

ЗООТЕХНИЯ

УДК:639.3.0.34:535.21

ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ, ТЕМП ВЫКЛЕВА И ЛИЧИНОЧНЫЙ РОСТ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ПРИ ДОИНКУБАЦИИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Е. С. ГУК*УО «Полесский государственный университет»
г. Пинск, Беларусь, 225710***Н. В. БАРУЛИН***УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Беларусь, 213407**(Поступила в редакцию 05.03.2018)*

Присутствие нитратов – продуктов азотного цикла в УЗВ, как и все параметры гидрохимического режима, оказывает влияние на физиологический статус рыб и предопределяет эффективность технологического процесса в целом. Вызывает интерес исследование эффектов нитратов на ранних стадиях онтогенеза, когда личинки особенно «уязвимы» и остро реагируют на экологические факторы. Цель исследования заключалась в изучении токсического влияния нитратов на темп выклева, среднюю длину, выживаемость эмбрионов и личинок радужной форели при доинкубации *in vitro*. Доинкубация икры проходила в холодильниках в условиях *in vitro*. Доинкубация эмбрионов проходила в воде с присутствием нитратов в концентрациях 1, 5, 10, 20, 40, 80, 300 и 1000 мг/л или без добавления нитратов (контрольная группа). Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что присутствие нитратов в воде при доинкубации икры снижает выживаемость радужной форели, причем наибольшим отрицательным воздействием на эмбрионы и личинки характеризуются концентрации 1 мг/л, 10 мг/л, 300 мг/л. При концентрациях нитратов 20 мг/л и 40 мг/л токсические эффекты неярко выражены и выживаемость снижается незначительно. По совокупности влияния на исследуемые признаки, установлено что хронические эффекты нитратов в основном проявляются в снижении выживаемости личинок радужной форели при доинкубации в условиях *in vitro*, что является предпосылкой для дальнейших исследований токсических эффектов нитратов в условиях производства.

Ключевые слова: концентрация нитратов, радужная форель, личиночный рост, *in vitro*.

The presence of nitrates, as products of nitrogen cycle in Recirculating aquaculture system, like all parameters of hydrochemical regime, affects the physiological status of fish and determines the efficiency of technological process as a whole. It is of interest to study the effects of nitrates in the early stages of ontogenesis, when the larvae are especially "vulnerable" and acutely responsive to environmental factors. The aim of research was to study the toxic effect of nitrates on the rate of hatching, the average length, survival of embryos and larvae of rainbow trout during preincubation in vitro. Pre-incubation of eggs was carried out in refrigerators under in vitro conditions. Preincubation of embryos took place in water with the presence of nitrates at concentrations of 1, 5, 10, 20, 40, 80, 300 and 1000 mg / l or without the addition of nitrates (control group). The obtained data allow us to conclude that the presence of nitrates in water during pre-incubation of eggs reduces the survival rate of rainbow trout, the concentrations of 1 mg / l, 10 mg / l, 300 mg / l having the most negative impact on embryos and larvae. At concentrations of nitrates of 20 mg / l and 40 mg / l, toxic effects are not pronounced and survival rate is reduced slightly. On the basis of combined influence on the studied indicators, we have established that the chronic effects of nitrates are mainly manifested in a decrease in the survival rate of rainbow trout larvae in pre-incubation in vitro, which is a prerequisite for further studies of the toxic effects of nitrates under production conditions.

Key words: nitrate concentration, rainbow trout, larval growth, *in vitro*.

Введение

Государственной программой развития аграрного бизнеса на 2016–2020 годы предусмотрено значительно увеличение объемов выращивания товарной рыбы, в том числе и за счет увеличения доли ценных видов рыб в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) на базе рыбоводных промышленных комплексов [16]. Лимитированное количество водных ресурсов способствует широкому применению рециркуляционных систем в аквакультуре. При небольших затратах воды они позволяют получать значительное количество товарной продукции. В последнее время все больше исследователей уделяет внимание негативным эффектам аккумулирующихся в УЗВ метаболитов [1–3, 21]. Присутствие нитратов–продуктов азотного цикла в УЗВ, как и все параметры гидрохимического режима, оказывает влияние на физиологический статус рыб и предопределяет эффективность технологического процесса в целом. Подверженность токсическому влиянию нитратов зависит от возраста, массы, иммунитета рыб, силы воздействия других стресс-факторов гидрохимического режима. Для взрослых рыб допустимы и относительно высокие концентрации нитратов [4]. Вызывает интерес исследование эффектов нитратов на ранних стадиях онтогенеза, когда личинки особенно «уязвимы» и остро реагируют на

экологические факторы. Известно, что эмбрионы рыб являются удобным тест объектом для оценки влияния различных факторов на физиологические процессы на организменном уровне [17–20].

По результатам некоторых исследований [5], установлена хроническая токсичность больших концентраций нитратов (менее 200 мг/л) для икринок и личинок лососевых. Отмечено, что острая, хроническая и сублетальная токсичность зависят от стадии жизненного цикла [6]. В ранних исследованиях по токсикологии нитратов на лососевых, установлена 96-часовая полумлетальная концентрация (LC50) 1364 мг/л NO₃-N и 1068 мг/л при 7-дневном выдерживании, при этом Westin (1974) в качестве оптимума рекомендовал концентрацию 5,7 мг/л. Предельно допустимая концентрация с хроническим эффектом указана как 57 мг/л [7]. Позже многие исследователи указывали на необходимость постоянного мониторинга концентрации нитратов в УЗВ при выращивании других видов рыб: карпа, сибирского осетра, гибрида полосатого окуня [8]. Согласно результатам последних исследований [9, 10], при культивировании как пресноводных, так и морских видов рыб, из рециркуляционной системы рекомендовано удалять нитраты.

В исследованиях Davidson (2014) установлена взаимосвязь содержания нитратов в воде в пределах 80–100 мг/л с аномальным поведением лососевых: потерей контроля над плавучестью – «бокoplав», с высокой подвижностью рыб, которая отнимает энергетический ресурс и существенно ослабляет рыб. Также установлено, что концентрация нитратов 91 мг/л существенно снижает среднюю выживаемость молоди радужной форели [11]. Совместно с другими хроническими стресс-факторами нитраты способствуют снижению иммунитета культивируемых рыб [12].

Цель исследования – изучить токсическое влияние нитратов на темп выклева, среднюю длину, выживаемость эмбрионов и личинок радужной форели при доинкубации *in vitro*.

Основная часть

Объект исследования – эмбрионы радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) (икра на стадии «глазка»). Доинкубация икры проходила в холодильниках в условиях *in vitro*. Доинкубация эмбрионов проходила в воде с присутствием нитратов в концентрациях 1, 5, 10, 20, 40, 80, 300 и 1000 мг/л или без добавления нитратов (контрольная группа). Нитраты вводились в раствор посредством соли NaNO₃. Растворы готовились ежедневно и по значениям температуры, pH, содержанию кислорода соответствовали контрольной группе. На постоянном уровне поддерживались температура (10 °C), pH (7,6), содержание кислорода и другие параметры гидрохимического режима. Также во время инкубации эмбрионам было обеспечено полное отсутствие света. Количество эмбрионов – по 3 в контейнере в восьмикратной повторности для каждой опытной группы. Во время доинкубации происходила ежедневная смена воды для поддержания режима проточности. Анализируемые на протяжении эксперимента признаки – темп выклева, средняя длина, выживаемость (средняя, декадная, индивидуальная).

Коэффициент синхронности выклева (Tz) определялся как разность между временем достижения 90 (T₉₀) и десятипроцентного выклева (T₁₀) соответственно [13]. Скорость резорбции желточного мешка определялась как соотношение длины желточного мешка к свободной длине предличинки. Показатели длины получали в результате обработки фотоснимков свободных эмбрионов в программе ImageJ. Измерение длины осуществляли каждые 3 дня на протяжении эксперимента.

Анализ полученных данных проводился в статистической среде R. Нормальность распределения данных подтверждена тестом Шапиро-Уилка. Проверка соблюдения условий однородности групповых дисперсий в выборках осуществлялась тестом Ливина. Для анализа различий между опытными группами использовался одномерный дисперсионный анализ – критерий Тьюки.

Анализ выживаемости. Статистический анализ выживаемости в исследуемых группах проводился по методу Каплан-Майера: анализ индивидуальной выживаемости осуществлялся с помощью AFT-модели с использованием регрессии Вейбулла. Декадная выживаемость оценивалась с помощью функции GLM-модели. Моделирование выживаемости проводилось в статистической среде R [14, 15].

Темп выклева. Результаты по оценке темпа выклева в опытных и контрольной группе представлены в табл. 1. Включение нитратов в состав воды при доинкубации не только не оказывало угнетающего эффекта на темп выклева, но и в определенных дозировках (20, 40 и 80 мг/л) стимулировало его. Различия достоверны на уровне значимости p=0,001.

Таблица 1. Показатели темпа выклева эмбрионов радужной форели при доинкубации в растворах нитратов различной концентрации в условиях *in vitro*

Параметр	Опытные группы								
	1 мг/л	5 мг/л	10 мг/л	20 мг/л	40 мг/л	80 мг/л	300 мг/л	1000 мг/л	Контроль
День начала первого выклева	9	9	9	10	9	11	10	10	9
День начала массового выклева	16	15	15	17	17	15	16	15	16

T10	9	9	9	10	9	11	10	10	10
T90	13	13	13	13	13	13	16	15	15
Tz	4	4	4	3	3	2	6	5	5

Согласно данным, приведенным в табл. 1, единичный выклев раньше всего начался в контрольной и в группах 1 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 40 мг/л. Однако массовый выклев происходил быстрее в группах 5 мг/л, 10 мг/л, 80 мг/л, 1000 мг/л. Самое низкое значение коэффициента синхронности выклева (Tz) – важного производственного показателя отмечено в опытных группах 80 мг/л – 2, и в группах 20 мг/л и 40 мг/л – 3. В контрольной группе значение коэффициента синхронности выклева (Tz) составило 5. Это значит, что при концентрации нитратов 80 мг/л массовый синхронный выклев предличинкок произошел в 2,5 раза быстрее, чем в контрольной группе. В концентрации 300 мг/л значение коэффициента синхронности выклева (Tz) было максимальным – 6.

Средняя длина. Исходя из полученных данных, присутствие нитратов в воде не оказывает статистически значимого влияния на изменение значения средней длины личинок радужной форели. Значения средней длины личинок радужной форели при доинкубации в растворах нитратов различной концентрации представлены в табл. 2.

Таблица 2. Средняя длина личинок радужной форели при доинкубации в растворах нитратов различной концентрации в условиях *in vitro*

Опытная группа	Средняя длина, мм	Коэффициент вариации, %	n	Тест Шапиро-Уилка	Тест Ливина	Тест Тьюки
1 мг/л	23,75±1,62	0,47	12	p>0,05	p>0,05	p>0,05
5 мг/л	23,49±1,27	0,35	13			p>0,05
10 мг/л	21,65±2,09	0,58	13			p>0,05
20 мг /л	23,53±1,76	0,42	17			p>0,05
40 мг/л	24,68±1,89	0,40	22			p>0,05
80 мг/л	22,84±1,82	0,38	23			p>0,05
300 мг/л	22,45±2,09	0,54	15			p>0,05
1000 мг/л	23,56±1,31	0,35	14			p>0,05
Контроль	24,19±1,80	0,43	17			p>0,05

Как видно из табл. 2, в большинстве опытных групп значение средней длины личинок было меньше, чем в контроле. Разница в значении средней длины между контролем и этими группами варьировала от 0,63 мм до 2,54 мм, и составила: в группе 1 мг/л – 23,75±1,62 мм, в группе 5 мг/л – 23,49±1,27 мм, в группе 10 мг/л – 21,65±2,09 мм, в группе 20 мг/л – 23,53±1,76 мм, в группе 40 мг/л – 24,68±1,89 мм в группе 80 мг/л – 22,84±1,82, в группе 300 мг/л – 22,45±2,09 мм, в группе 1000 мг/л – 23,56±1,31 мм. В контрольной группе значение средней длины составило 24,19±1,80 мм. На 2,03% выше, чем в контроле было значение средней длины при концентрации нитратов 40 мг/л, оно составило 24,68±1,89 мм. Как было сказано выше, различия между группами статистически недостоверны.

Средняя выживаемость. Установлено, что присутствие нитратов в широком диапазоне концентраций при доинкубации *in vitro* снижает выживаемость личинок радужной форели (в условиях голодания). Значения средней выживаемости в исследуемых группах представлены на рисунке 1. и составили: 1 мг/л – 52,2 %, 5 мг/л – 79,4 %, 10 мг/л – 54,0 %, 20 мг/л – 71,7 %, 40 мг/л – 82,4 %, 80 мг/л – 77,1 %, 300 мг/л – 80,3 %, 1000 мг/л – 82,3 %, в контрольной – 85,6 %. Различия статистически достоверны для групп 1 мг/л и 10 мг/л (на рис. 1 отмечены *).



Рис 1. Средняя выживаемость личинок радужной форели при доинкубации в различных концентрациях нитратов в условиях *in vitro*

Средняя выживаемость не позволяет установить индивидуальное проявление выживаемости в течение периода наблюдений [14]. Для более объективного анализа была изучена индивидуальная и декадная выживаемость в течение эксперимента.

Оценка индивидуальной выживаемости. Для определения влияния различных концентраций нитратов на время жизни личинок форели применялись модели ускоренного времени AFT (Accelerated failure-time models) с использованием четырех видов распределений: экспоненциального, Вейбулла, логнормального и логарифмически логистического распределений (табл. 3).

Таблица 3. Значения логарифма правдоподобия (logLic), полученные в результате тестирования моделей AFT для оценки выживаемости личинок форели при различных концентрациях нитратов

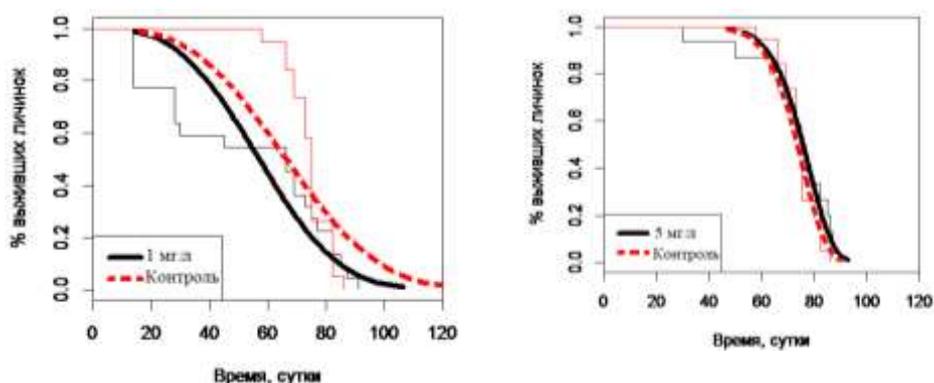
Модель	Логарифм правдоподобия							
	Сравнение 1 мг/л/ контроль	Сравнение 5 мг/л/ контроль	Сравнение 10мг/л/ контроль	Сравнение 20мг/л/ контроль	Сравнение 40мг/л/ контроль	Сравнение 80мг/л/ контроль	Сравнение 300 мг/л/ контроль	Сравнение 1000 мг/л/ контроль
Экспоненциальная	-189,34	-180,02	-211,17	-192,44	-218,10	-227,88	-196,52	-200,26
Вейбулла	-132,15	-125,97	-181,53	-135,40	-141,04	-157,05	-152,44	-132,20
Логнормальная	-146,03	-137,43	-187,35	-136,44	-142,46	-174,80	-169,77	-146,96
Логарифмически логистическая	-154,24	-130,93	-187,96	-133,62	-143,60	-160	-162,27	-138,10

Наилучшая модель соответствовала максимуму оценки правдоподобия или минимуму значения информационного критерия Акаике (AIC).

Таблица 4. Значения информационного критерия Акаике (AIC), полученные в результате тестирования моделей AFT для оценки выживаемости личинок форели при различных концентрациях нитратов

Модель	Информационный критерий Акаике (AIC)							
	Сравнение 1 мг/л/ контроль	Сравнение 5 мг/л/ контроль	Сравнение 10мг/л/ контроль	Сравнение 20мг/л/ контроль	Сравнение 40мг/л/ контроль	Сравнение 80мг/л/ контроль	Сравнение 300 мг/л/ контроль	Сравнение 1000 мг/л/ контроль
Экспоненциальная	371,18	366,05	428,33	390,88	442,22	461,77	399,04	406,53
Вейбулла	287,02	259,94	371,06	278,80	290,07	322,11	312,88	272,40
Логнормальная	305,13	282,85	382,69	280,88	292,92	357,60	347,55	301,90
Логарифмически логистическая	307,09	269,87	383,92	275,24	295,19	329,56	322,54	284,20

Как видно из представленных на табл. 3 и 4 данных, практически для всех групп модель Вейбулла имеет минимальный AIC-критерий оценки правдоподобия из всех четырех протестированных моделей. На основании полученных результатов были построены модельные кривые функций выживания, полученные из распределения Вейбулла для каждого типа исследуемой концентрации нитратов, совмещены с кривыми Каплан-Майера (рис. 2).



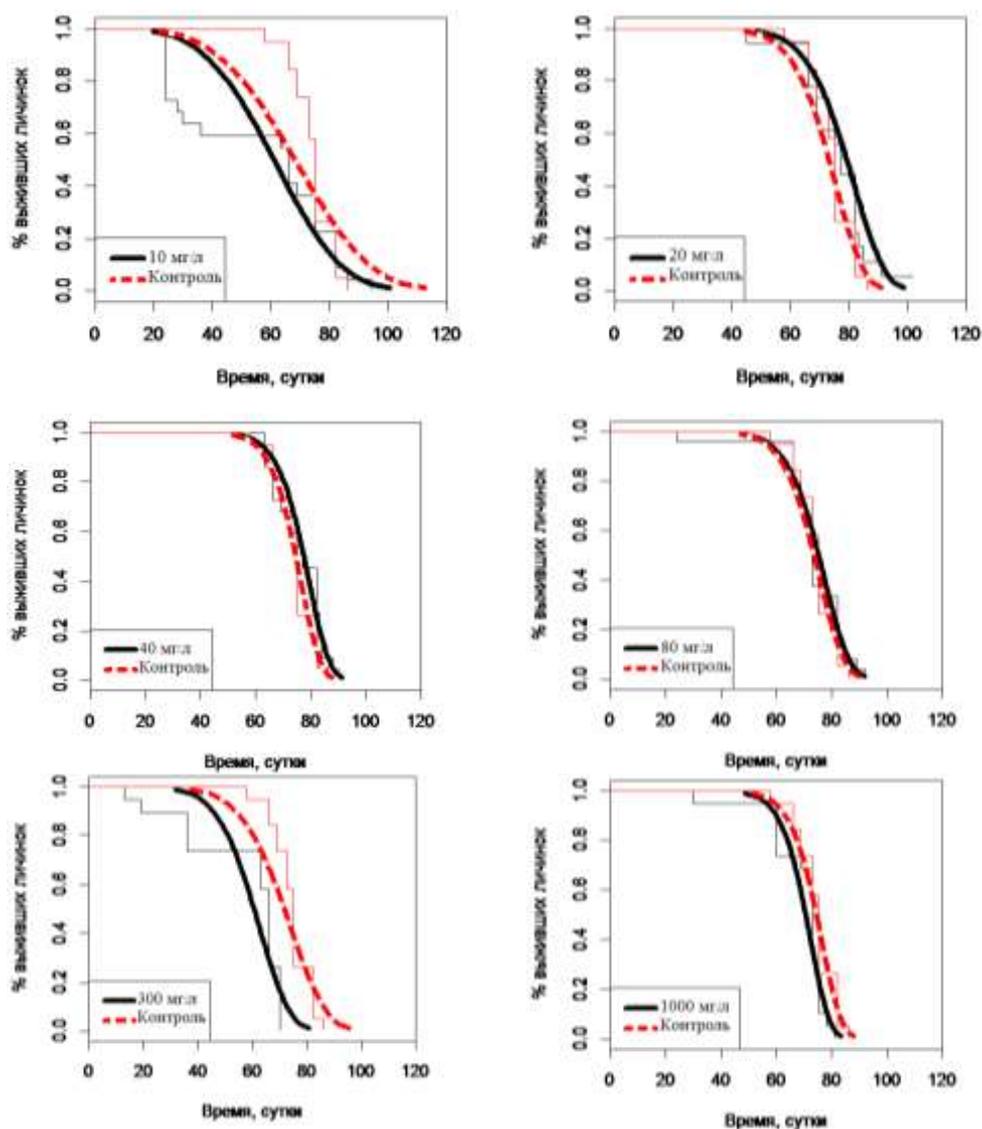


Рис. 2. Кривые выживаемости с различными концентрациями нитратов, построенные по методу Каплан-Майер и с использованием регрессии Вейбулла

Для концентраций 5 мг/л, 20 мг/л, 40 мг/л, 80 мг/л установлены значения индивидуальной выживаемости выше, чем в контрольной группе.

Тест по логранговому критерию показал, что различия статистически достоверны только для группы 300 мг/л.

Оценка декадной выживаемости. Для выбора типа функции GLM-модели мы сравнили между собой четыре возможные модели и оценили их по величине AIC-критерия (информационный критерий Акаике AIC (Akaike information criterion)). Лучшая модель соответствовала его минимуму [14,15]. Оценка адекватности по AIC-критерию показала, что использование логит-функции окажется несколько лучше, чем пробит-трансформация [14,15].

Для анализа влияния исследуемых концентраций аскорбиновой кислоты мы построили логит-модель для каждой исследуемой группы (рисунок 3). При этом мы получили коэффициенты индивидуальной регрессии для каждой исследуемой группы (таблица б), а также уравнения линейных логит-моделей и значения LD50 [14,15].

Для сравнения качества построенных моделей, использовали девианс статистику (deviance), непосредственно вытекающую из оценок метода максимального правдоподобия (MLE, maximum likelihood estimation) [14,15].

Статистическое сравнение на отличие от нуля разности девианса полученной логит-модели (модель №2) от девианса нуль-модели без предикторов (модель №1) с использованием функции `anova()` в статистической среде R показывает, что включение фактора нитратов в аппроксимируемую зависимость доза-эффект является высоко значимым в смысле уменьшения ошибки модели по критерию хи-квадрат (p -значение меньше 0,001).

При построении линии логит-регрессии с учетом коэффициента наклона для каждой исследуемой группы можно наблюдать имеющие различия в исследуемых группах. Максимальные значения коэффициента наклона отмечены для контрольной – 17,72, 40 мг/л – 16,82 и 20 мг/л – 10,02. В данных группах скорость нарастания эффекта была выше, о чем свидетельствуют более крутые линии логит-регрессии. Минимальные значения коэффициента наклона отмечены для концентраций 1 мг/л – 2,24, 10 мг/л – 3,17, 300 мг/л – 3,27.

Значения LD 50 минимальны были для групп 10 мг/л – 49,79 и 1 мг/л – 44,79. В группе 40 мг/л значение LD 50 было немного выше (75,69), чем в контроле (73,70). Как показал девианс-анализ, установленные различия были достоверными.

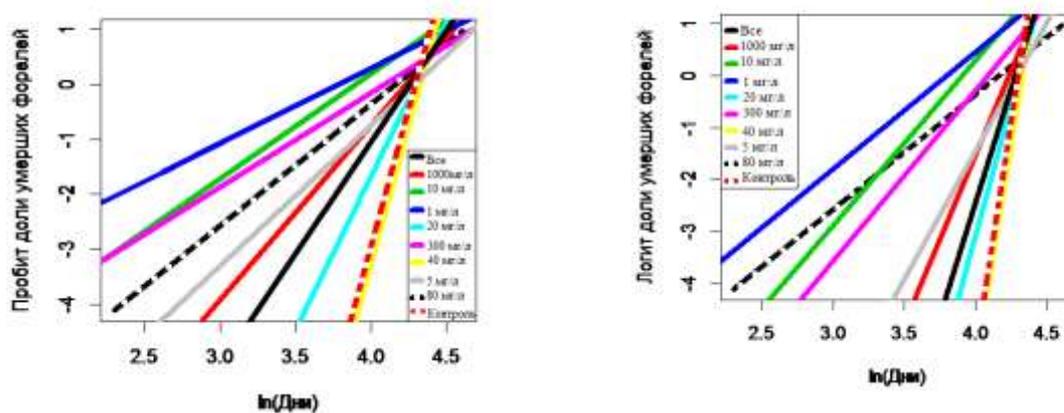


Рис. 3. Линейные зависимости доза-эффекта гибели личинок радужной форели *in vitro* от логарифма дней отсутствия корма для различных концентраций нитратов

Заключение. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что присутствие нитратов в воде при доинкубации икры снижает выживаемость радужной форели, причем наибольшим отрицательным воздействием на эмбрионы и личинки характеризуются концентрации 1 мг/л, 10 мг/л, 300 мг/л. При концентрациях нитратов 20 мг/л и 40 мг/л токсические эффекты не ярко выражены, и выживаемость снижается незначительно.

По совокупности влияния на исследуемые признаки, установлено что хронические эффекты нитратов в основном проявляются в снижении выживаемости личинок радужной форели при доинкубации в условиях *in vitro*, что является предпосылкой для дальнейших исследований токсических эффектов нитратов в условиях производства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Impact assessment of various rearing systems on fish health using multibiomarker response and metals accumulation / G. Deviller [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2005. – Vol. 61 (1). – P. 89–97. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.07.011.
2. Heavy metal and waste metabolite accumulation and their potential effect on rainbow trout performance in a replicated water reuse system operated at low or high flushing rates / J. Davidson [et al.] // *Aquaculture Engineering*. – 2009. – Vol. 41. – P. 136–145. doi.org/10.1016/j.aquaeng.2009.04.001.
3. Abnormal swimming behavior and increased deformities in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* cultured in low exchange water recirculating aquaculture systems / J. Davidson [et al.] // *Aquaculture Engineering*. – 2011a. – Vol. 45. – P. 109–117. doi.org/10.1016/j.aquaeng.2011.08.005.
4. Timmons, M.B. *Recirculating Aquaculture*, 2nd Edition. / Timmons, M.B. // NRAC Publication No. 01-002. Cayuga Aqua Ventures / J.M. Ebeling [et al.]; – Ithaca., 2002. – P. 948.
5. Acute and chronic toxicity of nitrate to early life stages of lake trout (*Salvelinus namaycush*) and lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) / M.D. McGurk [et al.] // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2006. – Vol. 25 (8). – P. 2187–2196. PMID: 16916038.
6. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates / J.A. Camargo [et al.] // *Chemosphere*. – 2005. – Vol. 58. – P. 1255–1267. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.044.
7. Westin, D.T. Nitrate and nitrite toxicity to salmonoid fishes / D.T. Westin // *North American Journal of Aquaculture*. – 1974. – Vol. 36. – P.86–89. doi.org/10.1577/1548-8659(1974)36[86:NANTTS]2.0.CO;2.
8. The accumulation of substances in Recirculating Aquaculture Systems (RAS) affects embryonic and larval development in common carp *Cyprinus carpio* / C.I.M. Martins [et al.] // *Aquaculture*. – 2009. – Vol. 291. – P. 65–73. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.03.001.
9. The impact of elevated water ammonia and nitrate concentrations on physiology, growth and feed intake of pike perch (*Sander lucioperca*) / E. Schram [et al.] // *Aquaculture*. – 2014. – Vol. 420-421. – P. 95–104. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.027.
10. The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*) / C.G.J. Van Bussel [et al.] // *Aquaculture*. – 2012. – Vol. 326–329. – P. 163–167. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.11.019.

11. Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems / J. Davidson [et al.] // Aquaculture Engineering. – 2014. – Vol. 59. – P. 30–40. doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.01.003.
12. Review of Recirculation Aquaculture System Technologies and their Commercial Application: Final Report / University of Stirling, Stirling Aquaculture Institute; F Murray [et al.] – Stirling, 2014. – p.82.
13. Литвиненко, Л. И. Определение оптимальных параметров инкубации цист артемии сибирских популяций / Л. И. Литвиненко, М. В. Гуженко // Рыбное хозяйство. – 2007. – №2. – С. 90-94.
14. Лиман, М. С. Влияние температуры воды на эффективность оптического излучения при воздействии на эмбрионы радужной форели в условиях *in vitro*. / М. С. Лиман, Н. В. Барулин // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник статей по материалам XX Международной научно-практической конференции, Гродно, 19, 11 мая 2017 / ГГАУ, 2017 – С 207–209.
15. Шитиков, В. К. Экотоксикология и статистическое моделирование эффекта с использованием R. / В. К. Шитиков – Тольятти: ИЭВБ РАН, 2016. – 149 с.
16. Барулин, Н. В. Системный подход к технологии регулирования воспроизводства объектов аквакультуры в рыбоводных индустриальных комплексах / Н. В. Барулин // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. (Серыя аграрных навук). – Мінск, 2015. – 3. – С. 107–111.
17. Барулин, Н. В. Жаброногий рачок *Artemia salina* L. как объект для исследования биологической активности оптического излучения низкой интенсивности / Н. В. Барулин, В. Ю. Плавский, В. А. Орлович // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2012. – № 28. – С. 42–49.
18. Барулин, Н. В. Лазерное излучение как важный элемент технологии аквакультуры / Н. В. Барулин, М. В. Шалак, В. Ю. Плавский // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2008. – № 3. – С. 82–85.
19. Плавский, В. Ю. Влияние лазерного излучения инфракрасной области спектра на устойчивость молоди осетровых рыб к дефициту кислорода / Н. В. Барулин, В. Ю. Плавский // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2008. – № 8–9. – С. 65–74.
20. Плавский, В. Ю. Влияние модуляции низкоинтенсивного лазерного излучения на его биологическую активность / Н. В. Барулин, В. Ю. Плавский // Лазерная медицина. – 2009. – Т. 13. – №. 1. – С. 4–10.
21. Barulin, N. V. Serum enzyme response of captive sturgeon brookstock *Acipenser baerii* Brandt 1869 females and two hybrids (beste= female *Huso huso* Linnaeus, 1758× male *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758, and RsSs= *A. gueldenstaedtii* Brandt 1833× *A. baerii* Brandt 1869) to hormonal stimulation for spawning induction / N. V. Barulin // Journal of Applied Ichthyology. – 2015. – Vol. 2 (31). – P. 2–6.