
AQUATIC SCIENCES AND FISHERIES

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2022.28.8.014>

Kryuchkov V.N.^{1*}, Tomokala B.P.², Egorova V.I.³

^{1,2,3} Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia

* Corresponding author (kvn394[at]ramdler.ru)

Received: 04.12.2022; Accepted: 06.12.2022; Published: 19.12.2022

THE EFFECT OF HYPOXIA ON THE CONDITION OF RED-CLAWED CRAYFISH IN POND CULTIVATION

Research article

Abstract

Oxygen deficiency is a significant factor in the cultivation of crayfish. The histological structure of hepatopancreas and non-specific immunity in red-clawed crayfish (*Cherax quadricarinatus*) with hypoxia were studied. The crayfish were kept in a normal environment at 6.0-7.0 mg/L oxygen content in the water and at oxygen deficiency (1.0-2.5 mg/L). Histopathological examination showed that the effect of hypoxia led to swelling and hepatocyte vacuolation and disruption of the architectonics of hepatopancreas. There was a decrease in the number of hemocytes in the hemolymph during hypoxia. A simultaneous decrease in the activity of hemolymph lysozyme was detected.

Thus, our research shows that hypoxia causes pathological changes in the hepatopancreas, and also changes the immune status in *C. quadricarinatus*.

Keywords: hypoxia, non-specific immunity, hepatopancreas, red-clawed crayfish.

Крючков В.Н.^{1*}, Томокала Б.П.², Егорова В.И.³

^{1,2,3} Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия

* Корреспондирующий автор (kvn394[at]ramdler.ru)

Получена: 04.12.2022; Доработана: 06.12.2022; Опубликована: 19.12.2022

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА СОСТОЯНИЕ КРАСНОКЛЕШНЁВЫХ РАКОВ ПРИ ПРУДОВОМ ВЫРАЩИВАНИИ

Научная статья

Аннотация

Дефицит кислорода является значимым фактором при культивировании раков. Были исследованы гистологическая структура гепатопанкреаса и неспецифический иммунитет у красноклещнёвого рака (*Cherax quadricarinatus*) при гипоксии. Раки содержались в нормальной среде при содержании кислорода в воде 6,0-7,0 мг/л и при дефиците кислорода (1,0-2,5 мг/л). Гистопатологическое исследование показало, что воздействие гипоксии приводило к набуханию и вакуолизации гепатоцитов и нарушению архитектоники гепатопанкреаса. Отмечено уменьшение количества гемоцитов в гемолимфе при гипоксии. Показано одновременное снижение активности лизоцима гемолимфы.

Таким образом, наше исследование показывает, что гипоксия вызывает патологические изменения в гепатопанкреасе, а также изменяет иммунный статус у *C. quadricarinatus*.

Ключевые слова: гипоксия, неспецифический иммунитет, гепатопанкреас, красноклещнёвый рак.

1. Введение

Многолетние усилия по развитию аквакультуры речных раков родов *Astacus* и *Pontastacus* были направлены на восстановление численности природных популяций раков, кроме того, были разработаны ряд технологий товарного выращивания, но ни один до настоящего времени не реализован в России в промышленном режиме [1], [10]. Основные биологические особенности аборигенных европейских речных раков – низкий темп роста, малая плодовитость, высокая требовательность к условиям содержания, неизбежно сопровождаются большими производственными затратами при низкой эффективности выращивания и слабой окупаемости.

Работы по изучению биологии и поиску технологических решений разведения и выращивания австралийского рака в России ведутся, в частности, в Астраханской области, где климатические условия позволяют осуществлять

товарное выращивание тропических раков в летнее время в рыбоводных прудах различных категорий [4], [5]. Товарное выращивание австралийского рака в условиях юга России возможно в открытых прудах в течение 3,5-4 месяцев, за это время раки достигают товарной массы при выживаемости более 90%.

Культивирование красноклешнёвого рака *Cherax quadricarinatus* получает всё большее распространение, существующие биотехнологии позволяют осуществлять товарное выращивание с достаточным уровнем рентабельности, тем не менее, ряд вопросов всё ещё требуют своего разрешения. Аквакультура тропических раков сталкивается с рядом проблем, включая последствия при воздействии технологических факторов выращивания, в результате чего могут снижаться конечные биологические и коммерческие показатели.

Наиболее простым показателем оценки устойчивости организма к негативным внешним воздействиям является выживаемость. Однако зачастую повышенная смертность гидробионтов, особенно обладающих высокой толерантностью к факторам среды, проявляется только при экстремальных внешних воздействиях. В то же время, хронический стресс зачастую опаснее острого воздействия. Особенностью реагирования на острый и хронический стресс является то, что при остром воздействии обычно выявляются только функциональные изменения в организме, который достаточно быстро возвращается к норме после снятия стрессового воздействия. Иная картина наблюдается при хроническом стрессе, когда во внутренних органах развиваются стойкие морфологические нарушения, зачастую полностью исключающие возможность восстановления организма.

Одним из информативных методов, позволяющим получить объективную информацию о состоянии организма, является морфогистологический метод. Можно отметить, что гистология беспозвоночных разрабатывается в меньшей степени по сравнению с аналогичными исследованиями на позвоночных животных, а обобщающие труды по этим разделам гистологии очень немногочисленны. В доступной литературе содержатся только общие сведения о гистологическом строении различных тканей, органов и систем ракообразных, либо освещены частные прикладные вопросы [7], [8], [16].

Способность гидробионтов адаптироваться и, следовательно, выживать, зависит от того, насколько нормально функционируют основные гомеостатические системы. Общая или неспецифическая резистентность относится к числу интегральных функциональных характеристик организма и является показателем его устойчивости к различным воздействиям. Резистентность – это итог адаптивных реакций, нацеленных на выполнение важнейшей задачи по поддержанию структурного и функционального гомеостаза организма. Обеспечивают резистентность в том числе и механизмы неспецифической защиты от патогенов, к которым, в частности, относятся фагоцитарная активность гемоцитов, а также ряд субстанций, которые способствуют бактерицидному действию.

Таким образом, целью данного исследования было изучение морфологического состояния гепато-панкреаса и некоторых показателей гемолимфы австралийского красноклешнёвого рака в условиях искусственного культивирования.

2. Методы

Работы проводились на научно-производственной базе малого инновационного предприятия ООО «Эко-тропик», созданного при участии Астраханского государственного технического университета.

Объектом исследования был австралийский красноклешнёвый рак *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868). Зимой животные содержались в установках замкнутого водоснабжения, где происходило размножение и накапливание молоди для последующего выращивания в прудах различной конструкции.

Для анализа отбирались раки из тепличных прудов, в которых условия существенно различались между собой, прежде всего по кислородному режиму.

2.1. Гематологический анализ

Гемолимфу отбирали путём пункции вентрального синуса, в шприц добавляли равный объём антикоагулянта (лимоннокислый натрий). Общее число гемоцитов (ОЧГ) подсчитывали в нативной гемолимфе в камере Горяева.

2.2. Иммунологический анализ

Образцы гемолимфы центрифугировали при 800g течение 10 мин, надосадочную сыворотку немедленно замораживали при температуре – 250°C и хранили для последующего анализа активности лизоцима. Лизоцим в гемолимфе определяли методом серийных разведений [3] по литическому действию на *Micrococcus lysodeiaticus*. Степень лизиса микрококков по сравнению с контролем определяли визуально. За титр лизоцима принимали разведение материала, которое вызывало наибольшее просветление среды. Активность лизоцима выражали в условных единицах.

Для определения активности фагоцитоза после центрифугирования гемолимфы клетки ресуспензировали в изотоническом растворе NaCl. Фагоцитарная активность гемоцитов оценивалась по активности в них неферментных лизосомально-катионных белков.

Определение неферментных катионных белков проводили окраской мазков из взвеси гемоцитов красителем зелёный прочный [6]. Внутриклеточное содержание катионных белков вычисляли в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по формуле (1):

$$\text{СЦК} = (0n_1 + 0,5n_2 + 1,0n_3 + 1,5n_4 + 2,0n_5)/N \quad (1)$$

где $N = \sum n_i$,

n_i – количество клеток с определенной степенью окрашивания цитоплазмы.

Исследуемые клетки делились на пять групп по степени их фагоцитарной активности: степень 0 — гранулы катионного белка отсутствуют; степень 1 — единичные гранулы (0,5); степень 2 — гранулы занимают примерно 1/3 цитоплазмы (1,0); степень 3 — гранулы занимают 1/2 цитоплазмы и более (1,5); степень 4 — вся цитоплазма окрашена в зелёный цвет (2,0).

2.3. Гистологический анализ

Гистологический анализ проводился общепринятыми методами [9]. Раки были обездвижены в холодной воде, после удаления хитинного покрова гепатопанкреас фиксировался раствором Буэна. Подготовка проб производилась по обычной схеме – проводка через спирты возрастающей концентрации (70° -100°), заливка в парафиновые блоки. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивались гематоксилин-эозином по Гейденгайну, анализ и фотографирование серий микропрепаратов осуществляли на микроскопе «Микромед2 MC-2-Z00M вариант 2CR» при помощи цифровой фотокамеры «Sony» и видеоокуляра DCMC 510 Scope.

3. Результаты

3.1. Гистопатологический анализ

Осуществлён морфологический анализ гепатопанкреаса двух групп раков, отобранных из пруда с условиями, определёнными нами как нормальные, и из пруда, где образовался существенный дефицит кислорода, особенно в утренние часы (1,0-2,5 мг/л).

Гепатопанкреас – это парное образование, расположенное в головогрудь, дорсально от печени находятся половые железы и кровеносные сосуды, идущие от сердца. Снабжение гепатопанкреаса гемолимфой (кровоснабжение) осуществляется по двум крупным сосудам, которые идут от предсердия, затем разветвляются на более мелкие сосуды, последние, в свою очередь, делятся на капилляры.

Анализ препаратов показал, что снабжение гемолимфой гепатопанкреаса обследованных раков вне зависимости от условий их содержания было в пределах нормы, просветы идущих от предсердия сосудов были широкие, их диаметр был в среднем $9,8 \pm 2,2$ мкм, признаков стаза гемолимфы не обнаружено.

Протоки печени были равномерно расширены. Они обильно снабжены сосудами и имеют три оболочки: слизистую, мышечную и серозную. Все три оболочки имели типичное строение без признаков патологии. Из печени выходят два печеночных протока (диаметр каждого из них в самой широкой части составлял $0,3 \pm 0,01$ мкм и $0,9 \pm 0,2$ мкм), которые открываются в области перехода желудка в среднюю кишку. Их оболочка состоит из слоя кубического эпителия, лежащего на соединительнотканной пластинке, мышечного слоя и адвентициальной оболочки.

Морфологически каждая из двух долей печени состоит из многочисленных трубочек, которые образованы четырьмя типами клеток [2]. Проксимальная зона образована всасывающими клетками, которые накапливают жир и гликоген. Второй тип клеток – фибриллярные клетки, которые синтезируют пищеварительные ферменты и накапливают их в надъядерной вакуоле. Третий тип – пузырьвидные клетки, характеризующиеся крупной вакуолью.

Дистальные концы печеночных трубочек состоят из эмбриональных клеток с округлыми ядрами. У молодых раков в первые дни свободной жизни эти клетки еще можно наблюдать, однако на тех препаратах, которые были подвергнуты анализу в рамках выполнения данного исследования, этот четвёртый вид клеток нами не был отмечен.

У здоровых раков гепатопанкреас был красновато-коричневого цвета и имел плотную консистенцию. Исследование гистологических срезов показало, что гепатопанкреас контрольной группы животных, которые содержались в течение всего периода наблюдений в адекватных условиях, содержал полностью сформированные печеночные каналцы в компактном расположении и полностью развитый звездообразный просвет, клетки эпителия были вакуолизированы, что можно оценивать как свидетельство активного метаболизма в гепатопанкреасе (рис. 1А).

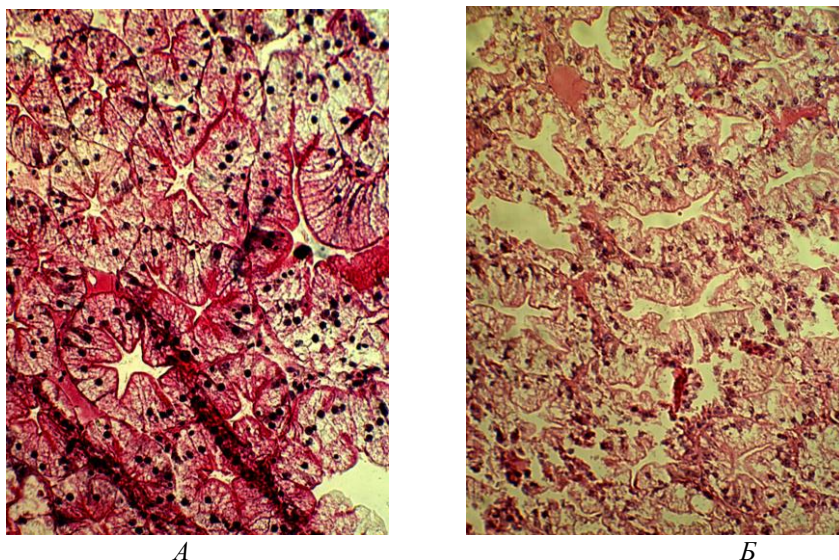


Рис.1 – Гепатопанкреас австралийского рака:

А – Гепатопанкреас контрольной группы; Б – Изменённый гепатопанкреас в результате воздействия гипоксии

Примечание: увеличение в 200 раз. Окраска гематоксилин-эозином

Анализ гепатопанкреаса раков из «неблагополучного» пруда показал, что орган увеличен, имеет дряблую консистенцию, серо-зеленоватого цвета. На тканевом уровне отмечено разрушение миоэпителия, почти полное исчезновение звездчатой структуры гепатопанкреаса, в звездообразных просветах можно было наблюдать деструктурированную ткань (рис. 1Б). Кроме того, наблюдалась инфильтрация пространства между печеночными канальцами гематоцитами. В некоторых зонах отмечалось отсутствие секреции фермента, а стенки трубочек гепатопанкреаса спавшие. Высота выстилающего их эпителия существенно ниже, чем у раков, которые мы отнесли к здоровым.

В этой же серии препаратов можно было найти такие участки гепатопанкреаса, где выявлялась выраженная граница между участками с деградирующими печеночными трубочками к участкам с признаками гиперсекреции. Это следует считать благоприятным признаком. Полагаем, что это компенсаторная реакция, когда «здоровые» участки гепатопанкреаса берут на себя функцию тех, где отмечается недостаточная функциональная активность.

3.2. Показатели, связанные с гуморальным и клеточным иммунитетом

Результаты определения иммунных факторов, связанных с гемолимфой (таблица 1), показали различные тенденции.

Таблица 1 – Гематологические показатели раков

Показатель	Клинически здоровые особи	Раки после гипоксии
Общее число гемоцитов (ОЧГ), /мкл	312±22,5	229±13,6
СЦК, ед.	0,75 ± 0,04	0,82±0,06
Лизоцим, усл.ед	4,5±0,55	3,6±0,89

4. Обсуждение и выводы

Опытно-промышленное выращивание австралийских раков в ООО «Эко-тропик» осуществлялось, в том числе в небольших тепличных прудах площадью 200 м² каждый. Летом покрытие теплицы убиралось, после чего пруд использовался в обычном режиме. Для предотвращения фильтрации воды было обустроено водонепроницаемое ложе. Эксперимент сложился стихийно. В результате аварии на насосной станции водоподача в один из прудов была затруднена, уровень воды резко упал. Высокая температура и сильная зарастаемость зеркала пруда макрофитами привели к заморным явлениям, содержание кислорода в воде, особенно в утренние часы, было экстремально низким (1,0-2,5 мг/л). Раки реагировали на снижение кислорода, собираясь возле уреза воды, частично вылезая на дамбу. Полностью покинуть водоём они не могли, т.к. склон дамбы был застелен полиэтиленом. При этом полагаем, что наряду с гипоксией раки испытывали воздействие атмосферного воздуха.

В ряде ранее выполненных исследований показано, что воздействие воздуха может вызвать серьезные метаболические и респираторные расстройства у ракообразных [11], [14]. Yao-Peng Lu с соавторами [16] однозначно указывают на роль воздушного стресса при развитии патологии гепатопанкреаса.

Гепатопанкреас десятиногих раков – орган, не имеющий аналогов и позвоночных, выполняет целый ряд функций. Во-первых, роль гепатопанкреаса как пищеварительной железы существенно отличается от таковой у позвоночных животных. С одной стороны, печень (гепатопанкреас) вырабатывает пищеварительные ферменты, но кроме ферментативной функции в ней происходят основные процессы полостного пищеварения, не только расщепления поступающих веществ, но и всасывания низкомолекулярных соединений. При этом значение кишечника раков для полостного пищеварения гораздо меньше, чем у позвоночных животных. Поступающая из желудка жидкая и полужидкая пища в печени расщепляется, частично всасывается и запасается. Т.е. ещё одна важная функция гепатопанкреаса – это отложение в запас веществ, необходимых организму в случае прекращения питания, например, сразу после линьки, когда сбрасывается не только наружный покров, но и элементы верхних и нижних челюстей, и рак на некоторое время не способен на захват и перемалывание пищи.

Помимо упомянутого, клетки печени рака способны к фагоцитозу, захватывая мелкие частицы пищи. Вероятно, фагоцитоз в гепатопанкреасе несёт также защитные функции, по аналогии с фагоцитозом в печени позвоночных, который осуществляется купферовскими клетками. И, наконец, как и у позвоночных, печень раков осуществляет общеорганизменные метаболические функции.

Все эти особенности органа, свидетельствующие о его исключительной важности, заставляют обратить особое внимание именно на гепатопанкреас при оценке состояния организма раков. Гистопатологические и ультраструктурные наблюдения в различных органах ракообразных являются полезными инструментами для характеристики состояния здоровья гидробионтов [12].

Неспецифическая иммунная система, как правило, чувствительна к острым воздействиям окружающей среды [14]. Неферментные лизосомально-катионные белки, наряду с фосфатазами, являются ключевыми факторами в лизосомах и, как известно, играют жизненно важную роль в стимулировании биологических процессов водных животных. Они также служат важными индикаторами для оценки иммунной системы и экологического стресса у водных животных [15].

Лизоцим играют важную роль в борьбе с микробной инвазией ракообразных. Наши результаты показали, что по сравнению с контролем, гипоксия способна снижать активность лизоцима, что может иметь последствия для выживаемости раков в случае сочетанного действия различных факторов, например, экстремальные погодные условия в сочетании с инфекцией.

По результатам проведённых исследований можно сделать следующие выводы:

1. Анализ препаратов печени внешне здоровых раков показал, что гипоксия в сочетании с высокой температурой вызывает нарушения в структуре гепатопанкреаса, которые неизбежно сказываются на его функции. Одновременно наблюдались компенсаторные процессы, способствовавшие успешному выживанию раков, несмотря на экстремальные условия.

2. Рассмотренные показатели неспецифической иммунной защиты могут служить индикаторами условий культивирования австралийских раков в условиях умеренного климата.

Conflict of Interest

None declared.

Конфликт интересов

Не указан.

References

1. Александрова Е.Н. Перспективы по восстановлению и развитию рачного хозяйства России / Е.Н. Александрова // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2016. – № 2. – С. 7–12.
2. Вельш У. Введение в цитологию и гистологию животных / У. Вельш, Ф. Шторк. – М. : Мир, 1976. – 259 с.
3. Генералова Л.П. Методика определения лизоцима жидкостно-гелевым способом / Л.П. Генералова, О.В.Ситнова. – М. : ВНИИПРХ, 1994. – С. 3.
4. Крючков В.Н. Проблема экологической безопасности при внедрении в аквакультуру тропических видов / В.Н. Крючков, А.И. Хорошко // Международная отраслевая научная конференция профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета, посвященная 80-летию основания Астраханского государственного технического университета – АГТУ (54 ППС). – Астрахань : Изд-во АГТУ, 2010. – С. 45.
5. Лагуткина Л. Ю. Новый объект тепловодной аквакультуры – австралийский красноклешневый рак (*Cherax quadricarinatus*) / Л.Ю. Лагуткина, С. В. Пономарев // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. – 2008. – № 6 (47). – С. 220–223.
6. Макаревич Н.А. Лизосомально-катионный тест для оценки резистентности организма крупного рогатого скота / Н.А. Макаревич // Ветеринария. – 1988. – №5. – С. 26–28.
7. Пономарев А.К. Гистологический и гистохимический анализ гаметогенеза и состояния гепатопанкреаса у *Procambarus clarkii* при различных вариантах кормления : дис. ... канд. биол. наук / Пономарев Андрей Константинович. – М., 2003. – 120 с.
8. Пронина Г.И. Регенерация гепатопанкреаса речного рака после трансплантации клеток костного мозга мышей-доноров / Г.И. Пронина, Н.Ю. Корягина, А.О. Ревякин и др. // Биомедицина. – № 2. – 2015. – С. 53–57.
9. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. – М. : Иностранная литература, 1953. – 720 с.
10. Черкашина Н.Я. Сборник инструкций по культивированию раков и динамике их популяций / Н.Я. Черкашина. – Ростов-на-Дону : ООО «Медиа Полис», 2007. – 117 с.
11. Allen B.J. Size-dependent temperature and desiccation constraints on performance capacity: implications for sexual selection in a fiddler crab / B.J. Allen, B. Rodgers, Y. Tuan et al. – J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 2012. – № 438. – P. 93–99.
12. Chiodi Boudet, L.N. His-topathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium in white shrimp, *Palae-monetes Argentines* / L.N. Chiodi Boudet, P. Polizzi, M.B. Romero et al. // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2015. – № 113. –P. 231–240.
13. Haupt P. Effects of exposure to air on the escape behav-iour and haemolymph chemistry of the South African Cape lobster, *Jasus lalandii* / P. Haupt, S.L. Brouwer, G.M. Branch et al. // Fish. Res. – 2006. – № 81. – P. 210–218.
14. Li Y.Y. CqToll participates in antiviral response against white spot syndrome virus via induction of antilipoplysaccharide factor in red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* / Y.Y. Li, X.X. Chen, F.Y. Lin et al. // Dev. Comp. Immunol. –2017. – № 74. – P. 217–226.
15. Sarlin P.J. Efficacy of marine yeasts and baker's yeast as immunostimulants in *Fen-neropenaeus indicus*: a comparative study / P.J. Sarlin, R. Philip // Aquaculture – 2011. – № 321. – P. 173–178.
16. Yao-Peng Lu. Effects of air exposure on survival, histological structure, non-specific immunity and gene expression of red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) / Lu Yao-Peng, Zhang Xiu-Xia, Zheng Pei-Hua et al. // Aquaculture Reports – № 21. – 2021.

References in English

1. Alexandrova E.N. Perspektivy po vosstanovleniyu i razvitiyu rachnogo hozyajstva Rossii [Prospects for the restoration and development of the Russian cancer economy] / E.N. Alexandrova // Rybovodstvo i rybnoe ho-zyajstvo [Fish farming and fisheries]. – 2016. – No. 2. – P. 7-12 [in Russian]
2. Welsh U. Vvedenie v citologiyu i gistologiyu zhitovnyh [Introduction to cytology and histology of animals] / U. Welsh, F. Storkh. – М. : Mir, 1976. – 259 p. [in Russian]
3. Generalova, L.P. Metodika opredeleniya lizocima zhidkostno-gelevym sposobom [Methodology for de-termining lysozyme by liquid-gel method] / L.P. Generalova, O.V. Sitnova. – М. : VNIIPRH, 1994. – P. 3 [in Russian]
4. Kryuchkov V.N. Problema ekologicheskoy bezopasnosti pri vnedrenii v akvakul'turu tropicheskikh vidov [The problem of environmental safety when introducing tropical species into aquaculture] / V.N. Kryuchkov, A.I. Horoshko // Mezhdunarodnaya otraslevaya nauchnaya konferenciya professorsko-prepodavatel'skogo sostava Astrahanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta, posvyashchennaya 80-letiyu osnovaniya Astra-hanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta [International branch scientific conference of the faculty of Astrakhan State Technical University

dedicated to the 80th anniversary of the founding of Astrakhan State Technical University] – ASTU (54 PPS). – Astrakhan: Publishing House of ASTU, 2010. – P. 45 [in Russian]

5. Lagutkina L. Yu. Novyj ob'ekt teplovodnoj akvakul'tury - avstralijskij krasnokleshnevyj rak (*Cherax quadricarinatus*) [A new object of warm-water aquaculture is the Australian red-clawed crayfish (*Cherax quadricarinatus*)] / L.Yu. Lagutkina, S. V. Ponomarev // Vestnik AGTU. Ser.: Rybnoe hozyajstvo [Bulletin of the AGTU. Ser.: Fisheries]. – 2008. – № 6 (47). – P. 220–223 [in Russian]

6. Makarevich N.A. Lizosomal'no-kationnyj test dlya ocenki rezistentnosti organizma krupnogo rogatogo skota [Lysosomal-cation test for assessing the resistance of the body of cattle] / N.A. Makarevich // Veterinariya [Veterinary Medicine]. – 1988. – No. 5. – P. 26-28 [in Russian]

7. Ponomarev A.K. Gistologicheskij i gistohimicheskij analiz gametogeneza i sostoyaniya gepatopankreasa u *Rhosamvarus clarkii* pri razlichnyh variantah kormleniya [Histological and histochemical analysis of gametogenesis and the state of hepatopancreas in *Rhosamvarus clarkii* with various feeding options] : dis. ... for PhD in Biology / Ponomarev Andrey Konstantinovich – M., 2003. – 120 p. [in Russian]

8. Pronina G.I. Regeneraciya gepatopankreasa rechnogo raka posle transplantacii kletok kostnogo mozga myshej-donorov [Regeneration of hepatopancreas of river cancer after transplantation of bone marrow cells of donor mice] / G.I. Pronina, N.Yu. Koryagina, A.O. Revyakin et al. // Biomedecina [Biomedicine]. – No. 2. – 2015. – P. 53-57 [in Russian]

9. Romais B. Mikroskopicheskaya tekhnika [Microscopic technique] / B. Romais. – Moscow : Foreign Literature, 1953. – 720 p. [in Russian]

10. Cherkashina N.Ya. Sbornik instrukcij po kul'tivirovaniyu rakov i dinamike ih populyacij [Collection of instructions on the cultivation of crayfish and the dynamics of their populations] / N.Ya. Cherkashina. – Rostov-on-Don : Media Policy LLC, 2007. – 117 p. [in Russian]

11. Allen B.J. Size-dependent temperature and desiccation constraints on performance capacity: implications for sexual selection in a fiddler crab / B.J. Allen, B. Rodgers, Y. Tuan et al. – J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 2012. – № 438. – P. 93–99.

12. Chiodi Boudet, L.N. Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium in white shrimp, *Palaeomonetes Argentinus* / L.N. Chiodi Boudet, P. Polizzi, M.B. Romero et al. // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2015. – № 113. – P. 231–240.

13. Haupt P. Effects of exposure to air on the escape behaviour and haemolymph chemistry of the South African Cape lobster, *Jasus lalandii* / P. Haupt, S.L. Brouwer, G.M. Branch et al. // Fish. Res. – 2006. – № 81. – P. 210–218.

14. Li Y.Y. CqToll participates in antiviral response against white spot syndrome virus via induction of antilipopolysaccharide factor in red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* / Y.Y. Li, X.X. Chen, F.Y. Lin et al. // Dev. Comp. Immunol. – 2017. – № 74. – P. 217–226.

15. Sarlin P.J. Efficacy of marine yeasts and baker's yeast as immunostimulants in *Fenneropenaeus indicus*: a comparative study / P.J. Sarlin, R. Philip // Aquaculture – 2011. – № 321. – P. 173–178.

16. Yao-Peng Lu. Effects of air exposure on survival, histological structure, non-specific immunity and gene expression of red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) / Lu Yao-Peng, Zhang Xiu-Xia, Zheng Pei-Hua et al. // Aquaculture Reports – № 21. – 2021.