

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) ПРИ ИНКУБАЦИИ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Е. П. ЧЕКУН

УО «Полесский государственный университет»,
г. Пинск, Брестская обл., Республика Беларусь, 225710

Н. В. БАРУЛИН

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Республика Беларусь, 213407

(Поступила в редакцию 15.07.2020 г.)

Данная статья посвящена исследованию влияния 24-эпибрассинолида на темп выклева, рост и выживаемость радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) при инкубации в лабораторных условиях. Установлено, что использование растворов 24-эпибрассинолида положительно влияет на синхронизацию выклева радужной форели. Относительный прирост длины личинок радужной форели под влиянием фитогормональных стероидов увеличивается на 75,0–16,0 % в зависимости от дозировки. Максимальное значение средней выживаемости отмечено в группе 1×10^{-8} мг/л и составило 74,0 %, что на 18,7 % выше контрольного (55,3 %). По комплексу анализируемых признаков для производственных исследований отобраны концентрации 24-эпибрассинолида 1×10^{-8} мг/л и 1×10^{-7} мг/л, как проявившие наилучшие стимулирующие эффекты.

Ключевые слова: радужная форель, икра, выклев, рост, средняя длина, выживаемость, 24-эпибрассинолид, инкубация.

This article is devoted to the research of the effects of 24-epibrassinolide on the rate of hatching, growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during incubation under laboratory conditions. It has been found that the use of 24-epibrassinolide solutions positively affects the hatch synchronization of rainbow trout. Relative increase of standard length of rainbow trout fry under the influence of phytohormonal steroids increases by 75,0–16,0 % depending on concentration. The maximum value of survival was noted in the group 1×10^{-8} mg/l and amounted to 74,0 %, which is 18,7% higher than the control (55,3 %). According to the complex of analyzed features, concentrations of 24-epibrassinolide 1×10^{-8} mg/l and 1×10^{-7} mg/l were selected for production research as showing the best stimulating effects.

Key words: rainbow trout, egg, hatch rate, growth, standard length, survival, 24-epibrassinolide, incubation.

Введение

Роль аквакультуры в обеспечении населения продовольствием ежегодно увеличивается [1, 2]. Для обеспечения растущего спроса увеличиваются мощности и объемы производства продукции аквакультуры, совершенствуются технологии. При стремительной индустриализации рыбоводства, в процессе технологического выращивания гидробионты испытывают воздействие ряда стресс-факторов: высокие плотности посадки, скачки параметров гидрохимического режима, инфекции, манипуляции заводской технологии [3]. Все это, естественно, снижает выход рыбопродукции и влияет на её себестоимость. Для решения этих проблем в каждом направлении научной общественностью ведется исследовательская работа. Идет поиск и отбор эффективных факторов различной природы: биологической, химической, физической и т.п., которые способны существенно повысить эффективность технологии разведения определенного вида гидробионтов.

В Республике Беларусь в последнее десятилетие активно формируется новое направление аквакультуры – индустриальное форелеводство. Ключевыми задачами для рыбоводства страны согласно Государственной программе развития аграрного бизнеса в Республике Беларусь на 2016–2020 годы являются увеличение объемов производства ценных видов рыб и «применение экономически обоснованных инновационных технологий для разведения редких и ценных видов рыб» [4]. Решению этих задачи способствует применение новых биологически-активных веществ, являющимися регуляторами роста и иммуномодуляторами. К таким веществам относят относительно новый класс веществ – брассиностероиды.

Брассиностероиды – фитогормоны, впервые выделенные из пыльцы рапса (*Brassica napus* L.) в 1979 году в США [5]. Это относительно новый класс растительных гормонов, включает в себя более 60 веществ, обладающих высокой биологической активностью и не до конца изученными воздействиями. По химической структуре брассиностероиды относятся к «производным оксистероидов с лактонной группой в кольце». Брассиностероиды в физиологии растений играют важную роль так называемых адаптогенов. Они стимулируют иммунную систему растения и его рост при неблагоприятных условиях окружающей среды. Подтверждены положительные эффекты гормонов и на живот-

ных в направлениях: стимуляции ростовых и обменных процессов, иммуномодуляторов, повышения жизнестойкости молоди, улучшения качества половых продуктов [6, 7].

Иммуномодулирующие свойства эпибрассинолида проявлялись в эмбриогенезе осетровых и карповых в исследованиях М. А. Егорова [8] и Н. Kolman [9]. Выдерживание молоди осетровых средней навеской 40 г в растворе эпина (эпибрассинолид) концентрацией $0,1 \text{ мг/л} \times 10^{-1}$ приводило к увеличению в крови рыб концентраций неспецифических факторов иммунитета [9]. Имеются данные, что содержание эпибрассинолида в воде в присутствии токсикантов у молоди осетровых, карпа, толстолобика, карася, черноморского лосося, озерной лягушки и крыс способствовало быстрому формированию условных рефлексов, уменьшению негативных воздействий токсикантов (медь, фенол, детергент) на исследуемые организмы [8].

В экспериментах с карпом и белугой было обнаружено, что присутствие токсикантов (медь, фенолы) вызывает замедление транспорта нутриентов в кишечнике рыб. Использование эпибрассинолида позволило поддерживать уровни аккумуляции глюкозы и глицина на уровне, близком к контролю, то есть компенсировало воздействие токсикантов [11].

В аквакультуре радужной форели исследование воздействия этого класса веществ ранее не проводилось.

Цель исследования – исследовать влияние 24-эпибрассинолида на темп выклева, среднюю длину, выживаемость эмбрионов и личинок радужной форели при доинкубации в лабораторных условиях.

Основная часть

Объект исследования – эмбрионы радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) (икра на стадии «глазка»), доинкубация которых изначально проводилась в рыбопитомнике КПУП «Форелевое хозяйство «Лохва» (на момент проведения исследований – рыбопитомник УО «БГСХА», г.Горки), затем они были транспортированы в лабораторию Полесского государственного университета. Транспортировка осуществлялась в изотермических пенополистироловых контейнерах, с ярусами, пересыпанными чешуйчатым льдом. Температура при транспортировке была на уровне $7-9^\circ\text{C}$.

Для исследования использовали порошок 24-эпибрассинолида (эмпирическая формула $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_6$), полученный в результате химического синтеза в лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси. Эмбрионы однократно обрабатывались растворами 24-эпибрассинолида следующего концентрационного ряда: $1 \times 10^{-3} \text{ мг/л}$, $1 \times 10^{-4} \text{ мг/л}$, $1 \times 10^{-5} \text{ мг/л}$, $1 \times 10^{-6} \text{ мг/л}$, $1 \times 10^{-7} \text{ мг/л}$, $1 \times 10^{-8} \text{ мг/л}$ и $1 \times 10^{-9} \text{ мг/л}$. 24-эпибрассинолид растворяли в 1 мл 96 %-го этилового спирта, затем готовили растворы заданных концентраций. В предварительных экспериментах было установлено, что при однократной обработке в течение часа стимулирующее влияние вещества было слабовыраженным, а проведение ежедневных 15-минутных обработок неблагоприятно влияло на эмбриональное развитие. В данном эксперименте было принято решение: осуществить однократную обработку на протяжении 24 часов. Далее икру доинкубировали в пластиковых контейнерах объемом 1500 мл в холодильнике в лабораторных условиях. Количество эмбрионов – по 10 экземпляров в контейнере в трехкратной повторности. Во время инкубации происходила ежедневная 100 % подмена воды из центральной системы водоснабжения. Эмбрионам было обеспечено отсутствие источника света. На постоянном уровне поддерживалась температура ($9-11^\circ\text{C}$), содержание кислорода (7 мг/л), pH (7,6) и другие гидрохимические показатели. Содержание кислорода измерялось капельными экспресс-тестами «Tetra O₂» (Германия), значение pH – портативным pH метром Kellymeter PH-009(I) (Китай).

В течение эксперимента каждые 3 дня проводился мониторинг таких признаков, как темп выклева, средняя длина, выживаемость. Дополнительно проводился расчет абсолютного, среднесуточного приростов и относительной скорости роста.

Коэффициент синхронности выклева (Tz) определялся как разность между временем достижения 90 (T₉₀) и десятипроцентного выклева (T₁₀) [12]. Показатели длины получали в результате обработки фотоснимков свободных эмбрионов в программе ImageJ.

Относительную скорость роста определяли по следующей формуле [13]:

$$R = \frac{(v_2 - v_1)100 \%}{0,5(v_2 + v_1)}.$$

где R – относительная скорость роста; v_1 и v_2 – размер или масса рыбы в начальный и конечный периоды наблюдения соответственно.

Анализ полученных данных проводился в статистической среде R. Проверка нормальности распределения осуществлялась с помощью теста Шапиро-Уилка. Проверка соблюдения условий однородности групповых дисперсий в выборках проводилась с помощью теста Ливина. Для анализа различий между опытными группами использовался одномерный дисперсионный анализ – критерий Тьюки, в случае соблюдения условия нормальности и однородности дисперсий. Если в выборках не соблюдалось условие нормальности распределения, использовали непараметрический критерий Ньюмена-Кейлса [14].

В мониторинге эмбрионального развития ценных видов рыб исследование синхронизации выклева – времени от начала единичного выклева до окончания массового выклева, отводится важное значение [15]. Темп выклева при использовании 24-эпибрассинолида при инкубации икры радужной форели в лабораторных условиях представлен в табл. 1.

Таблица 1. Значение показателей наступления выклева предличинок радужной форели в эксперименте по использованию растворов 24-эпибрассинолида в различных концентрациях при доинкубации икры в лабораторных условиях (n=30)

Дозировка 24-Эб	День начала первого выклева	День начала массового выклева	T ₁₀	T ₉₀	Tz	Тест Шапиро-Уилка	Тест Ньюмена (для Tz)
1×10 ⁻³ мг/л	11	13	12	16	4	p < 0,05	p > 0,05
1×10 ⁻⁴ мг/л	12	16	14	19	5		p > 0,05
1×10 ⁻⁵ мг/л	11	15	13	18	5		p > 0,05
1×10 ⁻⁶ мг/л	9	15	11	14	3		p < 0,05
1×10 ⁻⁷ мг/л	11	14	11	13	2		p < 0,05
1×10 ⁻⁸ мг/л	11	17	12	13	1		p < 0,05
1×10 ⁻⁹ мг/л	11	17	12	13	1		p < 0,05
0 мг/л (контроль)	11	13	12	16	4		–

Примечание: 24-Эб – 24-эпибрассинолид, T₁₀ – период наступления выклева 10 % выборки, T₉₀ – период наступления выклева 90 % выборки, Tz – коэффициент синхронизации выклева.

Как видно из табл. 1, единичный выклев в большинстве опытных групп начался на 11-е сутки эксперимента. Раньше всего – на 9-й день эксперимента единичный выклев отмечен в опытной группе 1×10⁻⁶ мг/л. Позже всего – на 12-й в группе 1×10⁻⁴ мг/л. Начало массового выклева ранее всего наблюдалось на 13-е сутки в контрольной и группе 1×10⁻³ мг/л. В группах 1×10⁻⁸ мг/л и 1×10⁻⁹ мг/л он отмечен на 17-е сутки. Время выклева 10 % эмбрионов наблюдалось раньше в опытных группах 1×10⁻⁶ мг/л и 1×10⁻⁷ мг/л. Как видно в группе 1×10⁻⁷ мг/л в день начала первого выклева произошел выклев уже 10 % эмбрионов. Через 2–3 дня выклев 10 % выборки произошел и в остальных группах. Время выклева 90 % эмбрионов началось раньше в опытных группах 1×10⁻⁷ мг/л, 1×10⁻⁸ мг/л и 1×10⁻⁹ мг/л, а именно на 13 день. Через 3 дня 90 %-й выклев произошел в остальных группах, но в опытной группе 1×10⁻⁴ мг/л выклев был замечен только на 19 день, то есть через 6 дней после выклева в опытных группах 1×10⁻⁷ мг/л, 1×10⁻⁸ мг/л и 1×10⁻⁹ мг/л.

Таким образом, если сравнивать темп выклева радужной форели в опытных группах и контроле, то можно увидеть, что в растворе концентрацией 1×10⁻⁶ мг/л выклев произошел раньше. Если говорить о коэффициенте синхронизации выклева (Tz), то можно выделить 3 опытные группы: 1×10⁻⁷ мг/л, 1×10⁻⁸ мг/л и 1×10⁻⁹ мг/л, в которых коэффициент синхронизации выклева составил 2, 1 и 1 соответственно. В контроле же значение этого показателя составило 4, то есть в несколько раз больше. Наблюдаемые различия для показателя Tz по сравнению с контролем достоверны для вариантов опыта 1×10⁻⁶ мг/л, 1×10⁻⁷ мг/л, 1×10⁻⁸ мг/л, 1×10⁻⁹ мг/л (p < 0,05).

На основании полученных результатов установлено, что использование растворов 24-эпибрассинолида положительно влияет на синхронизацию выклева радужной форели.

На протяжении экспериментального периода значения средней длины предличинок и личинок во всех группах с применением 24-эпибрассинолида были выше по сравнению с контрольной группой. Наибольшими значениями средней длины отмечены группы 1×10⁻³ мг/л, 1×10⁻⁴ мг/л, 1×10⁻⁶ мг/л, 1×10⁻⁷ мг/л, 1×10⁻⁸ мг/л. На 57-е сутки после выклева во всех исследуемых группах отмечены максимальные значения средней длины и мониторинг был остановлен, т. к. в последующие сутки значения средней выживаемости в группах резко снизились, что обусловлено проведением экспериментального теста на жизнестойкость–голодание и закономерной гибелью личинок. Статистическое сравнение данного показателя в исследуемых группах представлено в табл. 2.

Таблица 2. Значения средней длины личинок в завершении эксперимента по использованию различных дозировок 24-эпибрассинолида при доинкубации икры радужной форели в лабораторных условиях (n=20)

Дозировка 24-Эб	Mean±SE, мм	CV, %	Тест Шапиро-Уилка	Тест Ливина	Тест Тьюки
1×10 ⁻³ мг/л	21,18±0,48	9	p > 0,05	p > 0,05	p>0,05
1×10 ⁻⁴ мг/л	20,82±0,49	11			p>0,05
1×10 ⁻⁵ мг/л	21,37±0,42	8			p>0,05
1×10 ⁻⁶ мг/л	21,41±0,56	12			p>0,05
1×10 ⁻⁷ мг/л	21,36±0,43	9			p>0,05
1×10 ⁻⁸ мг/л	22,28±0,41	9			p<0,05
1×10 ⁻⁹ мг/л	20,34±0,58	12			p>0,05
0 мг/л (контроль)	20,02±0,49	11			-

Примечание: 24-Эб – 24-эпибрассинолид, Mean – среднее значение длины, SE – стандартная ошибка среднего, CV – коэффициент вариации.

Согласно данным в табл. 2., на момент окончания эксперимента средние значения длины во всех группах были выше, чем в контроле. В контроле оно составило 20,02±0,49 мм. Максимальное значение средней длины – 22,28±0,41 мм наблюдалось в группе 1×10⁻⁸ мг/л, оно было статистически значимо выше контрольного на 2,26 мм (p<0,05). В других опытных группах среднестатистическое значение длины составило: в группе 1×10⁻³ мг/л – 21,18±0,48 мм, в группе 1×10⁻⁴ мг/л – 20,82±0,49 мм, в группе 1×10⁻⁵ мг/л – 21,37±0,42 мм, в группе 1×10⁻⁶ мг/л – 21,41±0,56 мм, в группе 1×10⁻⁷ мг/л – 21,36±0,43 мм и в группе 1×10⁻⁹ мг/л – 20,34±0,58 мм. В ходе исследования установлено стимулирующее влияние фитогормональных стероидов на линейный рост.

Значения общего прироста длины в исследуемых группах показаны на рис. 3.

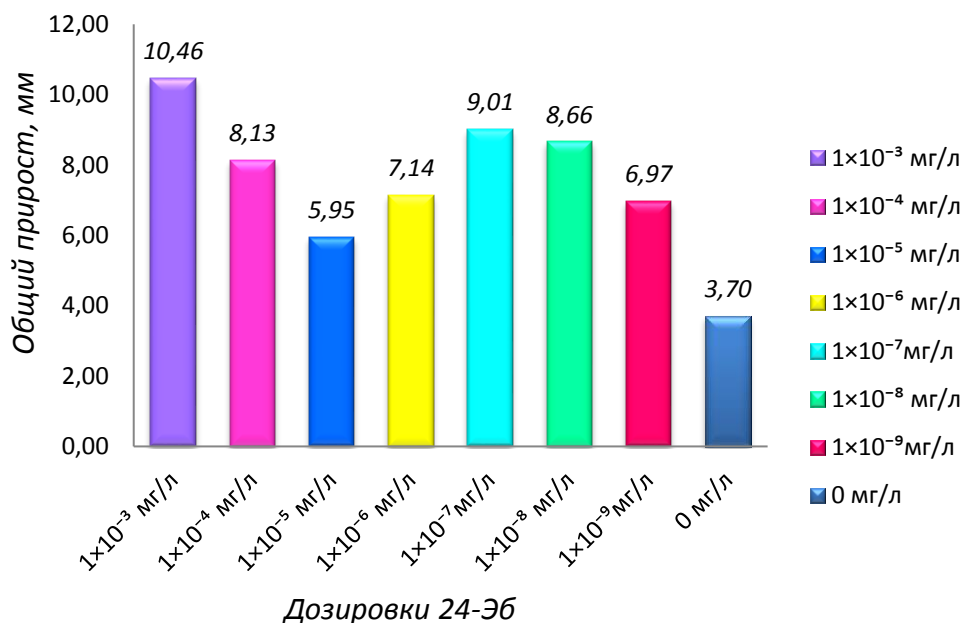


Рис. 1. Значения общего прироста длины личинок радужной форели в завершение эксперимента по использованию вариантов дозировок 24-эпибрассинолида на этапе доинкубации икры в лабораторных условиях

Примечание: 24-Эб – 24-эпибрассинолид.

Как видно из графика, значения общего прироста средней длины личинок во всех опытных группах установлены выше, чем в контрольной (0 мг/л). Максимальным значением характеризуется группа 1×10⁻³ мг/л, где показатель был в 2,8 раза выше, чем в контрольной группе и составил 10,46 мм. В контрольной значение абсолютного прироста было 3,70 мм. В группе 1×10⁻⁴ мг/л оно было в 2,2 раза выше и составило 8,13 мм, в группе 1×10⁻⁵ мг/л – 5,95 мм, что в 1,6 раз больше контрольного значения; в группе 1×10⁻⁶ мг/л – 7,14 мм, что в 1,9 раз выше контрольного; в группе 1×10⁻⁷ мг/л – 9,01 мм, это в 2,4 раза выше контроля; в группе 1×10⁻⁸ мг/л – 8,66 мм (в 2,34 раза выше контрольного), и в группе 1×10⁻⁹ мг/л – 6,97 мм, что в 1,8 раза выше показателя контрольной группы. Показатели линейного роста приведены в табл. 3.

Таблица 3. Значения приростов и относительной скорости линейного роста личинок радужной форели при исследовании различных дозировок 24-эпибрассинолида при доинкубации икры в лабораторных условиях

Дозировка 24-Эб	Абсолютный прирост, мм	Среднесуточный прирост, мм	Относительный прирост, %	Относительная скорость роста, %
1×10^{-3} мг/л	10,46	0,18	97,6	65,6
1×10^{-4} мг/л	8,13	0,14	64,1	48,5
1×10^{-5} мг/л	5,95	0,10	38,6	32,3
1×10^{-6} мг/л	7,14	0,13	50,1	40,1
1×10^{-7} мг/л	9,01	0,16	73,0	53,5
1×10^{-8} мг/л	8,66	0,15	63,5	48,2
1×10^{-9} мг/л	6,97	0,12	50,2	40,1
0 мг/л (контроль)	3,70	0,06	22,6	20,3

Примечание: 24-Эб – 24-эпибрассинолид.

На момент начала мониторинга значения средней длины при различных дозировках 24-эпибрассинолида составили: 1×10^{-3} мг/л – 10,72 мм, 1×10^{-4} мг/л – 12,69 мм, 1×10^{-5} мг/л – 15,42 мм, 1×10^{-6} мг/л – 14,26 мм, 1×10^{-7} мг/л – 12,35 мм, 1×10^{-8} мг/л – 13,63 мм, 1×10^{-9} мг/л – 13,55 мм, 0 мг/л (контроль) – 16,33 мм. Значения показателя в конечной точке периода наблюдений приведены в табл. 2. Абсолютный, среднесуточный и относительные показатели прироста и скорости роста в исследуемых группах изменялась значительно. Среднее значение среднесуточного прироста в группах составило 0,13 мм в сутки. Минимальное значение зафиксировано в контрольной группе – 0,06 мм в сутки. Максимальное отмечено в группе 1×10^{-3} мг/л – 0,18 мм. Также высокие значения среднесуточного прироста были в группах 1×10^{-7} мг/л – 0,16 мм, 1×10^{-8} мг/л – 0,15 мм, 1×10^{-4} мг/л – 0,14 мм.

Установлено увеличение относительного прироста в опытных группах по сравнению с контрольной в зависимости от концентрации 24-эпибрассинолида: 1×10^{-3} мг/л – на 75 %, 1×10^{-4} мг/л – на 41,5 %, 1×10^{-5} мг/л – на 16, 0 %, 1×10^{-6} мг/л – 27,5 %, 1×10^{-7} мг/л – на 50,4 %, 1×10^{-8} мг/л – на 40,9 %, 1×10^{-9} мг/л – на 27,6 %. Следовательно, относительный прирост длины личинок радужной форели под влиянием фитогормональных стероидов увеличивается на 75,0–16,0 % в зависимости от дозировки.

Аналогичную динамику демонстрирует и сравнение относительной скорости роста. Значение скорости в группах колебалась в пределах 20,3–65,6 %. В тех же вариантах опыта отмечено увеличение относительной скорости роста на 45,3–12,0 % в зависимости от дозировки 24-эпибрассинолида.

Значения средней выживаемости на протяжении всего экспериментального периода в исследуемых группах при проведении экспресс-теста физиологических нагрузок – голодание указаны в таблице 3. Максимальное значение средней выживаемости отмечено в группе 1×10^{-8} мг/л, оно составило 74,0 %, что на 18,7 % выше контрольного (55,3 %). Значения средней выживаемости на уровне контроля при высоких концентрациях 24-эпибрассинолида (1×10^{-3} мг/л – 1×10^{-6} мг/л), предположительно, объясняются отсутствием стимулирующего эффекта на выживаемость данных дозировок из-за слабого разведения вещества при обработке.

Таблица 3. Значения средней выживаемости личинок радужной форели при исследовании различных дозировок 24-эпибрассинолида при доинкубации икры в лабораторных условиях

Дозировка 24-Эб	Средняя выживаемость, %
1×10^{-3} мг/л	52,8
1×10^{-4} мг/л	56,1
1×10^{-5} мг/л	48,9
1×10^{-6} мг/л	47,9
1×10^{-7} мг/л	57,6
1×10^{-8} мг/л	74,0
1×10^{-9} мг/л	58,7
0 мг/л (контроль)	55,3

Примечание: 24-Эб – 24-эпибрассинолид.

Установлена тенденция превышения значений средней выживаемости над контролем при дозировках 1×10^{-7} мг/л, 1×10^{-8} мг/л, 1×10^{-9} мг/л, требующая подтверждения полученных результатов в производственных условиях на больших выборках. В концентрации 1×10^{-7} мг/л отмечено увеличение анализируемого показателя на 2,3 % в сравнении с контрольной группой, в группе 1×10^{-9} мг/л на 3,4 %. В ходе анализа средней выживаемости установлено, что максимальным стимулирующим эффектом обладает дозировка 24-эпибрассинолида 1×10^{-8} мг/л. Полученные данные вполне согласуются с эффектами, описанными в литературе на других животных объектах [16], и

объясняются тем, что в условиях стрессов брассиностероиды физиологически проявляют себя как иммуномодуляторы, токсикопротекторы и обладают антиоксидантными свойствами [8].

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования экспериментально подтверждено стимулирующее влияние 24-эпибрассинолида на рост, развитие и выживаемость радужной форели при доинкубации икры в лабораторных условиях. С учетом комплексного влияния на все проанализированные признаки, для дальнейших исследований в производственных условиях перспективны концентрации 24-эпибрассинолида 1×10^{-8} мг/л и 1×10^{-7} мг/л, как проявившие наилучшие стимулирующие эффекты.

Авторы выражают признательность заведующему лабораторией химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси, член-корреспонденту НАН Беларуси, д.х.н., профессору В. А. Хрипачу за предоставленный для исследований 24-эпибрассинолид.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барулин, Н. В. Стратегия развития осетроводства в Республике Беларусь / Н. В. Барулин // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. аграр. наук. – 2017. – № 2. – С. 82–90.
2. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры, 2018. Вклад в обеспечение всеобщей продовольственной безопасности и питания / Прод. и с.-х. орг. Объед. Наций. – Рим: ФАО, 2018. – 226 с.
3. Григорьев, С. С. Индустриальное рыболовство : учеб. пособие : в 2 ч. / С. С. Григорьев, Н. А. Седова. – Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2008. – Ч. 1: Биологические основы и основные направления разведения рыбы индустриальными методами. – 186 с.
4. Государственная программа развития рыбохозяйственной деятельности на 2016–2020 годы: подпрогр. 5, «Развитие рыбохозяйственной деятельности» / М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь. – Минск, 2016. – 102 с.
5. Хрипач, В. А. Брассиностероиды / В. А. Хрипач, Ф. А. Лахвич, В. Н. Жабинский. – Минск: Наука и техника; 1993.
6. Хрипач, В. А. Фитогормональные стероиды – универсальные природные биорегуляторы и основа новых препаратов для медицины и спорта / В. А. Хрипач, Р. П. Литвиновская. – 2018.
7. Способ повышения оплодотворяющей способности спермы быка-производителя. Пат. РБ №10768 от 24.03.2008.
8. Егоров, М. А. Морфофизиологические исследования эффектов фитогормона эпибрассинолида на позвоночных животных в раннем онтогенезе: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13. Физиология / М. А. Егоров; Астрахань – 2002. – 39 с.
9. The humoral effects of epin in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri brandt*) / Н. Kolman // Archives of Polish Fisheries. – 2001. – Вып. 9, № 1. – С. 61–69.
10. Исследование токсико-протекторных возможностей эпибрассинолида на молоди осетровых рыб / В. П. Загрийчук, М. А. Егоров // Наука – производству. – 2001, № 6. – С. 17–19.
11. Влияние Эпина при действии токсикантов на интенсивность транспорта нутриентов в кишечнике карпа и белуги / Л. Н. Неваленный [и др.] // Научные труды Астраханского ГТУ. – 2002. – Вып. 2, №1. – С. 101–103.
12. Литвиненко, Л. И. Определение оптимальных параметров инкубации цист артемии сибирских популяций / Л. И. Литвиненко, М. В. Гуженко // Рыбное хозяйство. – 2007. – №2. – С. 90–94.
13. Ихтиология: пособие / В. Г. Костоусов. – Минск: БГУ, 2018. – 183 с.
14. Статистический анализ и визуализация данных с помощью R [Электронный ресурс] // Электронная книга, С. Э. Мاستицкий, В. К. Шитиков (2014). – Режим доступа: <http://r-analytics.blogspot.com> – Дата доступа: 20.05.2020.
15. Рекомендации по выращиванию рыбопосадочного материала радужной форели в рыбноводных индустриальных комплексах (с временными нормативами) / Н. В. Барулин [и др.]; М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Гл. упр. образования, науки и кадров, Белорус. гос. с.-х. акад. – Горки: БГСХА, 2016. – 179 с.
16. Пат. 15826 РБ МПК А 61К 31/365 (2006.01) Способ повышения устойчивости организма млекопитающего к стресс-воздействию / В. А. Хрипач, Р. П. Литвиновская, В. Н. Жабинский, М. И. Завадская, А. С. Богдан, Ю. Д. Коваленко, Н. Н. Веялкина, Н. В. Ламовская, М. П. Королевич, Е. А. Стаценко [и др.]; – Опубл. 30.04.2012, Бюл. № 2 (85). – С. 74.