

Ключевые слова:

аквакультура, воспроизводство, осетрообразные, карповые рыбы, гибриды, гонады, щуп, биопсия, стадии зрелости

Keywords:

aquaculture, reproducing, sturgeons, carp, hybrids, gonads, tester rod, biopsy, maturation stages

Совершенствование биопсийного метода определения стадии зрелости гонад у рыб при искусственном воспроизводстве

DOI

Рисунок 4. Извлечение ооцитов IV завершённой стадии зрелости у бестера (порода Бурцевская) / **Figure 4.** Extraction of oocytes of the IV completed maturity stage in the bester (Burtsevskaya breed)

Д-р с.-х. наук

Э.В. Бубунец – начальник отдела рыбохозяйственной экспертизы сооружений и технологий, оказывающих воздействие на ВБР и среду их обитания ФГБУ «ЦУРЭН»; канд. биол. наук

А.Г. Новосадов – ведущий научный сотрудник отдела сводного прогноза ФГБНУ «ВНИРО»;

д-р с.-х. наук, профессор

А.В. Жигин – главный научный сотрудник отдела аквакультуры беспозвоночных ФГБНУ «ВНИРО»; кафедра аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева»;

канд. с.-х. наук

А.В. Лабенец – заведующий отделом разведения и выращивания объектов аквакультуры ФГБНУ «ВНИИР»

@ ed_fish_69@mail.ru;
azhigin@gmail.com

THE IMPROVEMENT OF BIOPSY METHOD FOR ESTIMATION OF FISHES' GONADS MATURATION STATE DURING ARTIFICIAL BREEDING

Bubunets E.V., Doctor of Sciences – Central Department of Fisheries Regulations and Norms, ed_fish_69@mail.ru

Novosadov A.G., PhD – Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography
Zhigin A.V., Doctor of Sciences, Professor – Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, Russian State Agrarian University named after K.A. Timiryazev, azhigin@gmail.com

Labenets A.V., PhD – Russian Institute of Irrigation Fisheries

A methods and equipment used for commercial fishes' reproductive system assessment are studied. A modified tester rod for oocytes state and gonads maturation stage estimation of artificially bred carp fishes is described.

ВВЕДЕНИЕ

В практике искусственного воспроизводства многих хозяйственно-ценных видов рыб, не говоря уже о товарной аквакультуре, для обеспечения успеха, основополагающее значение имеет точное определение готовности производителей (главным образом, самок) к продуцированию половых продуктов надлежащего рыбоводного качества.

Для объективного контроля стадии зрелости гонад и актуального состояния ооцитов предложены, и в той, или иной степени используются, самые разнообразные методы – от анализа морфометрических показателей производителей до оценки их физиологического статуса и при-

менения разнообразных приборов и устройств. Однако далеко не все они пригодны к практическому применению и получили широкое распространение в рыбоводной практике.

Например, был предложен метод прижизненного определения зрелости гонад у белого толстолобика, в основу которого положен анализ сопряжённой изменчивости показателей зрелости и комплекса морфологических характеристик рыб [18]. Он базируется на сложной математической обработке (множественный регрессионный анализ) комплекса морфометрических признаков, включая и гистологическое изучение гонад. В рамках регрессионного ана-

лиза показатель степени зрелости гонад рассматривается как функция комплекса переменных, в качестве которых выступают отдельные морфометрические признаки. Прямая количественная оценка влияния семьи и условий выращивания на степень зрелости по морфотипу здесь получена с использованием модели трехфакторного дисперсионного анализа, а различия устанавливаются на основе учета комплекса из 23 (!) признаков морфотипа с использованием многомерной статистики [18]. Неудивительно, что длительность реализации, трудоемкость и сложный математический аппарат фактически исключают применение этого метода в производственной практике.

Некоторые из вновь предлагаемых способов, позиционируемые их авторами как потенциально востребованные для отбора производителей при формировании маточных стад, так и для функциональной диагностики завершающих этапов созревания, требуют не только наличия биохимической лаборатории, но и штата квалифицированных специалистов. В частности, у разновозрастных особей некоторых осетровых проводилось определение в сыворотке крови и моче концентрации осмотически активных веществ, как основного показателя для последующей разработки теста по определению стадии зрелости. Было установлено, что у половозрелых самок гибрида стерлядь × белуга (*♀ Acipenser ruthenus* L. × *♂ Huso huso* L.) на второй стадии зрелости гонад концентрация осмотически активных веществ в моче почти в два раза выше, чем у неполовозрелых особей, а половозрелые самки на IV стадии зрелости гонад отличаются по осмоляльности мочи от молодых и незрелых взрослых особей в 3 и 1,4 раза, соответственно. На основании этих данных предложено использовать осмоляльность мочи в качестве наиболее технологичного диагностического теста степени зрелости самок [10]. Очевидно, что этот и подобные биохимические тесты очень далеки от производственных реалий и, если и могут найти практическое применение, то исключительно при активном участии профильных специалистов научных учреждений.

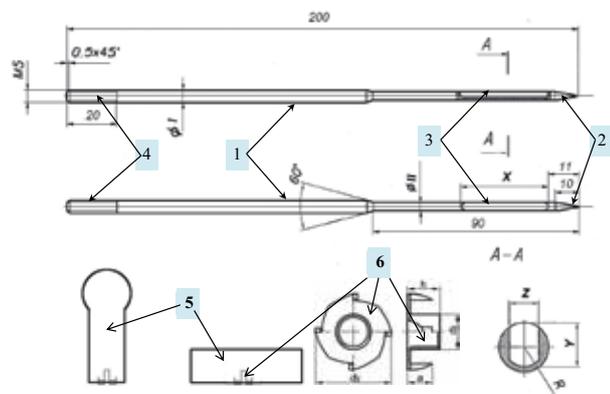


Рисунок 1. Общий вид и составные части инструмента

Figure 1. General view and component parts of the tool

Анализируются, предлагаемые и реализуемые в рыбоводной практике, методы и устройства для исследований состояния репродуктивной системы хозяйственно-ценных рыб. Описывается модифицированное устройство (щуп) для определения состояния ооцитов и стадии зрелости гонад у культивируемых и искусственно воспроизводимых осетрообразных и карповых рыб.

Интенсивное развитие осетроводства, за последние три десятилетия ставшего глобализированной отраслью аквакультуры, сопровождалось внедрением технологических инноваций, базирующихся на достижениях научно-технического прогресса. Естественно, такой базовый элемент технологий полноциклического культивирования, как воспроизводство, не мог остаться в стороне от этого процесса. В первую очередь это касается таких методов оценки функционального состояния репродуктивной системы производителей, как эндоскопия, коротковолновая спектроскопия в ближней инфракрасной области [30] и, в первую очередь, ультразвуковая диагностика [33; 34]. Несмотря на ряд объективных преимуществ, сводящихся в целом к возможности быстрой обработки значительного поголовья производителей с достаточной достоверностью получаемых результатов, эти прогрессивные методы ограничено применимы в полевых условиях, требуют специальной подготовки персонала и, главное, дорогостоящего приборного парка.

Абсолютное большинство из более чем 4000 субъектов предпринимательской деятельности, занимающихся аквакультурой в Российской Федерации [1], в настоящее время не может себе позволить приобретение соответствующего оборудования по вполне объективным экономическим причинам. Перспективы развития лизинга этих высокотехнологичных приборов сейчас, очевидно, являются весьма проблематичными. Для хозяйств, располагающих репродуктивными стадами, численность которых не превышает нескольких десятков производителей, приобретение таких приборов экономически не оправдано. Их, естественно, необходимо иметь немногочисленным у нас крупным предприятиям, осуществляющим икорно-товарное производство или массовое получение посадочного материала (например, ОРЗ). То же относится и к исследовательским центрам.

Поэтому неудивительно, что уже более полувека в практике отечественного рыбоводства превалирует биопсийный («щуповой») метод определения стадии зрелости гонад. Он применяется при воспроизводстве широкого спектра объектов культивирования – от карпа (сазана) [12; 22] и толстолобиков [9; 11; 19] до всех видов осетровых [3; 14; 21; 23; 24; 29;], веслоноса [2; 20] а также перспективных объектов культивирования, таких как кефали (сем. *Mugilidae*): лобан (*Mugil cephalus* L.), сингиль (*Liza aurata* Risso) и пиленгас (*Mugil soiyu* Basilewsky) [13], а также вырезуб (*Rutilus frisii frisii*) [16].

Только «щуповой» способ, как и любой другой метод биопсийного исследования, позволяет не только непосредственно оценить состояние тканей генеративных органов, но и подвергнуть, при наличии такой необходимости, полученный биоптат дальнейшему гистологическому (цитологическому) исследованию. Общеизвестным (но не единственным) простейшим, и имеющим большое практическое значение примером здесь, со всей очевидностью, является определение показателя (коэффициента) поляризации ооцитов [7; 31; 35].

Благодаря простоте, достаточной эффективности и доступности, он не утрачивает своего значения и в современных условиях. Биопсия гонад осетрообразных осуществляется путём введения через брюшную стенку или через боковые мышцы рыбы специального устройства – стального щупа, в целях извлечения и последующего исследования состояния ооцитов и тканей гонад [8].

Щуп традиционной конструкции представляет собой устройство в виде заострённого на конце металлического стержня диаметром 4-6 мм с желобком глубиной и шириной 3,0-3,5 мм и длиной 50-60 мм [31]. Известно также устройство, представляющее собой щуп в виде заострённого на конце металлического стержня диаметром 3,0-4,0 мм с желобком глубиной 2,0-2,5 мм, шириной 2,5-3,0 мм, длиной 17-70 мм и общей длиной 210 мм. Противоположный конец стержня загнут в виде кольца или эллипса для удобства удерживания его в руке исследователя [11; 19; 23; 20]. В некоторых известных модификациях инструмента предлагается к наконечнику горячей посадки или соединением пайкой прикреплять стержень, в качестве ручки для удобства удерживания [21; 35].

Результатом дальнейшего совершенствования инструментов для биопсийного контроля состояния гонад стало создание, в наибольшей степени приближенного к желаемому эталону, устройства, представляющего собой набор, заострённых на конце, металлических стержней, диаметр которых варьирует в трёх диапазонах, в зависимости от изучаемого вида осетровых рыб: для русского осетра – 4,5-5,0 мм; для белуги – 5,5–6,0 мм; для севрюги, шипа и стерляди – 3–4 мм. Длина желобка всех стержней 3-6 см. Противоположный конец щупа загнут в виде эллипса [34]. Диаметры стержней здесь подобраны в соответствии с размерами ограниченного числа исследуемых видов производителей осетровых рыб.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕТОДА

Общими недостатками, всех известных устройств для биопсийного исследования производителей, являются следующие: диаметр используемого стержня выбирается без учёта размеров производителей, которые варьируют, в зависимости от вида исследуемых рыб; глубина, ширина и длина жёлоба выбираются произвольно, безотносительно размеров ооцитов, которые также зависят в основном от видовой принадлежности



Рисунок 2. Работа с производителями белуги: а) отбор биоптата; б) ооциты на IV завершённой стадии; в) ооциты на III начале IV стадии

Figure 2. Work with Beluga manufacturers: a) selection of biopsy specimen; b) oocytes at the IV completed stage; c) oocytes at the beginning of stage IV III

производителей; невозможно дать предварительную оперативную оценку завершённости IV стадии зрелости ооцитов; щупы недостаточно эргономичны, и нередко при работе в полевых условиях выскальзывают и тонут в воде.

Очевидными направлениями совершенствования биопсийного метода являются: снижение травматизации исследуемых рыб, от применения не соответствующего особенностям вида диаметра стержня; обеспечение целостности, извлекаемых из гонад, ооцитов; обеспечение возможности с высокой точностью оперативного определения завершенности IV стадии их зрелости, а также

исключение возможности безвозвратной утраты инструмента при его непроизвольном падении в водоем.

Основываясь на собственном многолетнем практическом опыте и анализе доступной информации, мы предложили устройство для определения состояния ооцитов и стадии зрелости гонад у осетрообразных и карповых рыб, в котором ука-

Таблица. Параметры стержней щупов / **Table.** Tester Rod Parameters

Диаметр прутка Ø II (Но щупа)	Размеры желобка стержней			Вид, (гибрид) рыб; диаметр зрелых ооцитов, мм
	Ширина	Глубина	Радиус	
3,5 мм (1)	1,9-2,0 мм	2,5-2,6 мм	0,95 мм	Стерлядь (1,9-2,5); веслонос (2,35-2,4) бестер породы «Аксайская» (гибрид ♀ стерлядь × ♂ белуга); карп; белый и чёрный амур; белый и пёстрый толстолобики; вырезуб (1,6-1,7)
4,0 мм (2)	2,4-2,5 мм	3,0-3,1 мм	1,2 мм	Сибирский (2,4-2,9) и амурский (2,5-3,0) осетры; севрюга (2,8-3,0); шип (~3,0), бестер породы «Бурцевская» и «Внировская» (гибриды ♀ белуга × ♂ стерлядь)
4,5 мм (3)	2,9-3,0 мм	3,5-3,6 мм	1,45 мм	Русский (3,3-3,6), персидский (3,2-3,8) и атлантический осетры; гибрид (♀ осётр русский × ♂ осётр ленский); гибрид (♀ осётр амурский × ♂ калуга)
5,0 мм (4)	3,4-3,5 мм	4,0-4,1 мм	1,7 мм	Белуга (3,6-4,3); калуга (3,2-4,0); сахалинский осётр



Рисунок 3. Работа с производителями веслоноса

Figure 3. Work with paddlefish manufacturers



Рисунок 5. Осенняя бонитировка производителей русского осетра

Figure 5. Autumn appraisal of producers of Russian sturgeon

занные недостатки существующих модификаций в значительной степени преодолены [17]. Устройство (рис. 1) изготавливается из прутка нержавеющей стали ($\varnothing I$) 5 мм (1) и включает четыре стержня (№№ 1-4) различных типоразмеров, каждый из которых имеет остриё (2), желоб (3) и резьбу (4) для крепления к рукоятке (5) из материала с высокой положительной плавучестью.

Длина, ширина и глубина желоба выбраны в соответствии с размерными характеристиками ооцитов и рассчитаны на строго определённое их количество – 15 шт. на IV завершённой стадии зрелости (таблица). Если в жёлоб поместилось большее количество фолликулов, это указывает, что они с высокой долей вероятности ещё не достигли IV завершённой стадии зрелости. Если ооциты перезревают и находятся на стадии начала резорбции, их количество в жёлобе меньше 15 экз., так как они более крупные.

Щупы комплектуются съёмной рукояткой (5) из лёгкого и прочного материала (дерево, пластик), который обеспечивает устройству со съёмной ручкой положительную плавучесть и позволяет исключить утрату устройства в результате случайного падения в воду. Рукоятка может изготавливаться для прямого или Т-образного соединения со стержнем. Для фиксации щупа, используемого в каждом конкретном случае, в рукоятку устанавливается врезная гайка (6) с диаметром и шагом резьбы, соответствующими резьбе на конце щупа. Рекомендуемая длина рукоятки 12-15 см. В отдельных случаях длина рукоятки подбирается, исходя из индивидуальных особенностей эксплуатирующего устройство специалистов (рис. 2 а, 3).

В зависимости от вида исследуемой рыбы, для проведения биопсии используют стержень соответствующего диаметра ($\varnothing II$). На имеющийся резьбу конец стержня навинчивается ручка (5), после чего проводится процедура отбора биоптата из гонад в, соответствии с методикой В.З. Трусова,

но стержень вращают вокруг своей оси на 180° и извлекают его из тела рыбы (рис. 2, 4, 5). В результате в желобе стержня оказывается фрагмент гонады (ооциты или семенник). Поскольку длина (X), глубина (Y), ширина (Z) и радиус (R) закругления желоба стержней соответствует размерам икры на IV завершённой стадии зрелости, с учетом вида исследуемой рыбы, ооциты располагаются в один ряд последовательно друг за другом. При этом, если их уровень зрелости соответствует IV завершённой стадии, в желобе их помещается ровно 15 экземпляров. Если фолликулы не достигли IV завершённой стадии зрелости, а находятся на более ранних стадиях, их количество в желобе превышает 15 экз., так как они более мелкие (рис. 2 б, в). Если ооциты перезревают и находятся на стадии резорбции, их количество в желобе меньше 15 экз., так как они более крупные. Таким образом, по количеству фолликулов в жёлобе можно с высокой долей вероятности быстро определить завершённость IV стадии зрелости.

Травматичность этого метода, на которой обычно заостряют внимание специалисты, продвигающие альтернативные способы диагностики стадий зрелости гонад, сильно и безосновательно преувеличивается. При элементарной подготовке и некотором практическом навыке персонала риск каких-либо последствий для здоровья производителей минимален. В более чем двадцатилетней работе авторов случаев гибели производителей из-за последствий биопсийного обследования не наблюдалось, за исключением единичных случаев при бонитировочном исследовании истощённых особей. В практике авторов биопсийный метод экспресс-диагностики успешно применялся в течение многих лет при разработке промышленного анадромных осетровых за пределами природных ареалов [5; 25; 26; 27], веслоноса, а также при массовом производстве перспективных для товар-



Рисунок 6. Ооциты шипа на начальной стадии резорбции
Figure 6. Oocytes thorns at the initial stage of resorption



Рисунок 7. Работа в полевых условиях с зелёным осетром (фото из архива В.Е. Хрисанфова)
Figure 7. Field work with a green sturgeon (photo from the archive of V.E. Khrisanfov)

ного выращивания гибридов [28], сибирского осетра и стерляди (рис. 2-6).

ВЫВОДЫ

Исключительная портативность, отсутствие потребности в электроснабжении, низкая стоимость и простота процедуры реализации обеспечивают эффективность применения биопсийного метода в полевых условиях, которые и в наше время могут приближаться к экстремальным. Ярким примером здесь может быть работа группы В.Е. Хрисанфова с таким чрезвычайно редким видом, как сахалинский осетр [32] (рис. 7).

В сочетании с современными регламентами гормональной стимуляции созревания, адаптированными к условиям конкретного производства и физиологическим и видовым особенностям производителей [4; 6; 15], он обеспечивает устойчивое достижение необходимых производственных показателей и высокое качество, получаемых при полноциклическом культивировании, потомств.

Таким образом, модифицированное устройство позволяет: снизить травматизацию исследуемых рыб от применения несоответствующего виду диаметра стержня; обеспечить целостность, извлекаемого из гонад, биоптата; с высокой долей вероятности оперативно определить завершённость IV стадии зрелости ооцитов, а также исключить утрату устройства в случае его падения в воду.

Рекомендуем использовать данную модификацию устройства для биопсии, как на рыбоводных заводах, так и на других предприятиях, осуществляющих воспроизводство осетрообразных и карповых рыб.

Авторы выражают признательность сотруднику ФГБУ «Главрыбвод» В.Е. Хрисанфова за любезно предоставленную иллюстрацию.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Анализ состояния и перспективные направления развития аквакультуры: науч. аналит. обзор / Н.А. Головина, Н.Н. Романова, П.П. Головин, В.М. Симонов и др. - М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. - 88 с.
1. Analiz sostoyaniya i perspektivnye napravleniya razvitiya akvakul'tury: nauch. analit. obzor / N.A. Golovina, N.N. Romanova, P.P. Golovin, V.M. Simonov i dr. - M.: FGBNU «Rosinformagrotekh», 2019. - 88 p.
2. Биологические основы разведения и выращивания веслоноса (*Polyodon spathula* (Walbaum)) / В.К. Виноградов, Л.В. Ерохина, Е.А. Мельченков. - 2003. - М.: ФГНУ «Росинформагротех». - 344 с.
2. Biologicheskie osnovy razvedeniya i vyrashchivaniya veslonosa (*Polyodon spathula* (Walbaum)) / V.K. Vinogradov, L.V. Erohina, E.A. Mel'chenkov. - 2003. - M.: FGNU «Rosinformagrotekh». - 344 p.
3. Биотехнологические нормативы по товарному осетроводству / Под ред. Л.М. Васильевой. - Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2010. - 80 с.
3. Biotekhnologicheskie normativy po tovarnomu osetrovodstvu / Pod red. L.M. Vasil'evoy. - Astrahan': Izdatel'skij dom «Astrahanskij universitet», 2010. - 80 p.
4. Бубунец, Э.В. Подбор оптимальных вариантов гормональной стимуляции самок осетровых при внесезонном получении икры на предприятиях аквакультуры / Э.В. Бубунец // Рыбное хозяйство. - 2012. - № 5. - С. 59-67.

4. Bubunec, E.V. Podbor optimal'nyh variantov gormonal'noj stimulyacii samok osetrovyyh pri vnesezonnom poluchenii ikry na predpriyatiyah akvakul'tury / E.V. Bubunec // Rybnoe hozyajstvo. - 2012. - № 5. - Pp. 59-67.
5. Бубунец, Э.В. Рыбохозяйственные характеристики маточного стада шипа, выращенного в промышленных условиях / Э.В. Бубунец // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук - 2010. - № 2. - С. 72-74.
5. Bubunec, E.V. Rybohozyajstvennyye karakteristiki matochnogo stada shipa, vyrashchennogo v industrial'nyh usloviyah / E.V. Bubunec // Vestnik Rossijskoj akademii sel'skohozyajstvennyh nauk - 2010. - № 2. - Pp. 72-74.
6. Бубунец Э.В., Применение градуальных инъекций сурфагона в нетрадиционные сроки при воспроизводстве осетровых / Э.В. Бубунец, А.В. Лабенец // Аграрная наука. - 2012. - № 2. - С. 26-28.
6. Bubunec E.V., Primenenie gradual'nyh in'ekcij surfagona v netradicionnyye sroki pri vosproizvodstve osetrovyyh / E.V. Bubunec, A.V. Labenec // Agrarnaya nauka. - 2012. - № 2. - Pp. 26-28.
7. Детлаф, Т.А. Зародышевое развитие осетровых рыб (севрюги, осетра и белуги) в связи с вопросами их разведения / Т.А. Детлаф, А.С. Гинзбург. - М., 1954. - 216 с.
7. Detlaf, T.A. Zarodyshevoe razvitie osetrovyyh ryb (sevryugi, osetra i belugi) v svyazi s voprosami ih razvedeniya / T.A. Detlaf, A.S. Ginzburg. - M., 1954. - 216 p.
8. Детлаф, Т.А. Развитие осетровых рыб. (Созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинки) / Т.А. Детлаф, А.С. Гинзбург, О.И. Шмальгаузен. - М., 1981. - 224 с.
8. Detlaf, T.A. Razvitie osetrovyyh ryb. (Sozrevaniye yaic, oplodotvorennyye, razvitie zarodyshey i predlichinok) / T.A. Detlaf, A.S. Ginzburg, O.I. SHmal'gauzen. - M., 1981. - 224 p.
9. Дуварова А.С. Использование метода биопсии для определения зрелости ооцитов и модификация схем гипофизарных инъекций толстолобика / А.С. Дуварова // Сборник научных трудов ГосНИОРХ. - 1980. - Вып. 160. - С. 79-86.
9. Duvarova A.S. Ispol'zovanie metoda biopsii dlya opredeleniya zrelosti oocitov i modifikaciya skhem gipofizarnyyh in'ekcij tolstolobika / A.S. Duvarova // Sbornik nauchnyh trudov GosNIORH. - 1980. - Issue 160. - Pp. 79-86.
10. Инновационные аспекты в диагностике степени зрелости гибридов стерлядь × белуга (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 × *Huso huso* Linnaeus, 1758), выращенных в установках замкнутого водоснабжения / Г.Ф. Металлов, Е.И. Пономарева, П.П. Гераскин, и др. // Вестник Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство. - 2015. - № 2. - С. 57-65.
10. Innovacionnyye aspekty v diagnostike stepeni zrelosti gibridov sterlyad' × beluga (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 × *Huso huso* Linnaeus, 1758), vyrashchennyh v ustanovkakh zamknutogo vodosnabzheniya / G.F. Metallov, E.I. Ponomareva, P.P. Geraskin, i dr. // Vestnik Astrahan. gos. tekhn. un-ta. Ser.: Rybnoe hozyajstvo. - 2015. - № 2. - Pp. 57-65.
11. Инструкция по выращиванию и использованию производителей растительноядных рыб/ Сборник нормативно-технологической документации по товарному рыбоводству. - Т.1. - М.: Агропромиздат, 1986. - С. 90-104.
11. Instrukciya po vyrashchivaniyu i ispol'zovaniyu proizvoditelej rastitel'noyadnyh ryb/ Sbornik normativno-tekhnologicheskoy dokumentacii po tovarnomu rybovodstvu. - T.1. - M.: Agropromizdat, 1986. - Pp. 90-104.
12. Инструкция по проведению гормональной стимуляции производителей карпа при раннем получении личинок/ Сборник нормативно-технологической документации по товарному рыбоводству. - Т.1. - М.: Агропромиздат, 1986. - С. 119-130.
12. Instrukciya po provedeniyu gormonal'noj stimulyacii proizvoditelej karpa pri rannem poluchenii lichinok/ Sbornik normativno-tekhnologicheskoy dokumentacii po tovarnomu rybovodstvu. - V.1. - M.: Agropromizdat, 1986. - Pp. 119-130.
13. Куликова Н.И. Биотехника искусственного воспроизводства кефалей (лобана, сингиля, пиленгаса) с описанием схемы типового рыбопитомника / Н.И. Куликова, П.В. Шекк. - Керчь: ЮГНИРО. 1996. - 27 с.
13. Kulikova N.I. Biotekhnika iskustvennogo vosproizvodstva kefaley (lobana, singilya, pilengasa) s opisaniem skhemy tipovogo rybopitomnika / N.I. Kulikova, P.V. SHEkk. - Kerch': YUGNIRO. 1996. - 27 p.

14. Мильштейн В.В. Осетроводство. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 151 с.
14. Mil'shtejn V.V. Osetrovodstvo. – М.: Legkaya i pishchevaya promyshlennost', 1982. – 151 p.
15. Патент № 2500101 Российская Федерация, МПК А01К 61/00 (2006.01). Способ воспроизводства осетровых рыб: № 2012139088/13 : заявл. 13.09.2012 : опубл. 10.12.2013 / Бубунец Э.В., Лабенец А.В., Жигин А.В.; – 7 с.
15. Patent № 2500101 Rossijskaya Federaciya, MPK A01K 61/00 (2006.01). Sposob vosproizvodstva osetrovyyh ryb: № 2012139088/13 : zayavl. 13.09.2012 : opubl. 10.12.2013 / Bubunec E.V., Labenec A.V., Zhigin A.V.; – 7 p.
16. Патент № 2695862 Российская Федерация, МПК А61D 19/04 (2006.01) Способ введения шупа при отборе проб (биопсии) гонад вырезуба *Rutilus frisii frisii* : № 2018134950 заявл. 04.10.2018 : опубл. 29.07.2019 / Мышкин А.В.; – 7 с.
16. Patent № 2695862 Rossijskaya Federaciya, MPK A61D 19/04 (2006.01) Sposob vvedeniya shchupa pri otbore prob (biopsii) gonad vyrezuba *Rutilus frisii frisii* : № 2018134950 zayavl. 04.10.2018 : opubl. 29.07.2019 / Myshkin A.V.; – 7 p.
17. Патент № 2708156 Российская Федерация, МПК А01К 61/00 (2006.01). Устройство для определения состояния ооцитов и стадии зрелости гонад у осетрообразных и карповых рыб: № 2019105326 : заявл. 08.06.2018 : опубл. 04.12.2019 / Бубунец Э.В., Новосадов А.Г., Жигин А.В., Лабенец А.В.; – 9 с.
17. Patent № 2708156 Rossijskaya Federaciya, MPK A01K 61/00 (2006.01). Ustrojstvo dlya opredeleniya sostoyaniya oocitov i stadii zrelosti gonad u osetroobraznyh i karpovyh ryb: № 2019105326 : zayavl. 08.06.2018 : opubl. 04.12.2019 / Bubunec E.V., Novosadov A.G., Zhigin A.V., Labenec A.V.; – 9 p.
18. Решетников С.И. Метод прижизненного определения степени зрелости гонад у белого толстолобика / С.И. Решетников // Селекция рыб. – М.: ВО Агропромиздат. 1989. – С. 151-163.
18. Reshetnikov S.I. Metod prizhiznennogo opredeleniya stepeni zrelosti gonad u belogo tolstolobika / S.I. Reshetnikov // Selekcija ryb. – М.: VO Agropromizdat. 1989. – Pp. 151-163.
19. Руководство по биотехнике разведения и выращивания дальневосточных растительноядных рыб / А.М. Багров, А.К. Богерук, Б.В. Веригин и др., (Виноградов В.К. ред.). – Санкт-Петербург: ООО «ИП Комплекс», 2000. – 212 с.
19. Rukovodstvo po biotekhnike razvedeniya i vyrashchivaniya dal'nevostochnyh rastitel'noyadnyh ryb / A.M. Bagrov, A.K. Bogeruk, B.V. Verigin i dr., (Vinogradov V.K. red.). - Sankt-Peterburg: OOO «IP Kompleks», 2000. – 212 p.
20. Руководство по разведению и выращиванию веслоноса / Е.А. Мельченков, В.К. Виноградов, Л.В. Ерохина. – М.: ВНИИПРХ, 1997. – 88 с.
20. Rukovodstvo po razvedeniyu i vyrashchivaniyu veslonosa / E.A. Mel'chenkov, V.K. Vinogradov, L.V. Erohina. - M.: VNIIPRH, 1997. – 88 p.
21. Сборник инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах. – М., 1986. – С. 31-32.
21. Sbornik instrukcij i normativno-metodicheskikh ukazanij po promyshlennomu razvedeniyu osetrovyyh ryb v Kaspiskom i Azovskom bassejnah. - M., 1986. – Pp. 31-32.
22. Сим До Тхек Практическое пособие по заводскому разведению сазана и карпа / Сим До Тхек. – М.: ВНИРО, 1991. – 229 с.
22. Sim Do Thek Prakticheskoe posobie po zavodskomu razvedeniyu sazana i karpa / Sim Do Thek. - M.: VNIRO, 1991. – 229 p.
23. Смольянов, И.И. Технология формирования и эксплуатации маточного стада сибирского осетра в тепловодных хозяйствах / И.И. Смольянов. – М.: ВНИИПРХ, 1987. – 33 с.
23. Smolyanov, I.I. Tekhnologiya formirovaniya i ekspluatcii matochnogo stada sibirskogo osetra v teplovodnyh hozyajstvah / I.I. Smolyanov. - M.: VNIIPRH, 1987. – 33 p.
24. Технологии и нормативы по товарному осетроводству в VI рыбководной зоне / Под ред. Н.В. Судаковой. – М.: ВНИРО, 2006. – 100 с.
24. Tekhnologii i normativy po tovarnomu osetrovodstvu v VI rybovodnoj zone / Pod red. N.V. Sudakovoj. - M.: VNIRO, 2006. – 100 p.
25. Технология выращивания северюги (*Acipenser stellatus*) в промышленных условиях / Э.В. Бубунец, Е.И. Шишанова, А.В. Лабенец и др. – М.: РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2010. – 62 с.
25. Tekhnologiya vyrashchivaniya severyugi (*Acipenser stellatus*) v industrial'nyh usloviyah / E.V. Bubunec, E.I. SHishanova, A.V. Labenec i dr. - M.: RGAU-MSKHA im. K.A. Timiryazeva, 2010. – 62 p.
26. Технология полноциклического культивирования белуги (*Huso huso* L.) для резервирования генетических ресурсов вида и рациональной коммерческой эксплуатации / А.В. Лабенец, Э.В. Бубунец, Е.И. Шишанова и др. – М.: «Перо», 2018. – 72 с.
26. Tekhnologiya polnociklichnogo kul'tivirovaniya belugi (*Huso huso* L.) dlya rezervirovaniya geneticheskikh resursov vida i racional'noj kommercheskoj ekspluatcii / A.V. Labenec, E.V. Bubunec, E.I. SHishanova i dr. - M.: «Pero», 2018. – 72 p.
27. Технология полноциклического культивирования русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) для сохранения генофонда и товарного выращивания / А.В. Лабенец, Э.В. Бубунец, Е.И. Шишанова и др. – М.: Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2012. – 83 с.
27. Tekhnologiya polnociklichnogo kul'tivirovaniya russkogo osetra (*Acipenser gueldenstaedtii*) dlya sohraneniya genofonda i tovarnogo vyrashchivaniya / A.V. Labenec, E.V. Bubunec, E.I. SHishanova i dr. – M.: Izdatel'stvo RGAU-MSKHA imeni K.A. Timiryazeva, 2012. – 83 p.
28. Технология получения и выращивания гибрида сибирского осетра (*Acipenser baerii*) и белуги (*Huso huso*) / А.Г. Новосадов, А.В. Лабенец, Е.И. Шишанова и др. – М.: Изд-во Россельхозакадемии, 2008. – 37 с.
28. Tekhnologiya polucheniya i vyrashchivaniya gibrida sibirskogo osetra (*Acipenser baerii*) i belugi (*Huso huso*) / A.G. Novosadov, A.V. Labenec, E.I. SHishanova i dr. - M.: Izd-vo Rossel'hozakademii, 2008. – 37 p.
29. Технология формирования и эксплуатации маточных стад сибирского осетра в условиях промышленных тепловодных хозяйств / В.К. Виноградов, Н.А. Козовкова, В.И. Кушниров и др. // Сборник науч.-технол. и метод. документации по аквакультуре. – 2001. – М.: Изд-во ВНИРО. – С. 185-197.
29. Tekhnologiya formirovaniya i ekspluatcii matochnyh stad sibirskogo osetra v usloviyah industrial'nyh teplovodnyh hozyajstv / V.K. Vinogradov, N.A. Kozovkova, V.I. Kushnirov i dr. // Sbornik nauch.-tekhnol. i metod. dokumentacii po akvakul'ture. - 2001. - M.: Izd-vo VNIRO. - S. 185-197.
30. Товарное осетроводство / Е.И. Хрусталева, Т. М. Курапова, Э.В. Бубунец и др. – СПб.: Издательство "Лань", 2016. – 300 с.
30. Tovarnoe osetrovodstvo / E.I. Hrustaleva, T. M. Kurapova, E.V. Bubunec i dr. – SPb.: Izdatel'stvo "Lan", 2016. – 300 s.
31. Трусов, В.З. Метод определения степени зрелости половых желёз самок осетровых / В.З. Трусов // Рыбное хозяйство. – 1964. – № 1. – С. 26-28.
31. Trusov, V.Z. Metod opredeleniya stepeni zrelosti polovyyh zhelyoz samok osetrovyyh / V.Z. Trusov // Rybnoe hozyajstvo. - 1964. - № 1. - S. 26-28.
32. Хрисанфов, В.Е. Состояние и перспективы работы по искусственному воспроизводству сахалинского осетра / В.Е. Хрисанфов, Е.Б. Лебедева, А.В. Лабенец // Матер. междунар. конф. «Зоокультура и биологические ресурсы» (Москва, 4-6 февраля 2004 г.) – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – С. 61-64.
32. Hrisanfov, V.E. Sostoyanie i perspektivy raboty po iskusstvennomu vosproizvodstvu sahalinskogo osetra / V.E. Hrisanfov, E.B. Lebedeva, A.V. Labenec // Mater. medunar. konf. «Zookul'tura i biologicheskie resursy» (Moskva, 4-6.02.2004) - M.: Tovarishchestvo nauchnyh izdanij KMK, 2005. – Pp. 61-64.
33. Чебанов, М.С. Ультразвуковая диагностика осетровых рыб / М.С. Чебанов, Е.В. Галич. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. – 135 с.
33. Shebanov, M.S. Ul'trazvukovaya diagnostika osetrovyyh ryb / M.S. Shebanov, E.V. Galich. - Krasnodar: Prosveshchenie-Yug, 2010. – 135 p.
34. Чебанов, М.С. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб / М.С. Чебанов, Е.В. Галич. – Анкара: ФАО, 2013. – 325 с.
34. Shebanov, M.S. Rukovodstvo po iskusstvennomu vosproizvodstvu osetrovyyh ryb / M.S. Shebanov, E.V. Galich. - Ankara: FAO, 2013. – 325 p.
35. Экспресс-метод определения степени зрелости гонад у производителей осетровых / Б.Н. Казанский, Ю.А. Феклов, С.Б. Подушка, А.Н. Молодцов // Рыбное хозяйство. – 1978. – № 2. – С. 24-27.
35. Ekspress-metod opredeleniya stepeni zrelosti gonad u proizvoditelej osetrovyyh / B.N. Kazanskij, YU.A. Feklov, S.B. Podushka, A.N. Molodcov // Rybnoe hozyajstvo. - 1978. - № 2. – Pp. 24-27.