

Д. Н. Скафарь, Д. В. Шумейко

## Воздействие этанола на некоторые гематологические показатели австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus*)

### Аннотация.

**Цель:** изучение влияния этанола на показатели ОЧГ, процентное содержание гранулоцитов и общего белка в гемолимфе австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus*).

**Материалы и методы.** Объектом данного опыта являлись 26 самцов австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus*) массой от 23 до 83 г. Особей равномерно распределили на две группы опытную — с инъекцией этанола и контрольную без инъекции по 13 раков на каждую группу. Доза инъекции составляла 2515 мг на 100 г массы тела. Через сутки после введения этанола отбирали гемолимфу шприцом из вентрального синуса, шприц предварительно промывался 4%-м раствором Трилона-Б. Проводили определение трех показателей: общее число гемоцитов (ОЧГ), доля гранулоцитов и общее содержание белка. Подсчёт гемоцитов и определение доли гранулоцитов производили в камере Горяева под световым микроскопом. Общий белок определяли рефрактометрическим методом.

**Результаты.** Различия по ОЧГ и общему белку между группами были статистически не достоверны ( $p > 0,05$ ). ОЧГ в экспериментальной группе на 36% больше, чем в контрольной. Общий белок после введения этанола увеличился фактически на 0,7%, а относительно на 14%. Статистически различались показатели доли гранулоцитов ( $p < 0,05$ ) — среднее значение 33,1% в экспериментальной группе против 24,5% в контрольной. Выявлена достоверная ( $p < 0,05$ ) обратная связь между общим белком и массой особей в обеих опытных группах, при этом в экспериментальной имеется видимое смещение значений зависимых показателей гемолимфы в сторону увеличения у особей меньших размеров.

**Заключение.** Однократное введение этилового спирта с дозировкой 2515 мг на 100 г массы тела в гемолимфу *C. quadricarinatus* не вызывает достоверных изменений ОЧГ и общего белка спустя 24 часа. При этом достоверно возрастает фактически на 9%, относительно на 37%, доля гранулоцитов. Это дает право предполагать, что гранулоциты участвуют в формировании защитных механизмов рака при воздействии токсичных веществ. Влияние различных дозировок инъекций этанола и длительности его воздействия на гематологические показатели требует дополнительного рассмотрения. Необходимо исследовать его влияние на другие показатели, такие как pH, и буферная ёмкость гемолимфы, концентрация гемоцианина, глюкозы, лактатов и кальция.

**Ключевые слова:** австралийский красноклешневый рак, *Cherax quadricarinatus*, этанол, гемолимфа, гемоциты, общий белок.

Авторы:

Скафарь Денис Николаевич — студент; e-mail: skafden@mail.ru;

Шумейко Дмитрий Валентинович — преподаватель; e-mail: dima-shum-92@mail.ru.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», факультет — биологический, кафедра — водные биоресурсы и аквакультура; 350040, Россия, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.

**Введение:** Воздействие этилового спирта на ряд живых организмов хорошо изучено [1–5]. Существует ряд работ по изучению поведения, перинатального и постнатального развития рыбок *Danio rerio* при длительном влиянии этилового спирта [6–9], однако доподлинно не известно, как этанол влияет на других гидробионтов, в частности на десятиногих ракообразных. Между тем данный вопрос требует рассмотрения, так как

в аквакультуре применяются растворы, содержащие этиловый спирт: в подготовке лекарственных кормов для рыб [10], для санитарно-профилактических мер и применение раствора 2-феноксиэтанола с этанолом в качестве анестетика используется для снижения стресса во время транспортировки рыбы [11]. С помощью этанола, как наиболее простого отравляющего вещества, можно моделировать интоксикацию организма для

изучения клинической картины. Это в перспективе может использоваться для контроля физиологического и биохимического состояния ракообразных на производстве в аквакультуре. Возможно рассмотрение ракообразных, как альтернативных биомоделей [12], в частности для моделирования алкогольной интоксикации.

В мировой и российской аквакультуре активно ведутся разработки технологии выращивания австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868)) — перспективного объекта в аквакультуре [13, 14]. Его культивирование, как и многих других гидробионтов, включает применение различных препаратов для интенсификации, профилактики и лечения, зарекомендованных временем [15–17], а в перспективе создание новых, включающих в свой состав этиловый спирт.

**Цель:** изучение влияния этанола на показатели ОЧГ, процентное содержание гранулоцитов и общего белка в гемолимфе австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus*).

**Материалы и методы.** Опыт проводился в лаборатории перспективных технологий в аквакультуре на базе бизнес-инкубатора ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет».

Объектом данного опыта являлись 26 самцов австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus*) массой от 23 до 83 г. Особей равномерно распределили на две группы опытную —



**Рис. 1.** Гемоциты *C. quadricarinatus* в камере Горяева, стрелочками указаны гранулоциты (увеличение 400х)

с инъекцией этанола и контрольную без инъекции, по 13 раков на каждую группу. Размеры раков по группам статистически не отличались ( $p > 0,05$ ). Во время эксперимента раки содержались в установке замкнутого водоснабжения (УЗВ). Основные гидрохимические показатели (аммиак, нитриты, нитраты, pH) находились в пределах рыбоводных норм. Температура воды колебалась в пределах 27–28°C. Перед началом опыта экспериментально определялась минимальная доза, при которой наступала гибель особей австралийского красноклешневого рака, составляющая 5,03 г на 1 кг массы тела. Доза инъекции составляла половину дозы от минимальной вызывающей смертность — 2515 мг на 100 г массы тела. Перед инъекцией нужную массу спирта разводили до 70% дистиллированной водой. Введение этанола проводили путём инфузии в вентральный синус. Через сутки после введения этанола отбирали гемолимфу шприцом из вентрального синуса в объёме 0,2–0,4 мл с учётом норм санитарии, такой способ позволяет прижизненно отбирать гемолимфу, не нанося здоровью раков значительного ущерба [18]. Шприц предварительно промывался 4%-м раствором Трилона-Б (EDTA-Na<sub>2</sub>.) Использование Трилона-Б по нашим наблюдениям, предотвращает быстрый распад и образование сгустков клеток, что облегчает подсчёт числа гемоцитов и повышает его точность.

Проводили определение трех показателей: общее число гемоцитов (ОЧГ), доля гранулоцитов и общее содержание белка. Подсчёт гемоцитов и определение доли гранулоцитов производили в камере Горяева под световым микроскопом. Для подсчёта ОЧГ применяли следующую формулу:  $\text{ОЧГ в 1 мкл} = N \times 5$ , где  $N$  — число гемоцитов в 50 больших квадратах на сетке камеры [19]. Общий белок определяли рефрактометрическим методом [20].

Вычисляли такие показатели, как среднее значение ( $\mu$ ), среднее квадратическое отклонение ( $s$ ), медиана ( $Me$ ), 25-й и 75-й процентиль. Расчёты и графическое оформление полученных данных проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 14. Для проверки статистической достоверности различий в группах, определения различий по гематологическим показателям использовали U-критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически достоверными при  $p < 0,05$ . Для обнаружения корреляционной связи между гематологическими показателями и массой тела в контрольной и экспериментальной группе использовали коэффициент корреляции Спирмена,  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Результаты исследования влияния этилового спирта на показатели

гемолимфы представлены в таблице 1 и рисунке 2. Различия по ОЧГ и общему белку между группами были статистически не достоверны ( $p>0,05$ ). ОЧГ в экспериментальной группе на 36% больше, чем в контрольной. Общий белок после введения этанола увеличился фактически на 0,7%, а относительно на 14%. При этом статистически различались показатели доли гранулоцитов ( $p<0,05$ ) — среднее значение 33,1% в экспериментальной группе против 24,5% в контрольной. При инъекции этанола доля гранулоцитов достоверно возрастает фактически на 9% и относительно на 37% по сравнению с контролем.

Все типы гранулоцитов участвуют в иммунной защите ракообразного [21–22]. Изменение доли гранулоцитов при инъекции этанола (рис. 2) предположительно показатель их особой роли в клеточном иммунитете ракообразных при поступлении интоксикантов.

На рисунке 3 и в таблице 2 можно заметить достоверную ( $p<0,05$ ) сильную обратную связь между общим белком и массой особей в обеих опытных группах, при этом в экспериментальной имеется видимое смещение значений зависимых показателей гемолимфы в сторону увеличения у особей меньших размеров.

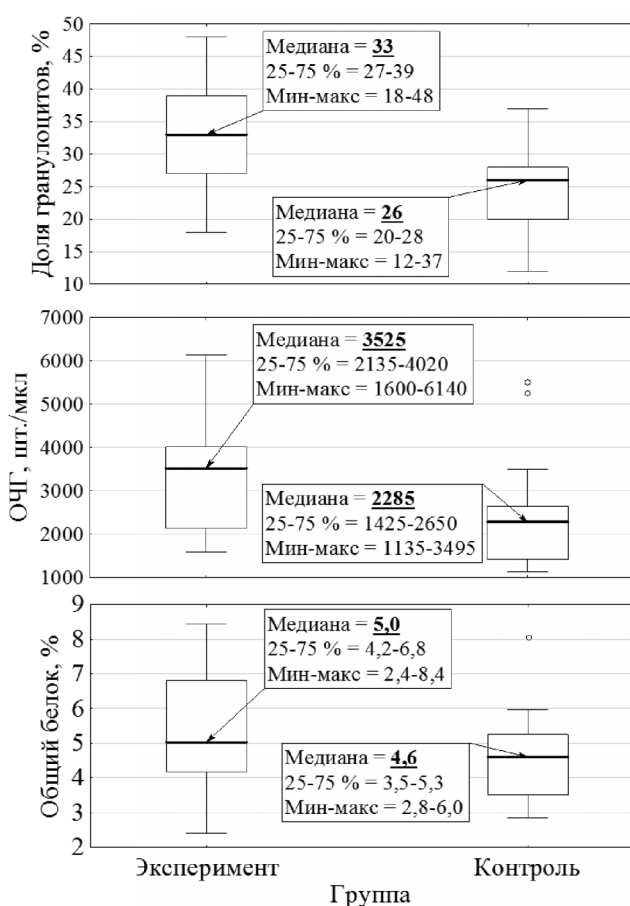
Общее число гемоцитов у раков после введения этанола не показывает связи с массой особей, в свою очередь в контрольной группе оно стремится к прямой зависимости (рисунок 2). Доля гранулоцитов напрямую связана с массой особей в экспериментальной группе ( $p<0,05$ ) и близка к этому в контрольной ( $p>0,05$ ) с коэффициентом корреляции 0,47.

Стоит отметить, что в опытах по физиолого-биохимической адаптации раков *Astacus astacus* при изменении минерализации водной среды обнаруживается, что при понижении и повышении минерализации воды возрастает доля гранулоцитов [23]. По данным Корягиной [24] при содержании речных раков *Astacus astacus* в воде загрязнённой азотсодержащими соединениями наблюдается противоположный результат — снижается

доля гранулоцитов. Поэтому нельзя дать однозначный ответ по поводу изменения доли гранулоцитов и гемоцитарной формулы в целом, так как функции разных типов гемоцитов остаются не полностью изученными.

**Закключение.** В результате проведенных работ установлено, что однократное введение этилового спирта с дозировкой 2515 мг на 100 г массы тела в гемолимфу *C. quadricarinatus* не вызывает достоверных изменений ОЧГ и общего белка спустя 24 часа. При этом достоверно возрастает фактически на 9%, относительно на 37%, доля гранулоцитов.

Это дает право предполагать, что гранулоциты участвуют в формировании защитных механизмов

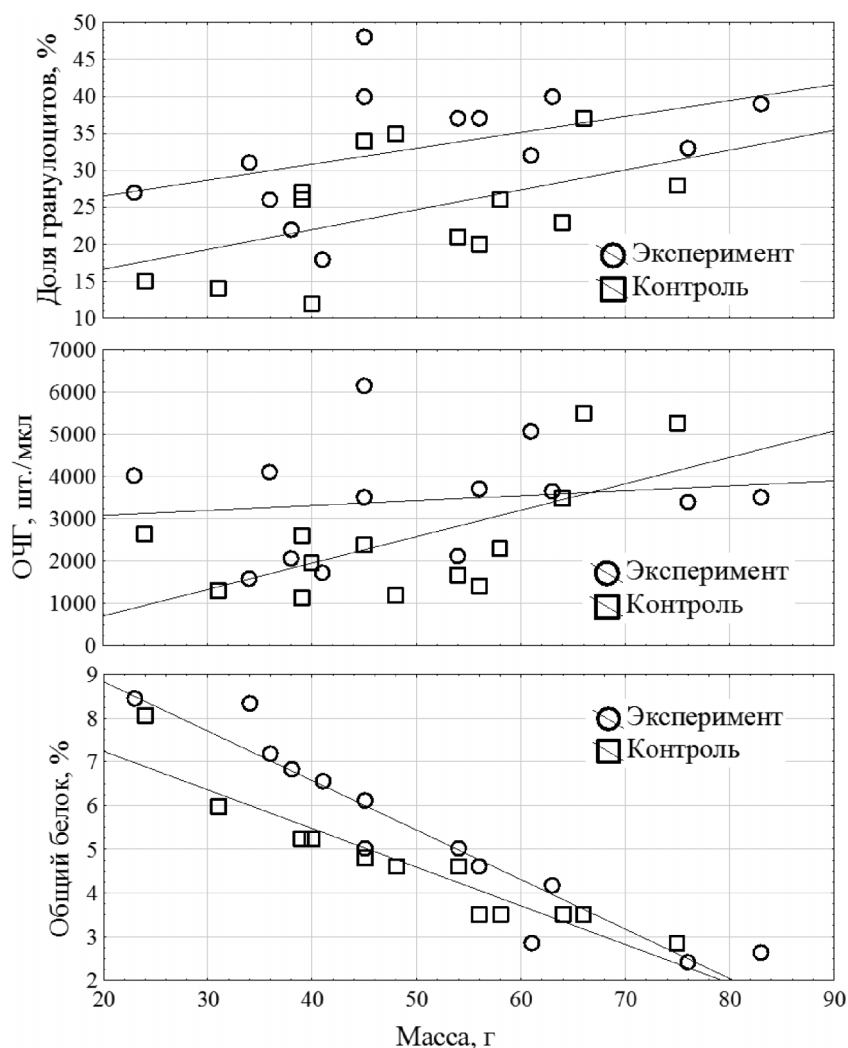


**Рис. 2.** Гематологические показатели экспериментальной и контрольной групп *C. quadricarinatus*

**Таблица 1.** Средние значения гематологических показателей экспериментальной и контрольной групп *C. quadricarinatus*

| Показатель           | Группы      |                   | Р*    |
|----------------------|-------------|-------------------|-------|
|                      | контрольная | экспериментальная |       |
| ОЧГ, шт./мкл         | 2529±1443,9 | 3440±1317,0       | >0,05 |
| Доля гранулоцитов, % | 24,1±8,01   | 33,1±8,30         | <0,05 |
| Общий белок, %       | 4,7±1,38    | 5,4±2,05          | >0,05 |

*Примечание* — \* уровень достоверности различий по сравнению с контролем (U—критерий Манна-Уитни).



**Рис. 3.** Зависимость гематологических показателей от массы тела *C. quadricarinatus* во время опыта

**Таблица 2.** Корреляционные связи между гематологическими показателями и массой тела в контрольной и экспериментальной группе *C. quadricarinatus*

| Экспериментальная группа |             |      |             |
|--------------------------|-------------|------|-------------|
| Показатель               | Общий белок | ОЧГ  | Гранулоциты |
| Масса                    | -0,98*      | 0,14 | 0,57*       |
| Контрольная группа       |             |      |             |
| Показатель               | Общий белок | ОЧГ  | Гранулоциты |
| Масса                    | -0,98*      | 0,47 | 0,47        |

Примечание — \*  $p < 0,05$  (коэффициент Спирмена).

### Литература

1. Зиматкин С. М. Гистаминергические нейроны мозга крысы после однократного воздействия этанола: сравнение эффектов малой и большой доз / С. М. Зиматкин, Е. М. Федина, О. В. Анищик // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. — 2016. — № 1. — С. 55–59.
2. Davis J. R. Effects of developmental exposure to ethanol on caenorhabditis elegans / J. R. Davis, Y. Li, C. H. Rankin // Alcoholism: clinical and experimental research. — 2008. — V. 32. — P. 853–867. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00639.x>.
3. Lonnie O. I. Ethanol tolerance in bacteria / O. I. Lonnie // Critical Reviews in Biotechnology. — 1990. — V. 9. — I. 4. <https://doi.org/10.3109/07388558909036741>.

4. Salonen I. Exposure to ethanol during capacitation impairs the fertilizing ability of human spermatozoa in vitro / I. Salonen // Int J Androl. — 1986. — P. 259–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1986.tb00889.x>.
5. Obe G. Genetic effects of ethanol / G. Obe, D. Anderson // Mutation research/reviews in genetic toxicology. — 1987. — V. 186. — I. 3. — P. 177–200. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(87\)90003-0](https://doi.org/10.1016/0165-1110(87)90003-0).
6. Ловать М. Л. Моделирование алкогольной интоксикации на рыбах *Brachidanio rerio*: преимущества и ограничения / М. Л. Ловать, О. А. Аверина, В. В. Павшинцев // Russian Scientist. — 2017. — Т. 1. — № 2(2). — С. 37–38.
7. Fernandes Y. Long-term behavioral changes in response to early developmental exposure to ethanol in zebrafish / Y. Fernandes, R. Gerlai // Alcohol Clin Exp Res. — 2009. — V. 33. — № 4. — P. 601–609. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00874.x>.
8. Gerlai R. Drinks like a fish: zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects / R. Gerlai, M. Lahav, S. Guo, A. Rosenthal // Pharmacology, biochemistry, and behavior. — 2001. — V. 67. — I. 4. — P. 773–782. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00422-6).
9. Ramlan N. F. Time dependent effect of chronic embryonic exposure to ethanol on zebrafish: Morphology, biochemical and anxiety alterations / N. F. Ramlan, N. S. A. M. Sata, S. N. Hassan, N. A. Bakar, S. Ahmad, S. Z. Zulkifli, C. A. C. Abdullah, W. N. W. Ibrahim // Behavioural Brain Research. — 2017. — V. 332. — P. 40–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.048>.
10. Молнар К. Практическое руководство по заболеваниям тепловодных рыб в Центральной и Восточной Европе, на Кавказе и в Центральной Азии. Информационный бюллетень / К. Молнар, Ч. Секели, М. Ланг // Информационный бюллетень ФАО по рыболовству и аквакультуре. — 2020. — № 1182. — Анкара. — 113 с. <https://doi.org/10.4060/ca4730ru>
11. Altun T. Effects of short and long exposure to the anesthetic 2- phenoxyethanol mixed with ethyl alcohol on common carp (*Cyprinus carpio* L) fingerlings / T. Altun, D. Danabas // The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidgheh. — 2006. — V. 58. — I. 3. — P. 178–182.
12. Пронина Г. И. Использование гидробионтов в качестве альтернативных биомоделей / Г. И. Пронина, Н. Ю. Корягина, А. О. Ревякин, О. И. Степанова, Ж. О. Курищенко, Н. В. Петрова // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2017. — Т. 103. — № 8. — С. 912–929.
13. Лагуткина Л. Ю. Новый объект тепловодной аквакультуры — австралийский красноклешневый рак (*Cherax quadricarinatus*) / Л. Ю. Лагуткина, С. В. Пономарев // Вестник АГТУ. — 2008. — № 6. — С. 220–223.
14. Арыстангалиева В. А., Жигин А. В. Австралийский красноклешневый рак (*Cherax quadricarinatus*) — перспективный объект аквакультуры России // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны: материалы национальной научно-практической конференции, Саратов, 4–5 октября 2016 г. Саратов, 2016. С. 5–9.
15. Kumar V. Aquaculture Drugs: sources, active ingredients, pharmaceutic preparations and methods of administration / V. Kumar, S. Roy // Journal of Aquaculture Research & Development. — 2017. — V. 8. — I. 9. doi: 10.4172/2155-9546.1000510.
16. Головина Н. А., Стрелков Ю. А., Воронин В. Н., Головин П. П., Евдокимова Е. Б., Юхименко Л. Н. Ихтиопатология. М., 2003. 448 с.
17. Melendre P. M. Effectiveness of antifungal treatments during artificial incubation of the signal crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus* Dana. Astacidae) / P. M. Melendre, J. D. Celada, J. M. Carral, M. Sáez-Royuela, A. Aguilera // Aquaculture. — 2006. — V. 257. — I. 1-4. — P. 257–265. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.02.064.
18. Söderhäll K. Internal defence mechanisms / K. Söderhäll, V. W. Johansson, V. J. Smith // Freshwater crayfish: biology, management and exploitation. — 1988. — P. 213–238.
19. Иванов А. А., Пронина Г. И., Корягина Н. Ю. Физиология гидробионтов. СПб, 2021. 480 с.
20. Ковачева Н. П. Гематологические показатели как индикаторы физиологического состояния декапод: камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* и речных раков родов *Astacus* и *Pontastacus* / Н. П. Ковачева, Е. Н. Александрова // Изд. ВНИРО. М., 2010, 91 с.
21. Johansson M. W. Crustacean haemocytes and haematopoiesis / M. W. Johansson, P. Keyser, K. Sritunyalucksana, K. Soderhall // Aquaculture. — 2000. — V. 191. — P. 45–52.
22. Jussila J. Physiological responses of Astacid and Parastacid crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture: doctoral dissertation. Kuopio. 1997. 136 p.
23. Иванов А. А. Физиолого-биохимические адаптации речных раков (*Astacus astacus*) при изменении минерализации водной среды / А. А. Иванов, Н. Ю. Корягина, Г. И. Пронина, А. О. Ревякин // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2011. — № 3. — С. 120–128.
24. Корягина Н. Ю. Физиолого-биохимическая характеристика речных раков при выращивании в искусственных условиях: дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 151 с.
25. Александрова Е. Н. Прижизненное определение физиологического статуса десятиногих ракообразных (Crustacea: Decapoda) по гематологическим показателям / Е. Н. Александрова, Н. П. Кочева // Успехи физиологических наук. — 2010. — Т. 41. — № 2. — С. 51–67.

Skafar D., Shumeyko D.

## The effect of ethanol on some hematological parameters of the australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*)

### Abstract.

**Purpose:** to study the effect of ethanol on the parameters of THC, the percentage of granulocytes and total protein in the hemolymph of the Red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*).

**Materials and methods.** The object of this experiment was 26 males of the Australian red-clawed crayfish (*Cherax quadricarinatus*) weighing from 23 to 83 g. The individuals were evenly divided into two experimental groups — with an injection of ethanol and a control group without an injection of 13 crayfish for each group. The injection dose was 2515 mg per 100 g of body weight. A day after the introduction of ethanol, hemolymph was taken with a syringe from the ventral sinus, the syringe was pre-washed with a 4% EDTA-Na<sub>2</sub> solution. Three parameters were determined: the total hemocyte count (THC), percent granulocytes and percent total protein content. Counting of hemocytes and determination of granulocytes were performed in a Goryaev chamber under a light microscope. The total protein was determined by the refractometric method.

**Results.** Differences in THC and total protein between the groups were statistically unreliable ( $p > 0,05$ ). THC in the experimental group is 36% more than in the control group. The total protein after the introduction of ethanol actually increased by 0,7%, and relatively by 14%. There were statistically different indicators of the proportion of granulocytes ( $p < 0,05$ ) — the average value of 33,1% in the experimental group versus 24,5% in the control group. A reliable ( $p < 0,05$ ) strong feedback was revealed between the total protein and the mass of individuals in both experimental groups, while in the experimental group there is a visible shift in the values of dependent hemolymph indicators towards an increase in smaller individuals.

**Conclusion.** A single injection of ethyl alcohol with a dosage of 2515 mg per 100 g of body weight into the hemolymph of *C. quadricarinatus* does not cause significant changes in the THC and total protein after 24 hours. At the same time, the proportion of granulocytes actually increases by 9%, relative to 37%. This may indicate that granulocytes are involved in the formation of cancer defense mechanisms when exposed to toxic substances. The effect of different dosages of ethanol injections and the duration of its effect on hematological parameters requires additional consideration. It is necessary to investigate its effect on other indicators, such as the pH and buffer capacity of the hemolymph, the concentration of hemocyanin, glucose, lactates and calcium.

**Keywords:** red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, ethanol, hemolymph, hemocytes, total protein.

**Authors:**

**Skafar D.** — student; e-mail: skafden@mail.ru;

**Shumeiko D.** — teacher; e-mail: dima-shum-92@mail.ru.

FSBEI HPO «Kuban State University»; 350040, Russia, Krasnodar, st. Stavropolskaya, 149.

### References

1. Zimatkin S. M. Rat brain histaminergic neurons following single ethanol exposure: comparison of low and high dose effects / S. M. Zimatkin, E. M. Fedina, O. V. Anishchik // Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. — 2016. — № 1. — P. 55–59.
2. Davis J. R. Effects of developmental exposure to ethanol on caenorhabditis elegans / J. R. Davis, Y. Li, C. H. Rankin // Alcoholism: clinical and experimental research. — 2008. — V. 32. — P. 853–867. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00639.x>.
3. Lonnie O. I. Ethanol tolerance in bacteria / O. I. Lonnie // Critical Reviews in Biotechnology. — 1990. — V. 9. — I. 4. <https://doi.org/10.3109/07388558909036741>.
4. Salonen I. Exposure to ethanol during capacitation impairs the fertilizing ability of human spermatozoa in vitro / I. Salonen // Int J Androl. — 1986. — P. 259–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1986.tb00889.x>.
5. Obe G. Genetic effects of ethanol / G. Obe, D. Anderson // Mutation research/reviews in genetic toxicology. — 1987. — V. 186. — I. 3. — P. 177–200. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(87\)90003-0](https://doi.org/10.1016/0165-1110(87)90003-0).

6. Lovat M. L. Modelling alcohol intoxication in fishes brachidanio rerio: advantages and limitations / M. L. Lovat, O. A. Averina, V. V. Pavshintsev // Russian Scientist. — 2017. — V. 1. — № 2(2). — P. 37–38.
7. Fernandes Y. Long-term behavioral changes in response to early developmental exposure to ethanol in zebrafish / Y. Fernandes, R. Gerlai // Alcohol Clin Exp Res. — 2009. — V. 33. — № 4. — P. 601–609. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00874.x>.
8. Gerlai R. Drinks like a fish: zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects / R. Gerlai, M. Lahav, S. Guo, A. Rosenthal // Pharmacology, biochemistry, and behavior. — 2001. — V. 67. — I. 4. — P. 773–782. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00422-6).
9. Ramlan N. F. Time dependent effect of chronic embryonic exposure to ethanol on zebrafish: Morphology, biochemical and anxiety alterations / N. F. Ramlan, N. S. A. M. Sata, S. N. Hassan, N. A. Bakar, S. Ahmad, S. Z. Zulkifli, C. A. C. Abdullah, W. N. W. Ibrahim // Behavioural Brain Research. — 2017. — V. 332. — P. 40–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.048>.
10. Molnar K. Practical guide to diseases of warm-water fish in Central and Eastern Europe, the Caucasus and Central Asia. Newsletter / K. Molnar, H. Sekeli, M. Lang // Informacionnyj byulleten' FAO po rybolovstvu i akvakul'ture. — 2020. — № 1182. — Ankara. — 113 p. <https://doi.org/10.4060/ca4730ru>.
11. Altun T. Effects of short and long exposure to the anesthetic 2- phenoxyethanol mixed with ethyl alcohol on common carp (*Cyprinus carpio* L) fingerlings / T. Altun, D. Danabas // The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidgeh. — 2006. — V. 58. — I. 3. — P. 178–182.
12. Pronina G. I. The use of hydrobionts as alternative biomodels / G. I. Pronina, N. Yu. Koryagina, A. O. Revyakin, O. I. Stepanova, J. O. Kurishenko, N. V. Petrova // Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. Sechenova. — 2017. — V. 103. — I 8. — p. 912–929.
13. Lagutkina L. Yu. New object of aquaculture — australian redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) / L. Yu. Lagutkina, S. V. Ponomarev // Vestnik AGTU. — 2008. — № 6. — P. 220–223.
14. Arystangalieva V. A., Zhigin A. V. Australian redclawed crayfish (*Cherax quadricarinatus*) is a promising object of aquaculture in Russia // Sostoyanie i puti razvitiya akvakul'tury v Rossijskoj Federacii v svete importozameshcheniya i obespecheniya prodovol'stvennoj bezopasnosti strany: materialy nacional'noj nauchno-prakticheskoy konferencii, Saratov, 4-5 October's 2016. Saratov, 2016. p. 5–9.
15. Kumar V. Aquaculture Drugs: sources, active ingredients, pharmaceutic preparations and methods of administration / V. Kumar, S. Roy // Journal of Aquaculture Research & Development. — 2017. — V. 8. — I. 9. doi: 10.4172/2155-9546.1000510
16. Golovina N. A., Strelkov Yu. A., Voronin V. N., Golovin P. P., Evdokimova E. B., Yukhimenko L. N. Ichthyopathology. M., 2003. 448 p.
17. Melendre P. M. Effectiveness of antifungal treatments during artificial incubation of the signal crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus* Dana. Astacidae) / P. M. Melendre, J. D. Celada, J. M. Carral, M. Sáez-Royuela, A. Aguilera // Aquaculture. — 2006. — V. 257. — I. 1-4. — P. 257–265. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.02.064.
18. Söderhäll K. Internal defence mechanisms / K. Söderhäll, V. W. Johansson, V. J. Smith // Freshwater crayfish: biology, management and exploitation. — 1988. — P. 213–238.
19. Ivanov A. A., Pronina G. I., Koryagina N. Yu. Physiology of hydrobionts. SPB, 2021. 480 p.
20. Kovatcheva N. P., Aleksandrova E. N. Hematological parameters as an indicator of physiological status of the decapods: red king crab *Paralithodes camtschaticus* and freshwater crayfish genus *Astacus* and *Pontastacus*. — M.: VNIRO Publishing, 2010. — 92 p.
21. Johansson M. W. Crustacean haemocytes and haematopoiesis / M. W. Johansson, P. Keyser, K. Sritunyalucksana, K. Soderhall // Aquaculture. — 2000. — V. 191. — P. 45–52.
22. Jussila J. Physiological responses of Astacid and Parastacid crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture: doctoral dissertation. Kuopio. 1997. 136 p.
23. Ivanov A. A. Physiological and biochemical adaptations of river crayfish (*Astacus astacus*) with changes in the mineralization of the aquatic environment / A. A. Ivanov, N. Yu. Koryagina, G. I. Pronina, A. O. Revyakin // Izvestiya Timiryazevskoj sel'skohozyajstvennoj akademii. — 2011. — V. 3. — P. 120–128.
24. Koryagina N. Y. Physiological and biochemical characteristics of river crayfish when grown in artificial conditions: doctoral dissertation. M., 2010. 151 p.
25. Alexandrova E. H. In life determination of the physiological status of decapod crustaceans (Crustacea: decapoda) by hematological characteristics / E. H. Alexandrova, N. P. Kovatcheva // Uspekhi fiziologicheskikh nauk. — 2010. — V. 41. — I. 2. — P. 51–67.