zmian wstecznych w skrzelach I <sub>GR</sub> .....	133

Ryc. 78) Współczynnik zmian postępowych w skrzelach $I_{GP}$ .....	135
Ryc. 79) Współczynnik zmian zapalnych w skrzelach $I_{GI}$ .....	137
Ryc. 80) Współczynnik reakcji skrzeli $I_{G\Sigma}$ .....	139
Ryc. 81) Całościowy współczynnik zaburzeń krążenia $I_C$ .....	142
Ryc. 82) Całościowy współczynnik zmian wstecznych $I_R$ .....	144
Ryc. 83) Całościowy współczynnik zmian postępowych $I_P$ .....	146
Ryc. 84) Całościowy współczynnik zmian zapalnych $I_I$ .....	148
Ryc. 85) Całościowy współczynnik oceny histologicznej Tot I.....	150
Ryc. 86) Kaskada gojenia ran w czasie, porównanie pomiędzy gatunkiem zimnowodnym (łosoś atlantycki <i>Salmo salar</i> ), a ciepłowodnym (danio pręgowany <i>Danio rerio</i> ) (za Sveen i in. 2020). ....	162
Ryc. 87) Dwa warianty anomalii w postaci podwójnej śledziony – po lewej ze znaczną różnicą rozmiaru, po prawej obie części w podobnym rozmiarze.....	169



### 11.3. Spis równań

Równanie 1) Wzór na obliczenie liczby dni karencji po zastosowaniu leku recepturowego. ....	35
Równanie 2) Przekształcone równanie Ficka (za Wegner, 2011).....	44
Równanie 3) Wzór na współczynnik Fultona (za Opuszyński, 1983). ....	64
Równanie 4) Wzór na wskaźnik trzewny VSI (za Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Morgan i Iwama, 1997). ....	64
Równanie 5) Wzór na wskaźnik wątrobowy HSI (za Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Morgan i Iwama, 1997). ....	64
Równanie 6) Wzór na wskaźnik śledzionowy SSI (za Barton i in., 2002; Goede i Barton, 1990; Morgan i Iwama, 1997). ....	64
Równanie 7) Współczynnik wzorca reakcji (za Bernet i in., 1999).....	72
Równanie 8) Współczynnik reakcji narządu (za Bernet i in., 1999).....	72
Równanie 9) Całościowy współczynnik wzorca reakcji (za Bernet i in., 1999).....	73
Równanie 10) Całościowy współczynnik oceny histologicznej (za Bernet i in., 1999). ....	73

## 12. WYKAZ SYMBOLI, OZNACZEŃ I SKRÓTÓW

### 12.1. Wykaz symboli i oznaczeń

$\dot{V}_{O_2}$	szybkość pobierania tlenu ( $\text{ml O}_2 \text{ min}^{-1}$ )
$\log K_{OW}$	współczynnik podziału
$C_{max}$	maksymalne stężenie substancji aktywnej w osoczu krwi
$t_{max}$	czas mijający od podania substancji do osiągnięcia w osoczu krwi maksymalnego stężenia substancji aktywnej
$\Delta P_{O_2}$	średnia różnica ciśnienia parcjalnego tlenu między krwią a wodą (mmHg)
A	płetwa odbytowa ( <i>pinna analis</i> )
CV	współczynnik zmienności (%)
D	płetwa grzbietowa ( <i>pinna dorsalis</i> )
$l$	długość całkowita ciała (cm)
min	minuta
P	płetwa piersiowa ( <i>pinna pectoralis</i> )
ppm	liczba części na milion
V	płetwa brzuszna ( <i>pinna ventralis</i> )
W	masa ciała (g)
$W_H$	masa wątroby (g)
$W_S$	masa śledziony (g)
$W_V$	masa trzewi (g)
A	całkowita powierzchnia oddechowa skrzeli ( $\text{cm}^2$ )
D	zdolność dyfuzji ( $\frac{\text{ml O}_2}{\text{min mmHg}}$ )
K	współczynnik dyfuzji Krogha ( $\frac{\text{ml O}_2 \mu\text{m}}{\text{cm}^2 \text{ mmHg min}}$ )
t	dystans dyfuzji ( $\mu\text{m}$ )

## 12.2. Wykaz skrótów

Skrót	Rozwinięcie	Język pochodzenia	Tłumaczenie
AB/PAS	alcian blue/periodic acid-Schiff	angielski	błękit alcjański z kwasem nadjodowym i odczynnikiem Schiffa
ADME	chemical absorption, distribution, metabolism, excretion	angielski	akronim odzwierciedlający losy leku w ustroju, pochodzący od nazw procesów: absorpcji, rozmieszczenia, biotransformacji (metabolizmu) i wydalania
AMP	antimicrobial peptides	angielski	peptydy antydrobnoustrojowe
ANOVA	analysis of variance	angielski	analiza wariancji
<i>Ap. pyl.</i>	appendices pyloricae	łaciński	wyrostki pyloryczne
ARRIVE	Animal Research: Reporting In Vivo Experiments	angielski	Badania na zwierzętach: wytyczne dotyczące raportowania eksperymentów <i>in vivo</i>
CC	chloride cells	angielski	jonocyty, komórki chlorkowe
DC	dendritic cell	angielski	komórki dendrytyczne
DNA	deoxyribonucleic acid	angielski	kwas deoksyrybonukleinowy
DNA	deoxyribonucleic acid	angielski	kwas deoksyrybonukleinowy
EGC	eosinophilic granular cells	angielski	eozyneofilowe komórki ziarniste
EUMOFA	European Market Observatory for fisheries and aquaculture	angielski	Europejskie Obserwatorium Rynku dla Rybołówstwa i Akwakultury
FAA	Formalin–Acid–Alcohol	angielski	mieszanina formalinowo-kwasowo-alkoholowa
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations	angielski	Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa
FEAP	The Federation of European Aquaculture Producers	angielski	Europejskie Stowarzyszenie Producentów Akwakultury

<b>Skrót</b>	<b>Rozwinięcie</b>	<b>Język pochodzenia</b>	<b>Tłumaczenie</b>
GALT	gut-associated lymphoid tissue	angielski	tkanka limfatyczna związana z jelitami
GIALT	gill-associated lymphoid tissue	angielski	tkanka limfatyczna związana ze skrzelami
GSPC	Gold Standard Publication Checklist	angielski	Złoty Standard Publikacyjnej Listy Kontrolnej
HE	hematoxylin and eosin	angielski	hematoksylina-eozyna
<i>HSI</i>	hepatosomatic index	angielski	wskaźnik wątrobowy
IHNV	Infectious Hematopoietic Necrosis Virus	angielski	wirus zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego
IL1b	Interleukin 1 beta	angielski	interleukina 1β
ILT	interbranchial lymphoid tissue	angielski	śródskrzelowa tkanka limfatyczna
ITIS	Integrated Taxonomic Information System	angielski	Zintegrowany system informacji taksonomicznej
LC <sub>50</sub>	lethal concentration	angielski	stężenie śmiertelne
MALT	mucosal-associated lymphoid tissue	angielski	tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi
MHC	major histocompatibility complex	angielski	główny układ zgodności tkankowej
MINPEPA	Minimum Information for Publication of Experimental Pathology Data	angielski	Minimalne ilości informacji do publikacji doświadczalnych danych patologicznych
MNC	mononuclear cells	angielski	komórki jednojądrzaste
MRC	mitochondria-rich cells	angielski	komórki bogate w mitochondria
mRNA	messenger RNA	angielski	informacyjny RNA, matrycowy RNA
mtDNA	mitochondrial DNA	angielski	DNA mitochondrialny
NCC	nonspecific cytotoxic cells	angielski	niespecyficzne komórki cytotoksyczne
NK	natural killer	angielski	komórka NK
NLR	NOD-like receptors	angielski	receptory NOD-podobne
NOAEL	no observed adverse effect level	angielski	stężenie niepowodujące efektów

<b>Skrót</b>	<b>Rozwinięcie</b>	<b>Język pochodzenia</b>	<b>Tłumaczenie</b>
<i>O. m.</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	łaciński	pstrąg tęczy
OIE	Office International des Epizooties	francuski	Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt
<i>p.o.</i>	<i>per os</i>	łaciński	podanie doustne
PAMPS	pathogen-associated molecular patterns	angielski	wzorce molekularne związane z patogenami
PBL	peripheral blood leucocytes	angielski	leukocyty
PBMC	peripheral blood mononuclear cells	angielski	komórki jednojądrzaste
PE	pavement epithelium cells	angielski	komórki naskórka
PIC	polyinosinic:polycytidylic acid	angielski	kwask poliinozyno- policytydylowy
PMNC	polymorphonuclear cells	angielski	komórki polimorfojądrowe
poli I:C	polyinosinic:polycytidylic acid	angielski	kwask poliinozyno- policytydylowy
poli(I:C)	polyinosinic:polycytidylic acid	angielski	kwask poliinozyno- policytydylowy
PRR	pattern recognition receptors, pathogen recognition receptors	angielski	receptory rozpoznające wzorce, in. receptory rozpoznające patogeny
RAS	recirculating aquaculture system	angielski	system zwrotnego obiegu wody
RNA	ribonucleic acid	angielski	kwask rybonukleinowy
<i>Rp.</i>	<i>recipe</i>	łaciński	recepta
SALT	skin-associated lymphoid tissue	angielski	tkanka limfatyczna związana ze skórą
<i>Sp. branch</i>	<i>spinae branchiales</i>	łaciński	wyrostki filtracyjne
SPF	specific pathogen free	angielski	zwierzęta wolne od specyficznych patogenów
SSI	splenosomatic index	angielski	wskaźnik śledzionowy
STR	Short Tandem Repeat	angielski	DNA mikrosatelitarny
TCR	T-cell receptor	angielski	receptor limfocyta T, receptor komórki T
TLR	toll-like receptors	angielski	receptory toll-podobne

<b>Skrót</b>	<b>Rozwinięcie</b>	<b>Język pochodzenia</b>	<b>Tłumaczenie</b>
TNF $\alpha$	tumor necrosis factor $\alpha$	angielski	czynnik martwicy nowotworów $\alpha$
UE	European Union	angielski	Unia Europejska
VSI	viscerosomatic index	angielski	wskaźnik trzewny
WHO	World Health Organization	angielski	Światowa Organizacja Zdrowia