

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОРМОВЫХ СУСПЕНЗИЙ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ЛИЧИНОК ДАНИО РЕРИО В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

Н. В. БАРУЛИН, В. В. ЛЕСНЕВСКАЯ, Ю. М. САЛТАНОВ

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

(Поступила в редакцию 12.02.2020)

Цель работы заключалась в изучении влияния различных кормовых суспензий на рост и развитие личинок данио рерио в эксперименте in vivo. Исследования выполнялись на базе кафедры ихтиологии и рыбоводства в 2020 г., в студенческой научно-исследовательской лаборатории «Физиология рыб». В ходе исследований тестировались следующие кормовые суспензии: № 1 – красная одноклеточная водоросль порфиридиум; № 2 – микроводоросль хлорелла; № 3 – кормовая смесь растительного и животного происхождения (с большой долей растительных организмов); № 4 – кормовая смесь растительного и животного происхождения (с большой долей животных организмов); № 5 – рыбный корм Biomar. В исследованиях регистрировались следующие параметры: выживаемость, средняя длина личинок, автофлуоресценция, поведение личинок в LDB тесте, гидрохимические параметры водной среды.

Проведенные исследования установили, что кормление суспензией кормов с порфиридиумом, с хлореллой, с рыбными кормами в условиях отсутствия аэрации и циркуляции воды вызывали гибель 100 % личинок, при этом суспензии кормов с хлореллой и рыбными кормами существенно снижали гидрохимические параметры водной среды. Наиболее подходящей для стартового кормления личинок данио рерио оказались кормовые смеси растительного и животного происхождения, которые не ухудшали гидрохимические параметры водной среды, даже в условиях отсутствия аэрации и циркуляции. При этом смертность от таких смесей была минимальной. Достоверных различий между суспензией кормов № 3 и № 4 обнаружено не было.

Ключевые слова: личинки данио рерио, порфиридиум, хлорелла, фитопланктон, зоопланктон, рыбный корм.

The aim of this work was to study the influence of various feed suspensions on the growth and development of zebrafish larvae in an in vivo experiment. The research was carried out on the basis of the Department of Ichthyology and Fish Farming in 2020, in the student research laboratory "Physiology of Fish". During the research, the following feed suspensions were tested: No. 1 – red unicellular alga porphyridium; No. 2 – microalgae chlorella; No. 3 – feed mixture of plant and animal origin (with a large proportion of plant organisms); No. 4 – feed mixture of plant and animal origin (with a large proportion of animal organisms); No. 5 – Biomar fish feed. The following parameters were recorded in the studies: survival rate, average length of larvae, autofluorescence, behavior of larvae in LDB test, hydrochemical parameters of the aquatic environment.

Studies have shown that feeding with a suspension of feed with porphyridium, with chlorella, with fish feed in the absence of aeration and water circulation caused the death of 100 % of the larvae, while feed suspensions with chlorella and fish feed significantly reduced the hydrochemical parameters of the aquatic environment. The most suitable for starting feeding of zebrafish larvae were forage mixtures of plant and animal origin, which did not worsen the hydrochemical parameters of the aquatic environment, even in the absence of aeration and circulation. At the same time, mortality from such mixtures was minimal. No significant differences were found between suspensions of feeds No. 3 and No. 4.

Key words: zebrafish larvae, porphyridium, chlorella, phytoplankton, zooplankton, fish food.

Введение

Вопросу повышения эффективности выращивания рыбопосадочного материала постоянно уделяется большое внимание со стороны исследователей [1–5].

Как и для любого организма, так и для рыб важным условием для существования является энергия, получаемая с пищей. Особенно стоит уделять питанию рыб в первые 10–15 дней их жизни. Известно, что питание личинок карповых рыб происходит следующим образом: в первые 10 дней личинки питаются коловратками. Далее, в следующие 10 дней, личинки предпочитают небольших планктонных ракообразных. И наконец, на последних днях своей личиночной стадии они также питаются различными планктонными ракообразными и небольшими личинками насекомых, таких как хирономид и поденки [6]. В жизни личинок и мальков корм имеет огромное значение. Только что выклюнувшаяся личинка, усвоившая содержимое желточного мешка, пребывает в острокритической фазе развития и быстро погибнет, если ее вовремя не покормить. Это единственный период в жизни рыбы, когда она не выдерживает даже малейших лишений. Личинок (свободно плавающих личинок, у которых рассосался желточный мешок) лучше всего кормить часто мелким живым кормом, у мальков корм должен постоянно присутствовать в аквариуме и быть полноценным и разнообразным [7].

Данио рерио (zebrafish, зебраданио, (Hamilton, 1822)) представляет собой небольшую тропическую пресноводную рыбу из семейства карповые [8]. За последние два десятилетия использование этой модели исследования широко распространилось в различных областях биологических наук. В настоящее время она используется в экотоксикологии [9], нейробиологии [10], аквакультуре [11] и др.

Этот бум исследований привел к экспоненциальному росту использования аквакультуры во всем мире без достаточных сопутствующих исследований новых методов разведения и выращивания личинок, которые позволили бы оптимизировать интенсивное производство рыбы для исследований с

надлежащей стандартизацией и благополучием рыб. Однако мало что известно о пищевых потребностях рыбок данио [12], в основном они разводятся с использованием информации, доступной для *Syrniformes* [13]. Это становится серьезной проблемой в исследовательском сообществе, так как затрудняет стандартизацию протокола содержания в различных учреждениях [14]. Правильное питание важно не только для индивидуального роста и выживания, но и для репродуктивного успеха, что напрямую влияет на приспособленность потомства [15]. Традиционно рыбок данио выращивали с использованием комбинации живого корма и обработанного сухого корма. В первые 5–7 дней после оплодотворения (dpf) личинки извлекают питательные вещества из желточного мешка, не требуя экзогенного питания. По истечении этого периода их обычно кормят парameцием или коловратками до 9–15 dpf. После этого их рацион основан на артемии (науплии артемии) с добавлением обработанного сухого корма. Несмотря на преимущества живого кормления (высокая перевариваемость, поощрение поведения поимки добычи, адаптация питания путем обогащения живого корма [16]), эта практика может быть опасной, поскольку живые организмы могут работать как переносчики патогенов [17]. С другой стороны, сам по себе живой корм без добавок не может удовлетворить потребности рыбок данио в питании, поскольку, как сообщается, они замедляют рост и даже вызывают пороки развития [18]. Недавно были опубликованы некоторые исследования пищевых потребностей рыбок данио с целью поиска оптимального протокола кормления [19]. Главный недостаток этих исследований состоит в том, что они сосредоточены в основном на ювенильной и взрослой стадиях, а личиночная стадия в значительной степени не изучена. В нескольких исследованиях, посвященных первому кормлению, использовалось живое кормление [20], что дает мало данных о сухом корме в качестве первого кормления.

Цель нашей работы заключалась в изучении влияния различных кормовых суспензий на рост и развитие личинок данио рерио в эксперименте *in vivo*.

Основная часть

Исследования выполнялись на базе кафедры ихтиологии и рыбоводства в 2020 г., в студенческой научно-исследовательской лаборатории «Физиология рыб» (научный руководитель лаборатории – Н. В. Барулин). В качестве объектов исследований использовали личинок данио рерио дикого типа, перешедших на активное питание. Эмбрионы рыб получались от индивидуального нереста (1 самец – 1 самка). Самец и самка накануне, вечером, отсаживались в 3-литровый лоток – нерестовик (лоток предназначенный для нереста, имеющий нерестовый субстрат), в котором имелась прозрачная перегородка, отделяющая самца от самки. Лоток находился на общем водоснабжении водой из вивария. Температура воды при нересте составляла 27 °С. Утром, в 9.00, перегородка убиралась, и через 10–15 минут происходило начало естественного нереста. После извлечения эмбрионов из лотка-нерестовика (в 11.00), они промывались от загрязнений (чешуя от производителей, остатки фекалий, мертвые (неоплодотворенные) икринки), помещались в инкубационную среду. Инкубацию эмбрионов осуществляли в 90 мм полистирольных чашках Петри, которые помещались в охлаждаемые инкубаторы с системой охлаждения и нагревания ST 5 SMART (Pol-Eko-Aparatura, Польша). Температура инкубации эмбрионов составляла 27,5 °С. Объем инкубационной среды в каждой чашке Петри составлял 40 мл. В каждую чашку Петри помещались по 50 экз. эмбрионов спустя 24 часа после оплодотворения.

Исследование флуоресценции хлорофилла осуществляли при использовании биологического эпифлуоресцентного микроскопа (планахроматический объектив 4×/0,13) BS-2070FT (LED). Для возбуждения хлорофилла использовали голубой возбуждающий фильтр: возбуждение 460–490 нм, светоделительное зеркало 505 нм, запирающий фильтр – 515 нм. Захват изображений осуществляли при помощи камеры для микроскопа Basler acA2040-55uc и ПО pylon Viewer с дальнейшим регулированием контрастности и шумов изображения в ImageJ.

Для анализа поведения личинок в LDT (light dark test) тесте использовали стандартный 96 луночный планшет для ИФА-анализов с круглыми лунками, в каждую лунку которого помещали по 1 личинке данио рерио. 96-луночный планшет размещался на платформе с инфракрасным освещением и затем накрывался затемненным боксом с поддержанием температуры. Продолжительность адаптации личинок в затемненных условиях составляла 30 минут. Затем осуществлялось последовательное включение и выключение белых светодиодов с 10-минутными интервалами. В ходе LDT теста осуществлялась запись подвижности личинок каждые 2 минуты в течении 2-х минут, при помощи камеры для микроскопа Basler, снабженной инфракрасным фильтром и ПО pylon Viewer с дальнейшим анализом траекторий движения в ПО EthoVision XT (от компании Noldus) в режиме DanioVision.

В ходе исследований использовались различные суспензии кормов: № 1 – красная одноклеточная водоросль порфиридиум (штамм *Porphyridium purpureum* IBCE P-12 из коллекции хозяйственно полезных видов водорослей ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»); № 2

– микроводоросль хлорелла (штамм *Chlorella (Parachlorella) kessleri* IBCE С-3 из коллекции хозяйственно полезных видов водорослей ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»); № 3 – кормовая смесь растительного и животного происхождения: (сырой объем организмов 1,1 мл/л) *Pinnularia viridis* 44 %, *Euchlanis* sp. – 21 %, *Paramecium caudatum* – 13 %, *Scenedesmus acutus* – 7 %, *Didinium nasutum* – 6 %, *Stylonychia* sp. – 4 %, *Vorticella campanula* – 3 %, *Spirostomum ambiguum* – 2 %; № 4 – кормовая смесь растительного и животного происхождения: (сырой объем организмов 2,6 мл/л) *Scenedesmus acutus* – 53 %, *Paramecium bursaria* – 21 %, *Spirostomum ambiguum* – 17 %, *Euchlanis* sp. – 5 %, *Didinium nasutum* – 3 %, *Keratella quadrata* – 1 %. № 5 – рыбный корм Biomar. Содержание личинок данио-рерио осуществлялось в термостате при температуре 26 °С с естественным температурным режимом в пластиковых емкостях объемом 1,5 л, с ежедневной подменной воды. В емкости добавлялись суспензии кормов в соотношении 1:100 (для суспензии № 2) и 10:100 для всех остальных суспензий. Добавление кормовых суспензий и подмена воды осуществлялась через день.

Внесение кормовых смесей осуществлялось после массового перехода личинок на внешнее питание.

При определении фито- и зоопланктона пробы в реакторах отбирали планктонной трубкой Утермеля-Вундера. Для определения биомассы планктона проба выливалась в мерный цилиндр, фиксировалась 2–4 % раствором формалина, после оседания на дно по делениям мерного сосуда определялся сырой объем. Виды кормовых организмов определяли согласно определителям [21–25]. Просмотр проб проводился под микроскопом BestScope BLM-270 LCD. Размерные значения кормовых организмов устанавливали при помощи компьютерной программы NMS, их объем для расчета процентного соотношения определяли по формулам для вычисления объема геометрических тел [26].

Для статистической обработки использовали статистическую программу R с пакетами RCommander, corrplot и др. [27].

В результате проведенных исследований установлено, что исследуемые суспензии кормов оказывают существенное влияние на выживаемость личинок данио рерио в ходе исследований (рис. 1).

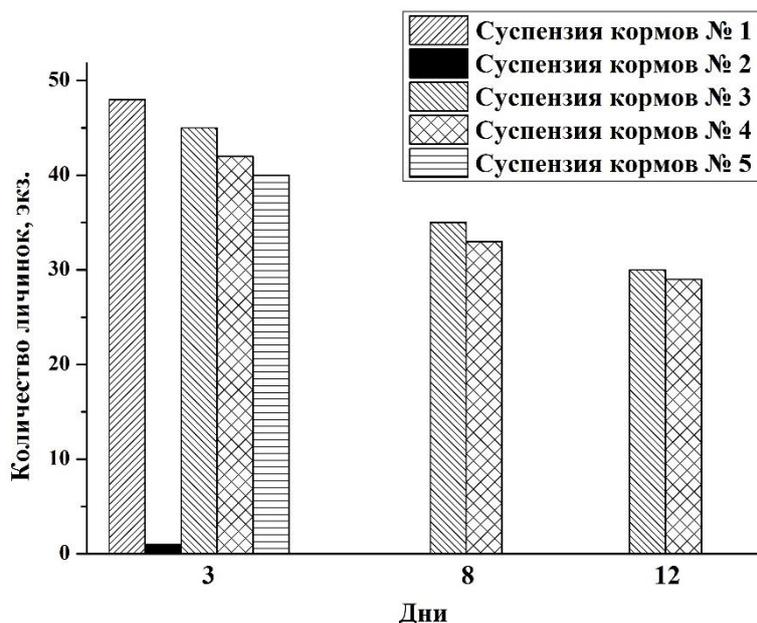


Рис. 1. Результаты влияния различных кормовых суспензий на выживаемость личинок данио рерио в эксперименте in vivo (объем выборки в начале эксперимента = 50)

Так, под влиянием суспензии кормов № 2 (микроводоросль хлорелла) происходило резкое снижение выживаемости уже на третий день исследований, приводя к 100 % гибели личинок. Остальные суспензии кормов на третий день наблюдений существенно не отличались друг от друга. Однако уже к восьмому дню наблюдений суспензии кормов № 1 (порфиридиум) и № 5 (рыбный корм) приводили к 100 % гибели личинок. Оставшиеся исследовательские группы, в которые вносили суспензии кормов № 3 (кормовая смесь растительного и животного происхождения с большой долей растительных организмов) и № 4 (кормовая смесь растительного и животного происхождения с большой долей животных организмов) соответственно характеризовались высокой выживаемостью, которая достоверно не отличалась между собой. Негативное влияние суспензии кормов № 2 на выживаемость личинок можно объяснить возможным токсическим эффектом химических веществ, входящих в состав

питательной среды, в которой культивируется культура хлореллы, а также низкой концентрации кислорода в воде, в которой выращивались личинки данной опытной группы (табл. 1). Негативное влияние суспензии кормов № 1 на выживаемость личинок можно объяснить тем, что данный вид корма не потреблялся личинками. Данная суспензия не ухудшала гидрохимические показатели водной среды. Тот факт, что личинка из опытной группы, которая получала в качестве корма суспензию кормов № 1, выжила до 8 дня наблюдений, объясняется внутренними резервами организма личинки, за счет которых личинка выживала. Негативное влияние суспензии кормов № 5 на выживаемость личинок можно объяснить тем, что данный вид корма существенно ухудшал гидрохимические параметры водной среды.

Таблица 1. Гидрохимические параметры водной среды при кормлении личинок данио рерио различными кормовыми суспензиями в эксперименте *in vivo*, $M \pm m$

| № суспензии кормов | O ₂ | NO ₂ | NO ₃ | NH ₃ /NH ₄ | pH |
|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------------------------|-----|
| 1 | 4,98 | 0,1 | 40 | 1,0 | 7,0 |
| 2 | 1,51 | 0,1 | 30 | 1,0 | 7,0 |
| 3 | 5,11 | 0,2 | 25 | 1,0 | 6,5 |
| 4 | 5,05 | 0,1 | 20 | 1,0 | 7,5 |
| 5 | 0,2 | 4,0 | 40,0 | 2,0 | 8,0 |

Хлорофилл, входящий в состав зеленых микроводорослей из кормовых смесей растительного и животного происхождения, потребляется как личинками данио, так и инфузориями и коловратками и др., которые в свою очередь также потреблялись личинками данио. Свидетельством интенсивного потребления личинками кормовых смесей растительного и животного происхождения № 3 и № 4 является интенсивное окрашивание красным цветом области ЖКТ у личинки данио при воздействии на них светом эпифлуоресцентного микроскопа при использовании голубого возбуждающего фильтра. Известно, что флуоресценция хлорофилла происходит в спектре 650 нм [28].

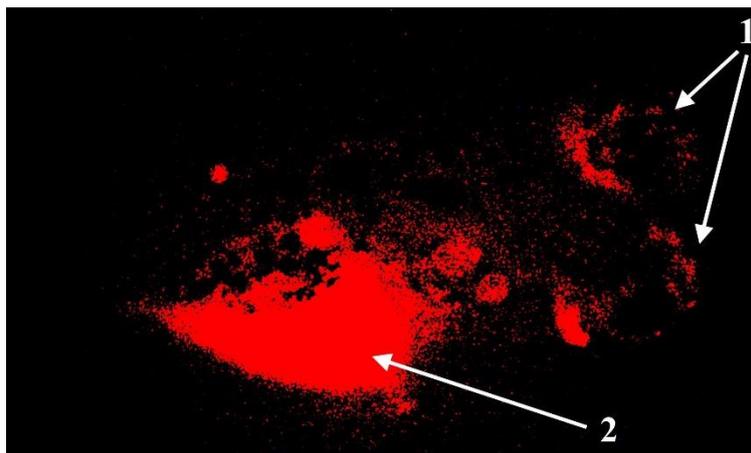


Рис. 2. Автофлуоресценция хлорофилла в ЖКТ личинки данио рерио. Стрелки указывают на глаза (1) и ЖКТ (2) личинки данио рерио. Планахроматический объектив 4×/0,13 биологического эпифлуоресцентного микроскопа. Камера для микроскопа Basler acA2040-55uc

Результаты влияния суспензий кормов на рост личинок представлены в табл. 2. На 8 и 12 день наблюдений у оставшихся в живых групп личинок данио, которых кормили суспензией кормов № 3 и № 4, не наблюдалось достоверных отличий в длине. Следует отметить хорошие значения средней длины у личинок данио в группе, которую кормили суспензией кормов № 5. Однако существенное снижение гидрохимических параметров в данной группе личинок вызвали 100 % их гибель. В нашем эксперименте мы не использовали постоянную аэрацию и циркуляцию воды, по причине того, что невозможно осуществить равномерное водоснабжение исследуемых лотков, что могло исказить результаты исследований. В условиях массового выращивания личинок данио такая аэрация и циркуляция воды присутствует, однако, как показывают результаты, приведенные в табл. 1, рыбные корма существенно снижают качество воды. Такое снижение качества воды приходится компенсировать увеличением проточности и аэрации, что на первых этапах выращивания личинок данио может снизить их темп роста и даже привести к повышению смертности из-за неспособности личинок сопротивляться повышенному потоку воды и пузырькам воздуха. Поэтому, несмотря на потенциальные

перспективы использования рыбных кормов при массовом выращивании личинок данио, использования только этого корма следует избегать, особенно на первых этапах развития личинок данио рерио.

Таблица 2. Результаты влияния различных кормовых суспензий на рост личинок данио рерио в эксперименте *in vivo*, $M \pm m$

| День 3 | | | | | | | | | | |
|--------------------|-------------|------|-------|----|-------------------|-------------|----------------------------|--------|------------------|------------------|
| № суспензии кормов | Mean±SE, мм | SD | CV, % | n | Тест Шапиро-Уилка | Тест Ливина | Тест Ньюмена | | | |
| | | | | | | | Достоверность относительно | | | |
| | | | | | | | №5 | №1 | №3 | №4 |
| 1 | 3,77±0,32 | 0,95 | 0,25 | 10 | P>0,05 | P<0,05 | P<0,05 | – | P>0,05 | P>0,05 |
| 3 | 4,26±0,08 | 0,26 | 0,06 | 10 | | | P>0,05 | P>0,05 | – | P>0,05 |
| 4 | 3,14±0,22 | 0,53 | 0,17 | 10 | | | P>0,05 | P>0,05 | P<0,05 | – |
| 5 | 4,09±0,18 | 0,57 | 0,14 | 10 | | | – | P>0,05 | P>0,05 | P<0,05 |
| День 8 | | | | | | | | | | |
| № суспензии кормов | Mean±SE, мм | SD | CV, % | n | Тест Шапиро-Уилка | F-тест | U-критерий Манна-Уитни | | | |
| | | | | | | | P>0,05 | | | |
| 3 | 4,84 ± 0,12 | 0,33 | 0,07 | 10 | P<0,05 | – | P>0,05 | | | |
| 4 | 5,04 ± 0,19 | 0,53 | 0,10 | 10 | | | | | | |
| День 12 | | | | | | | | | | |
| 3 | 6,03 ± 0,16 | 0,52 | 0,09 | 10 | P<0,05 | – | p>0,05 | | | |
| 4 | 5,91 ± 0,26 | 0,31 | 0,18 | 10 | | | | | | |

Примечание: Mean – среднее значение длины, SE – стандартная ошибка среднего, SD – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации, %, n – объем выборки.

Тестирование поведение личинок в LDT тесте не показало существенных отличий в группах, который кормили суспензией кормов № 3 и № 4.

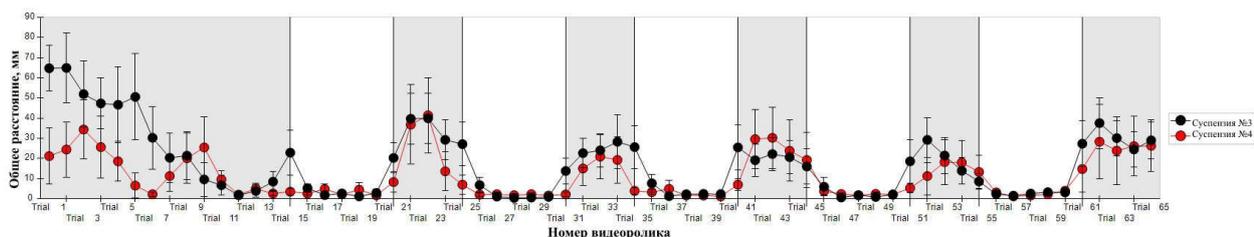


Рис. 3. Результаты влияния кормовых смесей растительного и животного происхождения №3 и №4 на общее проплываемое расстояние личинок данио рерио в LDT тесте

Заключение

Таким образом, проведенные исследования по влиянию различных кормовых суспензий на рост и развитие личинок данио рерио в эксперименте *in vivo* установили, что кормление суспензией кормов с порфиридиумом, с хлореллой, с рыбными кормами в условиях отсутствия аэрации и циркуляции воды вызывали гибель 100 % личинок, при этом суспензия кормов с хлореллой и рыбными кормами существенно снижали гидрохимические параметры водной среды.

Наиболее подходящей для стартового кормления личинок данио рерио оказались кормовые смеси растительного и животного происхождения, которые не ухудшали гидрохимические параметры водной среды, даже в условиях отсутствия аэрации и циркуляции. При этом смертность от таких смесей была минимальной. Достоверных различий между суспензией кормов № 3 и № 4 обнаружено не было.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Барулин, Н. В. Рекомендации по воспроизводству осетровых рыб в рыбоводных промышленных комплексах с применением инновационных методов / Н. В. Барулин, В. Ю. Плавский, К. Л. Шумский, Л. О. Атрощенко, Е. Г. Новикова, С. В. Роговцов, М. С. Лиман. – Горки: БГСХА, 2016. – 203 с.
3. Барулин, Н. В. Стратегия развития осетроводства в Республике Беларусь / Н. В. Барулин // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. – 2017. – № 2. – С. 82–90.
4. Плавский, В. Ю. Влияние лазерного излучения инфракрасной области спектра на устойчивость молоди осетровых рыб к дефициту кислорода / В. Ю. Плавский, Н. В. Барулин // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2008. – № 8–9. – С. 65–74.
5. Kostousov, V. G. Development of industrial fish culture in Belarus / V. G. Kostousov, N.V. Barulin. – p. 44–48 // Handbook: Recirculation technologies in indoor and outdoor systems; Edited by: Peter Lengyel [et al.]. – Szarvas, Hungary: Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation, 2013. – 92 p.
6. Учебное пособие по производству мальков и сеголетков карпа в прудах / Л. Хорват [и др.] // Будапешт, ФАО – 2018. – 44 с.

7. Привезенцев, Ю. А. Интенсивное прудовое рыбоводство: учебник для вузов / Ю. А. Привезенцев. – М.: Агропромиздат, 1991. – 368 с.
8. Nusslein-Volhard, C. The zebrafish issue of *Development* / C. Nusslein-Volhard. – *Development*. – 2012. – Vol. 139 (22). – P. 4099-4103.
9. Bioavailability of a natural lead-contaminated invertebrate diet to zebrafish / D. Boyle [et al.] – *Environ Toxicol Chem.* – 2010. – Vol. 29(3). – P. 708–714.
10. Arrenberg, A. B. Integrating anatomy and function for zebrafish circuit analysis / A. B. Arrenberg, W. Driever // *Front Neural Circuits*. – 2013. – Vol. 7. – P. 74.
11. Learning from small fry: the zebrafish as a genetic model organism for aquaculture fish species / R. Dahm, R. Geisler / *Mar Biotechnol.* – 2006. – Vol. 8(4). – 329–345.
12. Lawrence, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. / C. Lawrence [et al.] // *Aquaculture*. – 2007. – 269(4). – P. 1–20.
13. Kaushik, S. Growth and body composition of zebrafish (*Danio rerio*) larvae fed a compound feed from first feeding onward: toward implications on nutrient requirements / S. Kaushik, I. Georga, G. Koumoundouros // *Zebrafish*. – 2011. – Vol. 8(2). – P. 87–95.
14. Westerfield, M. *The Zebrafish Book: A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)* / M. Westerfield. – Eugene: University of Oregon Press. – 2007. – p. 3.1-3.2.
15. Markovich, M. L., Diet affects spawning in zebrafish / M. L., Markovich, N. V. Rizzuto, P. B. Brown // *Zebrafish*. – 2007. – Vol. 4(1). P. 69–74.
16. Harper, C. *The laboratory zebrafish* / C. Harper, C. Lawrence // CRC Press. Mark A. Suckow Ed. – 2011. – pp. 274.
17. Mehrad B, Jafaryan H, Taati MM. Assessment the effects of dietary vitamin E on growth performance and reproduction of zebrafish, *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae) / B. Mehrad, H. Jafaryan, M.M. Taati // *J. Oceanogr Mar Sci.* – 2012. – Vol. 3(1). – P. 1–7.
18. Unsupplemented Artemia Diet Results in Reduced Growth and Jaw Dymorphogenesis in Zebrafish / M.P. Craig [et al.] // 2006. – Available at: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/27102.pdf>
19. Effects of dietary biotin and avidin on growth, survival, feed conversion, biotin status and gene expression of zebrafish *Danio rerio* / R. Yossa [et al.] // *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* – 2011. – Vol. 160(4). – P. 150–158.
20. A novel method for rearing first-feeding larval zebrafish: polyculture with Type L saltwater rotifers (*Brachionus plicatilis*) / J. Best [et al.] // *Zebrafish*. – 2010. – Vol. 7(3). – P. 289– 295.
21. Водоросли. Справочник / С. П. Вассер, Н. В. Кондратьева, Н. П. Масюк [и др.] – Киев: Наукова Думка, 1989. – 608 с.
22. Кутикова, Л. А. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос) / Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов. — Л.: Гидрометеоздат, 1977. – 512 с.
23. Алимов, А. Ф. Протисты / А. Ф. Алимов // *Руководство по зоологии*. – Ч. 2. – 2007. – 1141 с.
24. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / Низшие беспозвоночные. – СПб., 1994. – Т. 1. – 340 с.
25. Царенко, П. М. Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской СССР / П. М. Царенко. – Киев, 1990. – 208 с.
26. Сборник классических методов гидробиологических исследований для использования в аквакультуре / Г. К. Плотников [и др.]. – Академическое издательство Даугавпилсского университета «Сауле». – 253 с.
27. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. – 2017. – URL <https://www.R-project.org>
28. Сайфитдинова, А. Ф. Двумерная флуоресцентная микроскопия для анализа биологических образцов / А. Ф. Сайфитдинова. – СПб.: «СОЛО», 2008. – 72 с.