

## ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА ЛЕЙКОГРАММУ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА В УСЛОВИЯХ ИНДУСТРИАЛЬНОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ

**Шленкина Татьяна Матвеевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

**Романова Елена Михайловна**, доктор биологических наук, профессор кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

**Мухитова Минзифа Эминовна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.: 8(8422)55-23-75; e-mail: t-shlenkina@yandex.ru

**Ключевые слова:** аквакультура, африканский клариевый сом, пробиотики, «Споротермин», иммунитет, лейкограмма.

В статье разрабатывается проблема использования пробиотика «Споротермин» при выращивании африканских клариевых сомов. В частности изучается влияние пробиотика на количественный и качественный состав клеток белой крови. Проблема влияния пробиотиков на состав лейкограммы актуальна, поскольку клетки белого кровяного ряда отвечают за иммунную защиту организма. Рабочая гипотеза основывалась на том, что пробиотики, оптимизирующие микробиоценоз среды обитания рыб, оказывают позитивное влияние на иммунную систему рыб. Цель работы: исследовать влияние пробиотика «Споротермин» на клетки крови рыб, отвечающие за иммунитет. В лейкоформуле процентное соотношение различных типов лейкоцитов отражает физиологическое состояние организма рыб и их клеточный иммунитет. В ходе исследований было установлено, что сом - типичный представитель лейкоформулы лимфоидного типа. В лейкоформуле популяции сомов, выращенных в отсутствии пробиотика на долю лимфоцитов приходилось около 78,33 %. У рыб, выращенных в присутствии пробиотика, количество лимфоцитов на 4,5 % выше. Популяция рыб, выращенных в среде с пробиотиком, на протяжении всего периода выращивания ничем не болела. Можно предполагать, что у рыб, потребляющих пробиотик, часть защитной функции организма выполняют анаэробные бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, подавляющие широкий спектр грамположительных и грамотрицательных бактерий. На фоне пробиотика возросла также доля полиморфоядерных форменных элементов за счет снижения доли моноцитов и нейтрофилов. Пробиотики являются антагонистами патогенной и условно-патогенной микробиоты, позитивно воздействуют на организм, оптимизируя его микробиоценоз, и являются альтернативой антибиотикам. В отличие от антибиотиков пробиотики безопасны для человека. Живая и свежая рыба, выращенная на фоне пробиотиков, является для человека оздоровляющим продуктом широкого спектра действия, содержащим жизненно необходимые организму человека компоненты.

**Исследования выполнялись по гранту РФФИ № 18-416-730005.**

### **Введение**

В России проблема обеспечения местных региональных рынков живой и свежей рыбой во многом зависит от развития аквакультуры в целом и индустриальной в частности. Вершиной развития индустриальной аквакультуры являются установки замкнутого водообеспечения (УЗВ). Однако в отечественной аквакультуре на протяжении последних десятилетий мало что изменилось. В ней повсеместно используются во многом устаревшие и не соответствующие современному уровню развития науки технологии XX столетия. Высокие плотности посадки, характерные для индустриальной аквакультуры в УЗВ, приводят к высокому уровню бактериальной обсемененности среды обитания рыб.

Для того, чтобы индустриальное рыбоводство было рентабельным и приносило большой

доход, необходимо обеспечить высокий уровень выживаемости рыбы [1,2], однако в условиях высокой плотности посадки это представляет значительную проблему. Чем выше плотность посадки, тем больше микробное загрязнение среды обитания рыб патогенной микробиотой. Болезни рыб в условиях индустриальной аквакультуры имеют стремительное развитие и поражают, как правило, все поголовье, поэтому прогностические исследования эпизоотической ситуации - это серьезная, требующая пристального внимания проблема. Важная роль в решении этой проблемы принадлежит мониторингу здоровья популяции. Важно выбрать наиболее информативные индикаторные показатели состояния здоровья популяции, которые можно было бы отслеживать в реальном времени. Практика показывает, что в этом плане весьма

информативна лейкограмма. Все группы лейкоцитов как по отдельности, так и в совокупности выполняют функции защиты организма от чужеродного вторжения, являясь иммунокомпетентными клетками. При этом разные группы лейкоцитов: базофилы, эозинофилы, моноциты, лимфоциты и нейтрофилы выполняют свои специфические функции. Использование метода лейкограммы как средства мониторинга эпизоотической ситуации позволит значительно снизить уровень потерь.

К сожалению, лейкоцитарные формулы многих видов рыб в настоящее время недостаточно изучены. Еще менее изучены лейкоцитарные формулы гибридных видов рыб. В частности, лейкограммы гибридных форм африканского клариевого сома, распространенного в аквакультуре РФ вида, в настоящее время не расшифрованы из-за недостатка внимания к этой проблеме.

Между тем, разведение клариевого сома, которым мы занимаемся [3,4], сулит большие выгоды, поскольку у этого вида затраты корма на 1 кг продукции, как правило, не превышают 1,0-1,2 кг. Выносливость этого вида позволяет выращивать его в условиях высокой плотности посадки. Практика показывает, что такое существенное изменение экологических условий среды обитания вызывает хронический стресс у рыбы, сказывающийся на ее иммунной системе и приводящий к повышению восприимчивости к заболеваниям. В такой ситуации использование метода лейкограммы позволяет визуализировать и осознать формирующуюся проблему уже на начальных ее этапах.

Для оздоровления среды обитания рыб в последнее время стали использовать хорошо зарекомендовавшие себя в сельском хозяйстве пробиотики. Современные пробиотики, не наносящие ущерба организму животных, рассматривают как альтернативу антибиотикам. Введение пробиотиков в среду обитания или же в корма рыб коренным образом изменяет водный микробиоценоз и микробиоценоз кишечника рыб. Являясь антагонистами патогенной и условно-патогенной микробиоты, пробиотики качественно и количественно улучшают микробиологические показатели воды и не только. В частности, пробиотики в составе кормов оптимизируют кишечный микробиоценоз.

В своих исследованиях мы использовали препарат «Споротермин» [5].

«Споротермин» - это препарат, который создан на основе спорообразующих бактерий

*Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*. «Споротермин» состоит полностью из споровых форм, которые выживают в кислой среде желудка, а затем в кишечнике прорастают и размножаются. Бактерии *B. subtilis* и *B. licheniformis* характеризуются высокой антагонистической активностью к различным группам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, они способны восстанавливать и оптимизировать кишечный микробиоценоз, повышая иммунитет рыб. Применение «Споротермина» позволяет отказаться в рыбоводстве от использования антибиотиков [6, 7].

Необходимым условием успешного ведения индустриального рыбоводства является контроль физиологического состояния популяции. Как известно, с этой целью используют кровь, поскольку это наиболее чувствительная и лабильная система организма, отвечающая на изменение любых экзогенных факторов среды и эндогенных процессов в организме. Поскольку в настоящее время влияние «Споротермина» на иммунную систему организма изучено недостаточно, исследование картины белой крови могло бы внести существенный вклад в решение этой проблемы [8,9].

В настоящее время вопрос использования пробиотиков в рыбоводстве изучен недостаточно полно. На сегодняшний день нет научно обоснованных рекомендаций по применению этих препаратов.

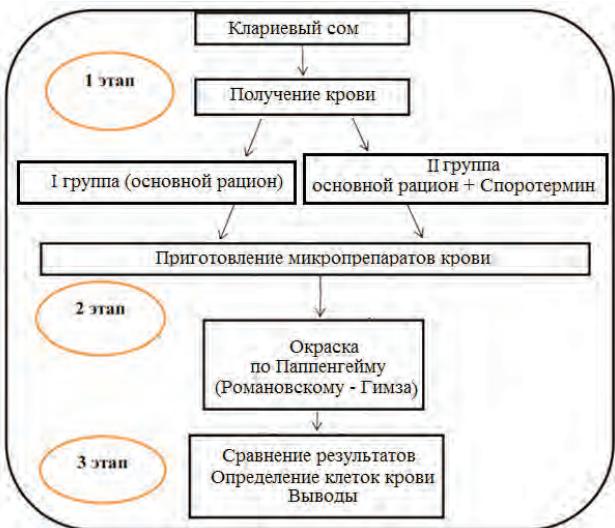
Цель работы: Исследовать влияние пробиотика «Споротермин» на клетки крови рыб, отвечающие за иммунитет.

В задачи исследования входило: 1- исследование лейкограммы у популяции гибридных африканских клариевых сомов в условиях бассейнового разведения; 2- исследование лейкоцитарной формулы у сомов, выращенных в среде с пробиотиком «Споротермин».

#### Объекты и методы исследований

Изучалось влияние пробиотика «Споротермин», использованного при выращивании африканского клариевого сома, на лейкограмму крови. Исследования проводились в лаборатории экспериментальной биологии и аквакультуры кафедры «Биологии, ветеринарной генетики, паразитологии и экологии» УлГАУ.

Рыба содержалась в бассейнах, оснащенных фильтрами на кварцевом песке. Объем бассейна - 3,8 м<sup>3</sup>, глубина составляла 85 см. Содержание кислорода составляло 70-90%. Суточная подмена воды составляла не менее 25%. Схема опыта представлена на рис. 1.



**Рис. 1 - Схема исследований**

Объектами исследования являлись 200 особей клариевого сома. Для проведения опытов были сформированы 2 группы по 100 особей в каждой, не отличающихся по физиологическому состоянию и возрасту. При кормлении использовали экструдированные корма.

Первая группа получала основной рацион, второй группе дополнительно вводили «Споротермин» с кормами и в воду из расчета 1г на 500 л.

После завершения опыта производили убийство, чтобы получить кровь для анализа. Мазки крови готовили на чисто вымытых предметных стеклах, которые хранились в смеси этилового эфира и этилового спирта 1:1. Мазки окрашивали по Паппенгейму (Романовскому – Гимза), затем промывали дистиллированной водой, высушивали на воздухе, а затем просматривали в световой микроскоп. В мазках производился подсчет всех групп лейкоцитов в пересчете на 100 клеток, чтобы расшифровать лейкоформулу, отражающую процентное соотношение между отдельными видами лейкоцитов. Клетки классифицировали в соответствии с их описанием [10,11].

### Результаты исследований

Лейкоцитарная формула крови гибридных форм африканского клариевого сома, выращиваемого в России, несмотря на то, что это распространенный в аквакультуре вид, – не исследована. Данных о структуре лейкограммы африканского клариевого сома в доступных литературных источниках обнаружено не было.

У рыб в лейкограмме присутствуют следующие виды лейкоцитов: лимфоциты, моноциты, базофилы, нейтрофилы, эозинофилы и полиморфноядерные лейкоциты [12].

Лимфоциты – у этой группы клеток почти весь объем занят фиолетовым ядром, окруженным тонким ободком голубой цитоплазмы.

Наиболее крупными клетками лейкоцитарного ряда являются моноциты, для них характерна вакуолизированная цитоплазма без зернистости, в которую погружено бобовидное ядро, всегда смещенное относительно центра клетки [13].

Нейтрофилы характеризуются круглыми формами, цитоплазмой фиолетово-розового цвета, по возрастному критерию подразделяются на миелоциты, юные, палочкоядерные и сегментоядерные зрелые формы, в зависимости от возраста имеют сначала овальное, затем палочковидное, с возрастом – сегментированное ядро.

Эозинофилы – клетки, похожие на нейтрофилы, но их невозможно спутать ввиду розовой зернистости цитоплазмы.

Базофилы среди остальных клеток лейкоцитарного ряда можно отличить по фиолетовой зернистости цитоплазмы.

Гранулоциты, микрофаги относятся к категории полиморфоядерных клеток размером до 14 мкм, характеризующихся подковообразным, разделенным на сегменты ядром, погруженным в гранулированную цитоплазму.

Проведенные нами исследования лейкоцитарной формулы африканского клариевого сома показали, что его лейкограмма относится к лимфоидному типу (рис. 2). Это характерно для костистых рыб [14].

В лейкограмме популяции обследованных нами африканских клариевых сомов уровень лимфоцитов достигал 78,33%. По своей сути лимфоциты выполняют клиринговую функцию за счет выявления, распознавания и уничтожения всего чужеродного в организме; они также обеспечивают иммунный ответ, его регуляцию и иммунную память.

Известно, что помимо защитной функции, которую выполняют лейкоциты, они играют важную роль в обмене веществ. В лейкограмме процентное соотношение различных типов лейкоцитов отражает не только их клеточный иммунитет, но и является характеристикой физиологического состояния организма рыбы.

Данные наших исследований (рис. 3 - 9) показали, что количество лимфоцитов в опытной группе больше на 4,5%.

Можно предположить, что у рыб второй опытной группы, получавшей в качестве добавок пробиотик, часть защитной функции организма

выполняют анаэробные бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, подавляющие широкий спектр грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Лимфоциты благодаря специальным участкам рецепторов, которые активируются при контакте с антигеном, производят защитные антитела, которые осуществляют иммунную память. Эти функции осуществляют специализированные формы лимфоцитов.

Моноциты, по сравнению с другими лейкоцитами, проявляют высокую фагоцитарную активность к продуктам распада клеток и тканей, они также способны нейтрализовать действие токсинов. В нашем эксперименте было показано, что на фоне пробиотика количество моноцитов у рыб снижается, по сравнению с контролем. Вероятно, это перераспределение в сторону снижения количества моноцитов обусловлено тем, что на фоне пробиотика уровень бактериального загрязнения среды обитания рыб многократно ниже, поэтому потребность в клетках этой группы имеет тенденцию к снижению.

Нейтрофилы свою биологическую роль реализуют, осуществляя защиту организма от токсинов и бактерий. Эти лейкоцитарные клетки обладают способностью проникать сквозь стенки капилляров в межтканевые пространства для осуществления фагоцитоза. Результаты наших исследований свидетельствуют, что на фоне пробиотика потребность в клетках этой группы также имеет тенденцию к снижению. Разница между опытом и контролем составляет 13,22%.

Пролеживая судьбу полиморфноядерных клеток, следует отметить, что на фоне пробиотика доля метамиелоцитов, нейтрофильных и эозинофильных миелоциты в лейкограмме возрастает.

На лейкопоэз, а следовательно и на структуру лейкограммы, большое влияние оказывает температурный фактор. Как известно, для такой теплолюбивой рыбы, как клариевый сом, температурный оптимум составляет 26<sup>0</sup>С. Колебания температуры в ту или иную сторону оказывают влияние на соотношение различных групп

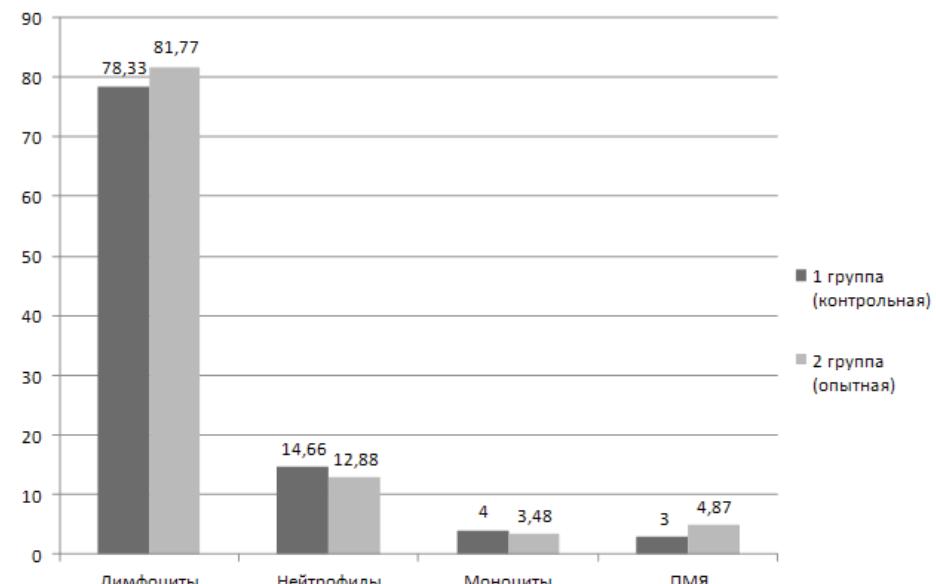


Рис. 2 – Лейкоцитарная формула клеток крови клариевого сома

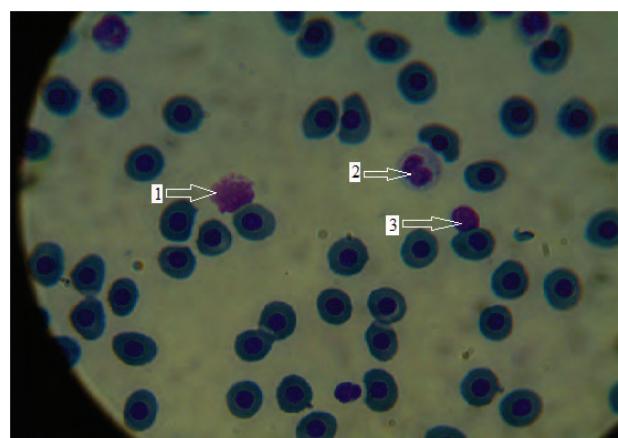


Рис. 3 – Мазок крови клариевого сома:

1 – полиморфноядерный эозинофил; 2 – нейтрофил сегментоядерный; 3 - лимфоцит

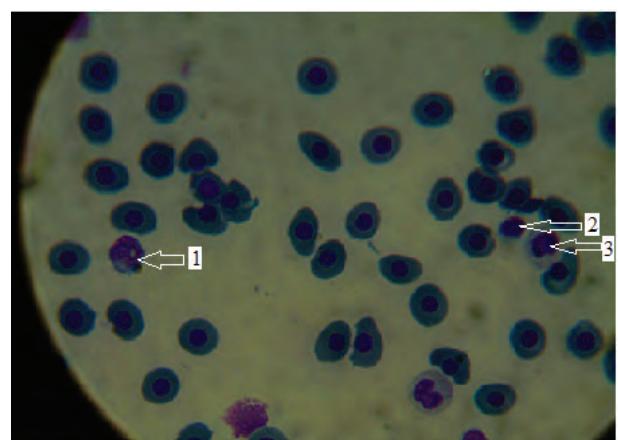
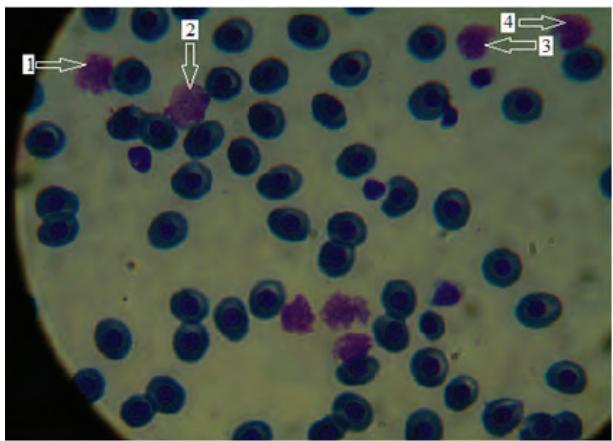
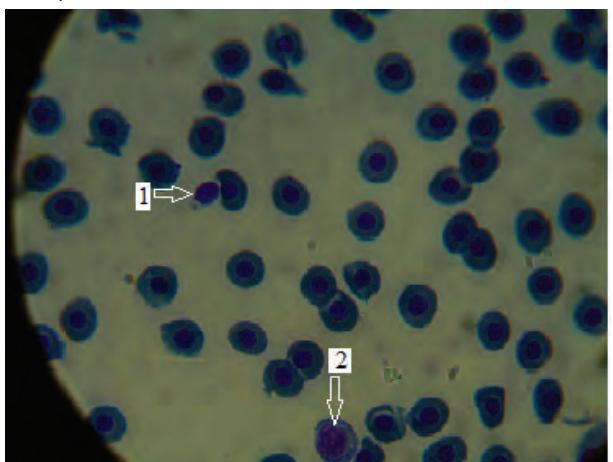


Рис. 4 - Мазок крови клариевого сома:

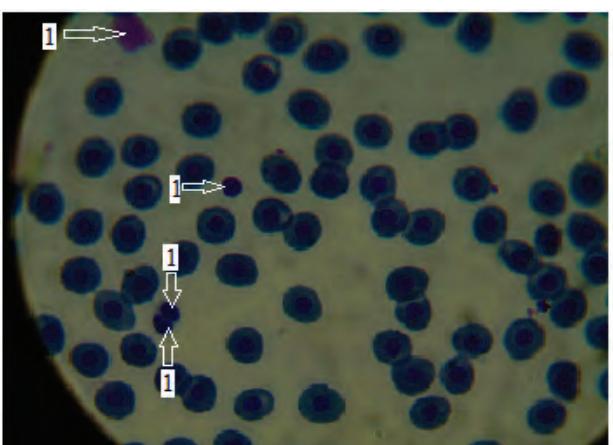
1 – полиморфноядерный базофил; 2 – лимфоцит; 3 - моноцит



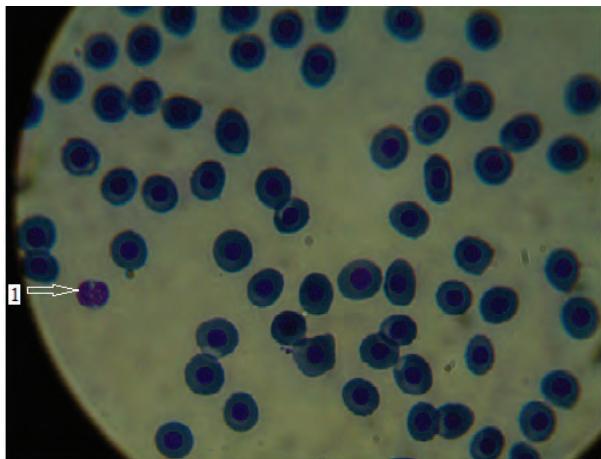
**Рис. 5 – Мазок крови клариевого сома:**  
1, 2, 3, 4 – полиморфноядерные метами-  
елоциты



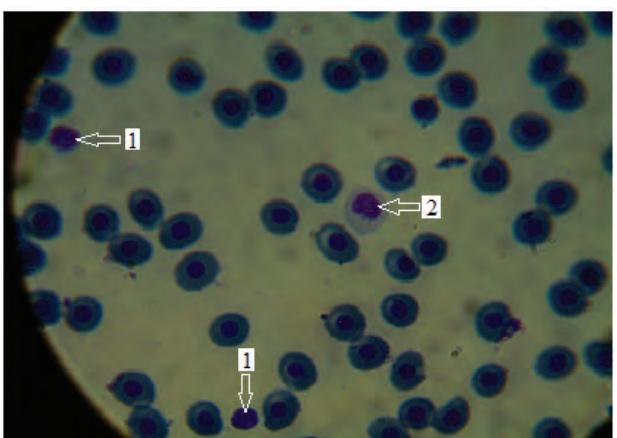
**Рис. 7 – Мазок крови клариевого сома:**  
1 – лимфоцит; 2 – полиморфноядерный  
базофил



**Рис. 9 – Мазок крови клариевого сома:** 1 – лимфоциты



**Рис 6 - Мазок крови клариевого сома:** 1 –  
нейтрофил сегментоядерный



**Рис. 8 – Мазок крови клариевого сома:** 1 –  
лимфоцит; 2 - моноцит

лейкоцитов в лейкограмме.

Поэтому в своих исследованиях мы обес-  
печивали температурный оптимум. В лейко-  
граммме из гранулоцитов больший процент при-  
ходился на нейтрофилы и псевдоэозинофилы.

Необходимо отметить, что по нашим  
наблюдениям стабилизация лейкоцитарной  
формулы гибридных форм африканского кла-  
риевого сома стабилизируется уже на первом  
году жизни, после этого морфология различных  
групп лейкоцитов остается неизменной и не за-  
висит от возраста рыбы.

#### Выводы

В ходе исследований было установлено,  
что сом – типичный представитель лейкоформу-  
лы лимфоидного типа. В лейкоформуле популя-  
ции сомов, выращенных в отсутствии пробио-  
тика, на долю лимфоцитов приходилось около  
78,33 %. У рыб, выращенных в присутствии про-  
биотика, количество лимфоцитов на 4,5% выше.  
Рыба, выращенная в среде с пробиотиком, на

протяжении всего периода выращивания ничем не болела. Можно предполагать, что у рыб, потребляющих пробиотик, часть защитной функции организма выполняют анаэробные бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, подавляющие широкий спектр грамположительных и грамотрицательных бактерий. На фоне пробиотика возросла также доля полиморфноядерных форменных элементов за счет снижения доли моноцитов и нейтрофилов. Пробиотики противодействуют развитию патогенной и условно-патогенной микробиоты, позитивно воздействуют на организм, оптимизируя его микробиоценоз. Они являются альтернативой антибиотикам и безопасны для человека. Назначение пробиотика «Споротермин» заключается в повышении иммунитета, снижении риска заболеваний и в оздоровлении организма рыб. Африканский клариевый сом, выращенный в среде с пробиотиком, является продуктом здорового питания, содержащим жизненно необходимые организму человека компоненты.

#### **Библиографический список**

1. Анализ современного состояния товарной аквакультуры / А.Б. Алиев, Б.И. Шихшабекова, А.Д. Гусейнов, И.В. Мусаева, Е.М. Алиева, А.Р. Шихшабеков // Проблемы развития АПК региона. - 2017.- Том 3, №3(31).- С. 102-106.
2. Инновационные технологии производства продуктов функционального назначения в индустриальной аквакультуре / Е.М. Романова, В.В. Романов, В.Н. Любомирова, М.Э. Мухитова, Л.А. Шадыева, Т.М. Шленкина, И.С. Галушко // Рыбоводство и рыбное хозяйство. - 2018. - № 5 (148). - С. 54-59.
3. Сравнительные исследования роста и развития популяций африканского клариевого сома, разведенных в разные сезоны / М.Э. Мухитова, Е.М. Романова, В.Н. Любомирова, В.В. Романов. // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.- 2018. - Том 42, № 2. - С. 193-198.
4. Пронина, Галина Иозеповна. Физиологические и иммунологические оценки культивируемых гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков: автореф. дис. ... д-ра биологических наук : 03.03.01 / Г.И.Пронина. - М.: РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева, 2012.- 36 с.
5. Использование кормовых добавок «Споротермин» и «Ковелос» в рационах молодняка сельскохозяйственных животных / Н.А. Юрина, З.В. Псхациева, С.И. Кононенко, Н.Н. Есауленко, В.В. Ерохин, В.А. Баранников // Современные технологии сельскохозяйственного производства и приоритетные направления развития аграрной науки. Материалы международной научно-практической конференции. В 4-х томах. - 2014. - С. 263 - 264.
6. Biology of reproduction of catfish (*Clarias gariepinus*, burchell, 1822) in high-tech industrial aquaculture / Е.М. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov, M.E. Mukhitova, T.M. Shlenkina, L.A. Shadyeva, I.S. Galushko // Journal of Fundamental and Applied Sciences.-2018.- Tom 10, № 5S.- С. 1116-1129.
7. Пробиотики в аквакультуре / Е.А. Котова, Н.А. Пышманцева, Д.В. Осепчук, А.А. Пышманцева, Л.Н. Тхакушинова // Сборник научных трудов Всероссийского научно – исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2012. – Том 3, № 1-1. – С 100-103.
8. Иванова, Н.Т. Атлас клеток крови рыб / Н.Т. Иванова. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982.- 184с.
9. Федоненко, Е.В. Особенности лейкоцитарной формулы у некоторых карповых рыб Запорожского Водохранилища (Украина) / Е.В. Федоненко, Т.С. Шарамок, Т.В. Ананьева // Труды ВНИРО.- 2017. - Том 167. - С. 59-65.
10. Применение интегральных показателей структуры лейкоцитов для изучения реакции иммунной системы рыб на токсианты / В.Р. Микряков, В.Г. Терещенко, Д.В. Микряков, Л.В. Балабанов // Биология внутренних вод. -2002.- №4.- С. 84-88.
11. Морфологические особенности кровяных клеток европейского окуня (*Perca fluviatilis*) в искусственных условиях / Нгуен Тхи Хонг Ван, С.В. Пономарев, Ю.В. Федоровых, Б.У. Дорджиев // Вестник астраханского государственного технического университета. Серия « Рыбное хозяйство». -2017. - №3. - С. 106-112.
12. Анализ лейкограммы осетровых рыб (*Acipenser baerii* (brandt) и *A. gueldenstaedtii* (brandt)), выращенных в искусственных водоемах / Н.М. Абдуллаева, М.М. Габибов, П.А. Асадулаева, М.Г. Рамазанова // Биология внутренних вод. -2015.- №4.- С. 92.
13. Микряков, В.Р. Реакция лейкоцитов стерляди *Acipenser ruthenus* на гормониндуцируемый стресс / В.Р. Микряков, Л.В. Балабанова, Д.В. Микряков // Вопросы ихтиологии.- 2009.- Том 49, №4. - С. 554-557.
14. Яхненко, В.М. Особенности состава и структуры клеток крови рыб пелагиали и прибрежья озера Байкал / В.М. Яхненко, И.В. Клименков // Известия Российской академии наук. Серия биологическая.- 2009.-№1.- С. 46-54.

**EFFECT OF PROBIOTICS ON THE LEUCOGRAM  
OF AFRICAN SHARPTOOOTH CATFISH  
IN THE CONDITIONS OF INDUSTRIAL AQUACULTURES**

**Shlenkina T.M., Romanova E.M., Mukhitova M.E.  
FSBEI HE Ulyanovsk SAU**

**432017, Ulyanovsk, Novyi Venets Boulevard, 1; tel.: 8 (8422) 55-23-75; e-mail: t-shlenkina@yandex.ru**

**Key words:** aquaculture, African catfish, probiotics, Sporothermin, immunity, leucogram.

The article deals with the problem of using the probiotic Sporothermin when breeding African catfish. In particular, the effect of probiotics on the quantitative and qualitative composition of white blood cells is being studied. The problem of probiotics influence on composition of leucogram is relevant, since the cells of the white blood row are responsible for the immune defense of the body. The working hypothesis was based on the fact that probiotics improve the microbiocenosis of fish habitats, have a positive effect on the immune system of fish. The aim of the research was to investigate the effect of probiotic Sporothermin on blood cells of fish that are responsible for immunity. The percentage correlation of various types of leukocytes in the leucoformula reflects the physiological state of fish organism and their cellular immunity. In the course of research, it was established that catfish is a typical representative of the lymphoid type of leukoformula. The proportion of lymphocytes accounted to about 78.33% in the leukoformula of the catfish population bred without probiotics. The number of lymphocytes is 4.5% higher among fish bred with probiotics. The population of fish bred in the environment with probiotics did not have any diseases during the entire breeding period. It can be assumed that among fish receiving probiotics, anaerobic bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* perform part of the body's protective function, suppressing a wide range of gram-positive and gram-negative bacteria. In case of application of probiotics, the proportion of polymorphonuclear form elements has also increased due to a decrease in the proportion of monocytes and neutrophils. Probiotics are pathogenic and conditionally pathogenic microbiota, have a positive effect on the body, improving its microbiocenosis, and are an alternative to antibiotics. Unlike antibiotics, probiotics are safe for humans. Live and fresh fish bred with probiotics is a healthy product for people, containing vital components for human body.

**Bibliography**

1. Analysis of the current state of commercial aquaculture / A. B. Aliyev, B.I. Shikhshabekova, A.D. Khuseynov, I.V. Musaeva, E.M. Aliyev, A.R. Shikhshabekov // Problems of development of the agroindustrial complex of the region. - 2017. - Volume 3, No. 3 (31). - P. 102-106.
2. Innovative technologies for production of functional products in industrial aquaculture / E.M. Romanova, V.V. Romanov, V.N. Lyubomirova, M.E. Mukhitova, L.A. Shadyeva, T.M. Shlenkina, I.S. Galushko // Fish farming and fisheries. - 2018. - № 5 (148). - P. 54-59.
3. Comparative studies of growth and development of populations of the African catfish reproduced in different seasons / M.E. Mukhitova, E.M. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov. // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2018. - Volume 42, No. 2. - P. 193-198.
4. Pronin, Galina Iozepovna. Physiological and immunological assessment of bred hydrobionts: carp, common catfish, crayfish: author's abstract of dissertation of Doctor of Biological Sciences: 03.03.01 / G.I.Pronin. - M.: RSAU Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, 2012.- 36 p.
5. Usage of feed additives «Sporothermin» and «Kovelos» in the diets of young farm animals / N.A. Yurina, Z.V. Pskhatsieva, S.I. Kononenko, N.N. Esaulenko, V.V. Erokhin, V.A. Barannikov // Modern technologies of agricultural production and priority directions of development of agrarian science. Materials of the international scientific-practical conference. In 4 volumes. - 2014. - P. 263 - 264.
6. Biology of reproduction of catfish (*Clarias gariepinus*, burchell, 1822) in high-tech industrial aquaculture / E.M. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov, M.E. Mukhitova, T.M. Shlenkina, L.A. Shadyeva, I.S. Galushko // Journal of Fundamental and Applied Sciences. - 2018. - Vol 10, № 55. - P. 1116-1129
7. Probiotics in aquaculture / E.A. Kotova, N.A. Pyshmantseva, D.V. Osepchuk, A.A. Pyshmantseva, L.N. Tkachukhinova // Collection of Scientific Works of the All-Russian Research Institute for Sheep and Goat Breeding. - 2012. - Volume 3, No. 1-1. - P. 100-103.
8. Ivanova, N.T. Atlas of fish blood cells / N.T. Ivanova. - M.: Light and food industry, 1982.- 184p.
9. Fedonenko, E.V. Features of the leukocyte formula in some carp fish of the Zaporozye Reservoir (Ukraine) / E.V. Fedonenko, T.S Sharamok, T.V. Ananyeva // Scientific works of All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography. - 2017. - Volume 167. - P. 59-65.
10. The application of integral parameters of leukocyte structure to study the response of the immune system of fish to toxicants / V.R. Mikryakov, V.G. Tereshchenko, D.V. Mikryakov, L.V. Balabanov // Biology of inland waters. - 2002. - №4. - P. 84-88.
11. Morphological features of blood cells of the European perch (*Perca fluviatilis*) bred in artificial conditions / Nguyen Thi Hong Van, S.V. Ponomarev, Yu.V. Fedorov, B.U. Dordzhiev // Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series «Fisheries». - 2017. - Number 3. - P. 106-112.
12. Analysis of sturgeon leukogram (*Acipenser baerii* (brandt) and *A. gueldenstaedtii* (brandt)) bred in artificial ponds / N. M. Abdullaeva, M.M. Gabibov, P.A. Asadulaeva, M.G. Ramazanova // Biology of inland waters. - 2015. - №4. - P. 92.
13. Mikryakov, V.R. The reaction of leukocytes of *Acipenser ruthenus* sterlet to hormone-induced stress / V.R. Mikryakov, L.V. Balabanova, D.V. Mikryakov // Issues of ichthyology. - 2009. - Vol. 49, No. 4. - P. 554-557.
14. Yakhnenko, V.M. Peculiarities of the composition and structure of blood cells of pelagic fish at the coast of Lake Baikal / V.M. Yakhnenko, I.V. Klimenkov // Izvestiya of the Russian Academy of Sciences. Biological series. - 2009. - №1. - P. 46-54.