

УДК: 615.31:577.118:612.6:639.3.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.112

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОМИНАРАЛЬНОГО ХЕЛАТНОГО КОМПЛЕКСА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМОК И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ИКРЫ *Danio rerio*

Полистовская П.А. – канд. биол. наук., доц. кафедры биохимии и физиологии; Карпенко Л.Ю. – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; Махнин И.А.* – асп., асс. кафедры биохимии и физиологии; Ажикина О.Ю. – асп.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*ilya.makh@mail.ru

Ключевые слова: хелатные соединения, *Danio rerio*, икра, репродукция, аквакультура, токсикология

Keywords: chelated compounds, *Danio rerio*, caviar, reproduction, aquaculture, toxicology

Благодарность: Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда 23-76-01042, <https://rscf.ru/project/23-76-01042/>

Поступила: 15.02.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Danio rerio является популярным модельным организмом, применяемым в различных областях научных исследований, включая аквакультуру. Использование *Danio rerio* токсикологических исследований препаратов, перспективных для применения в аквакультуре, позволяет снизить затраты поголовья промысловых рыб на нужды экспериментов. Целью исследования была оценка влияния органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию самок и выживаемость икры *Danio rerio*. Исследовали органоминеральный хелатный комплекс (ООО "ЮПИТЕР", Россия). Действующая основа биологически активной добавки (далее БАД): комплекс этилендиаминдипикриновой кислоты и лизина с микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Рыбам опытных групп в течение 30-ти дней задавали добавку, данные сравнивали с контролем. Препарат задавали вместе с кормом один раз в день, в 3-х различных концентрациях (0,25 г/л, 0,125 г/л, 0,0625 г/л). Оценивали массу самок в начале и конце эксперимента, общее количество икринок (от каждой самки за нерест), количество икринок в 1 г, выживаемость икринок, диаметр икринок и длину личинок 5 dfr (пять дней после оплодотворения). Для получения икры родительские пары ссаживали в нерестовые отсадники и оставляли на 12 часов. Эффективность органоминерального хелатного комплекса наблюдалась при использовании его в дозировке 0,25 г/л. Применение комплекса в течение 30 дней приводило к увеличению массы самок и массы икринок, а также количества икринок за нерест. Важно отметить и то, что применение препарата не оказало достоверного влияния на выживаемость икры, диаметр икринок и длину личинки. Усиление репродуктивной функции и увеличение размеров самок *Danio rerio* можно объяснить влиянием компонентов органоминерального хелатного комплекса на протекание биохимических реакций в организме рыб.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В условиях интенсивного развития аквакультуры, необходимо совершенствовать технологии содержания и репродукции, что позволит повышать эффективность рыбоводных предприятий [1]. Активное развитие аквакультуры РФ сдерживается рядом причин, важнейшая из которых - отсутствие конкурентоспособных отечественных кормов [2]. Отсутствие сбалансированного кормления приводит к снижению эффективности и рентабельности рыбохозяйственных предприятий. Одним из способов повышения эффективности кормления в аквакультуре является внесение кормовых добавок [3,4]. По заявлению ряда авторов [5], на сегодняшний день, кормовые добавки, используемые в аквакультуре, обычно не проверяются на биобезопасность, поскольку считается, что их свойства можно определить по химическому составу или путем сравнения с аналогичными веществами. По этим причинам многие исследования эффективности кормовых добавок ограничиваются масса-размерными признаками. Эта формальная оценка не может обеспечить гарантированную безопасность и понимание механизмов действия препарата, в связи с чем необходимо проводить всестороннее исследование кормовых добавок [5]. *Danio rerio* является популярным модельным организмом, применяемым в различных областях научных исследований, включая аквакультуру. Преимуществами *Danio rerio* как экспериментальной модели являются небольшие размеры, высокий коэффициент рождаемости, недорогое содержание и быстрое развитие [6]. Таким образом в токсикологических исследованиях препаратов, перспективных для применения в аквакультуре, *Danio rerio* позволяют снизить затраты в виде поголовья промысловых рыб на нужды экспериментов. Цель работы: оценить влияние органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию самок и выживаемость икры *Danio rerio*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводилось на кафедре биохимии и физиологии ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины". Объектом исследования стали самки (n=80) *Danio rerio* (возраст 7 месяцев) дикого типа. Животные содержались в аквариумах, при интенсивности света 300–330 лк; фотопериод: 14 часов свет/10 часов темнота. Температура воды поддерживалась на уровне $28 \pm 0,5$ °C. Кормление взрослых особей осуществляли 3 раза в день (сухие гранулы корма Tetra Min Granules - ежедневно; 1 раз в три дня креветки (*Artemia* sp.)).

Исследовали органоминеральный хелатный комплекса (ООО "ЮПИТЕР", Россия). Действующая основа биологически активной добавки (далее БАД): комплекс этилендиаминдиантарной кислоты и лизина с микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Микроэлементный состав хелатного комплекса представлен в таблице 1.

Хелатный комплекс (многокомпонентная субстанция) представлял раствор темно-коричневого цвета, без запаха, хорошо растворимый в воде и нерастворимый в органических растворителях, pH раствора БАД - 6,3

Основной акцент исследования был сосредоточен на изучение влияния органоминерального хелатного комплекса на репродуктивные показатели и выживаемость икры. Рыбам опытных групп в течение 30-ти дней задавали добавку, данные сравнивали с контролем. Препарат задавали вместе с кормом один раз в день, в 3-х различных концентрациях (0,25 г/л, 0,125 г/л, 0,0625 г/л).

Оценивали массу самок в начале и конце эксперимента, общее количество икринок (от каждой самки за нерест), количество икринок в 1 г, выживаемость икринок, диаметр икринок и длину личинок 5 dfr (пять дней после оплодотворения) [7]. Для получения икры родительские пары ссаживали в нерестовые отсадники и оставляли на 12 часов [8]. Измерения личинок и рыб проводили, обездвигивая раствором MC-222 (50 мг/л - для

личинки; 75 мг/л - для взрослых рыб) [9].

Определение массы рыб и массы икринок проводили с помощью аналитических весов Госметр ВЛА-120М, Россия

Морфометрические исследования

(диаметр икры, длину личинки) проводили с использованием программы Screen-Meter 1.0. В качестве эталона-сравнения использовали морфометрическую линейку (MS-1-4 Micrometers Stage), при 1DIV=0,1 мм.

Таблица 1 – Микроэлементный состав исследуемого органоминерального хелатного комплекса

Микроэлемент	Содержание г/л
Железо	33,1
Марганец	6,7
Медь	3,4
Цинк	18,6
Кобальт	0,76
Селен	0,43
Йод	1,01
Общее количество (сумма) элементов	64

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведено исследование влияния органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию и выживаемость икры *Danio rerio*. Эксперимент проводили в течение 30 дней. Результаты применения органоминерального хелатного комплекса представлены в таблице 2.

Определена масса самок в начале эксперимента в контрольной группе - $0,48 \pm 0,02$ г и опытных группах $0,47 \pm 0,02$ г – для концентрации 0,250 г/л, $0,47 \pm 0,03$ г – для концентрации 0,125 г/л, $0,46 \pm 0,02$ г – для концентрации 0,0625 г/л. Измерения массы самок в конце эксперимента показали, что статистически достоверное различие (масса $0,56 \pm 0,01$ г) наблюдается при использовании органоминерального хелатного комплекса в дозировке 0,250 г/л.

Кроме того, анализ количества икринок в одном грамме показал, что применение органоминерального хелатного комплекса в дозировке 0,250 г/л приводит к достоверному снижению показателя ($942,0 \pm 7,56$ шт. в 1 г) в сравнении с контролем ($979,0 \pm 11,88$ шт. в 1 г). Также использование данной добавки в концентрации 0,250 г/л привело к увеличению количества икринок, выбрасываемых при нересте ($191 \pm 5,04$ шт.) в сравнении с кон-

тролем ($165 \pm 6,17$ шт.). Полученные данные свидетельствуют об увеличении массы икринок. Важно отметить и то, что применение органоминерального хелатного комплекса не оказало достоверного влияния на выживаемость икры, диаметр икринок и длину личинки.

Усиление репродуктивной функции и увеличение размеров самок *Danio rerio* можно объяснить влиянием компонентов органоминерального хелатного комплекса на протекание биохимических реакций в организме рыб. Известно, что селен (Se) необходим для функционирования иммунной, репродуктивной, сердечно-сосудистой, нервной систем [10]. Снижение поступления селена может приводить к развитию окислительного стресса, и как следствие к повреждению поджелудочной железы, дегенерации мышечных волокон, некрозам печени и почек, снижению темпов роста [10-12]. В ранее проведенных исследованиях, самки красной тиляпии, которые получали вместе с кормом селен имели более высокий вес внутренних органов (в т.ч. гонад) [13]. Авторы также отметили, что икра рыб получавших селен, имела больший диаметр, вес и объем [13].

Цинк (Zn) является кофактором многих металлопротеинов, влияет на рост и нормальное развитие организма [14]. Уве-

личение массы самок может быть связано с улучшением усвояемости белков и углеводов, обусловленным повышением активности карбоксипептидаз (ЕС 3.4.17.1; 3.4.17.2)[15-16]. Марганец (Mn) также входит в состав многих металлопротеинов, например супероксиддисмутаза (ЕС 1.15.1.1) Дефицит супероксиддисмутаза приводит к задержке роста [15]. Марганец важен для синтеза половых гормонов, поскольку он является кофактором для некоторых ферментов (мевалонаткиназа ЕС 2.7.1.36 и фарнезилпирофосфатсинтаза ЕС 2.5.1.10), участвующих в синтезе холестерина [17]. Возможной причиной увеличения массы икринок стало повышение активности эстрадиола-17b, который участвует в стимуляции синтеза и

секреции печенью предшественника желтка — вителлогенина [18].

Таким образом, коррекция минеральной компоненты рационов позволяет, увеличить продуктивные в т.ч. репродуктивные качества рыб. Наибольшая эффективность органоминерального хелатного комплекса наблюдалась при использовании его в дозировке 0,25 г/л. Следует отметить, что увеличение размерных характеристик регистрировалось другими авторами при интенсификации кормления, при этом они указывали на снижение выживаемости эмбрионов [19]. В нашем исследовании, применение органоминерального хелатного комплекса не приводило к развитию негативных реакций.

Таблица 2 – Влияние органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию и выживаемость икры *Danio rerio*.

ПАРАМЕТРЫ	ИССЛЕДУЕМЫЕ ГРУППЫ			
	КОНТРОЛЬ n=20	0,250 г/л n=20	0,125 г/л n=20	0,0625 г/л n=20
Масса самок в начале эксперимента, г	0,48±0,02	0,47±0,02	0,47±0,03	0,46±0,02
Масса самок в конце эксперимента, г	0,49±0,03	0,56±0,01*	0,53±0,02	0,50±0,02
Количество икринок в 1 г, шт	979,0±11,88	942,0±7,56*	961,2±8,32	994,0±12,22
Всего икринок, шт	165± 6,17	191±5,04*	174±3,7	168±4,2
Выживаемость икры, %	95	95	96	93
Диаметр икринки	1,38± 0,01	1,39±0,04	1,36±0,02	1,40±0,02
Длина личинки	1,71±0,03	1,70±0,02	1,68±0,01	1,71±0,01

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между контрольной и опытной группой ($p \leq 0,05$ при t критическом 2,024),

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Наблюдение за изменением масс-размерных и репродуктивных признаков является важной частью селекционно-племенной работы, поскольку ухудшение показателей может указывать на биотехнические ошибки при выращивании рыб [20].

В индустриальной аквакультуре, необходимо применение сбалансированных рационов. Для повышения эффективности кормов используют различные биоло-

гически активные добавки [21].

Эффективность органоминерального хелатного комплекса наблюдалась при использовании его в дозировке 0,25 г/л. Применение комплекса в течение 30 дней приводило к увеличению массы самок и массы икринок, а также количества икринок за нерест. Важно отметить и то, что применение препарата не оказало достоверного влияния на выживаемость икры, диаметр икринки и длину личинки.

THE EFFECT OF AN ORGANOMINERAL CHELATE COMPLEX ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF FEMALES AND THE SURVIVAL OF EGGS DANIO RERIO

Polistovskaya P.A. – PhD., associate Professor of the Department of Biochemistry and Physiology; **Karpenko L.Yu.** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department. Biochemistry and physiology; **Makhnin I.A.*** – post-graduate student of the 1st year of study, assistant of the Department of Biochemistry and Physiology; **Azhikina O.Yu.** – graduate student of the 2nd year of study.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*ilya.makh@mail.ru

Financing: The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation 23-76-01042, <https://rscf.ru/project/23-76-01042/>

ABSTRACT

Danio rerio is a popular model organism used in various fields of scientific research, including aquaculture. The use of Danio rerio in toxicological studies of drugs promising for use in aquaculture allows reducing the cost of livestock of commercial fish for the needs of experiments. The aim of the study was to evaluate the effect of an organomineral chelate complex on the reproductive function of females and the survival of Danio rerio eggs. An organomineral chelate complex was studied (JUPITER, Russia). The active basis of a biologically active additive (hereinafter dietary supplements): a complex of ethylenediaminediantaric acid and lysine with trace elements (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). The fish of the experimental groups were given an additive for 30 days, the data were compared with the control. The drug was given together with the feed once a day, in 3 different concentrations (0.25 g / l, 0.125 g / l, 0.0625 g / l). The weight of females at the beginning and end of the experiment, the total number of eggs (from each female for spawning), the number of eggs per 1 g, the survival rate of eggs,

the diameter of eggs and the length of larvae 5 dfp (five days after fertilization) were estimated. To obtain caviar, the parent pairs were planted in spawning jigs and left for 12 hours. The effectiveness of the organomineral chelate complex was observed when using it at a dosage of 0.25 g/l. The use of the complex for 30 days led to an increase in the weight of females and the weight of eggs, as well as the number of eggs per spawning. It is also important to note that the use of the drug did not have a significant effect on the survival of the eggs, the diameter of the eggs and the length of the larva. The enhancement of reproductive function and the increase in the size of Danio rerio females can be explained by the influence of the components of the organomineral chelate complex on the course of biochemical reactions in the body of fish.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Эльнакиб, М. А. Эльшахат, А. Сравнительная оценка показателей репродуктивной функции самок веслоноса (*Polyodon spathula* – Walbaum, 1792), неоднократно созревших в маточных стадах-2022-№ 1-165 с.
2. Магзанова, Д. К. Экспериментальные данные поиска сырья для кормопроизводства растительноядных рыб / Д. К. Магзанова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 10-1. – С. 146. – EDN OFVCXJ.
3. Козлов В.И. и др. Аквакультура : учебник / В.И. Козлов, А.Л. Никифоров-Никишин, А.Л. Бородин. - М. : МГУТУ - 2004. - С. 433
4. Анализ показателей лизоцимной активности сыворотки крови радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) при применении препарата "Smartbiotic" / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, К. П. Иванова [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 140-142. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.140. – EDN GOYUHD.
5. Кочетков Н. И., Смородинская С., Никифоров-Никишин Д. Л., Климов В., Головачева Н., Никифоров-Никишин Д. Л., Грозеску Ю. Оценка возможной генотоксичности трех кормовых добавок, реко-

- мендуемых для аквакультуры, методом микроядерного теста на эритроцитах *Danio rerio* // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2022. № 3. С. 48-59. DOI: <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2022-3-48-59> (дата обращения: 18.03.2024).
6. Fishman MC. Genomics. Zebrafish--the canonical vertebrate. Science. 2001 Nov 9;294(5545):1290-1. doi: 10.1126/science.1066652. PMID: 11701913. R. Cretton
7. Определение плодовитости и стадий зрелости рыб : (Учеб. пособие) / А. П. Петлина; Под ред. В. В. Кафановой. - Томск : Изд-во Том. ун-та, 1987. - 106 с.
8. Canadian Council on Animal Care. (2020, December 10). CCAC publishes new guidelines on zebrafish. Retrieved from <https://ccac.ca/en/about/news-and-media/2020/12/10/ccac-publishes-new-guidelines-on-zebrafish/>
9. McGill University. (n.d.). (2021). Fish and aquatic amphibian anesthesia.//SOP 118.03- Fish and Aquatic Amphibian Anesthesia Retrieved from https://www.mcgill.ca/research/files/research/118_fish_and_aquatic_amphibian_anesthesia.pdf
10. Wang KY, Peng CZ, Huang JL, Huang YD, Jin MC, Geng Y. The pathology of selenium deficiency in *Cyprinus carpio* L. J Fish Dis. 2013 Jul;36(7):609-15. doi: 10.1111/jfd.12030. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23320605.
11. Bell, J.G., Pirie, B.J.S., Adron, J.W., Cowey, C.B., 1986. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Br. J. Nutr. 55, 305–311.
12. Köhrle, J., Brigelius-Flohé, R., Böck, A., Gärtner, R., Meyer, O., Flohé, L., 2000. Selenium in biology: facts and medical perspectives. Biol. Chem. 381, 849–864.
13. Naiel M. et al, 2023. The Assessment of Different Dietary Selenium Resources on Reproductive Performance, Spawning Indicators, and Larval Production of Red Tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) Broodfish. Aquaculture Nutrition. 2023. 1-11. 10.1155/2023/5596619.
14. Влияние цинка на гематологические показатели карпа / П. А. Полистовская, Л. Ю. Карпенко, А. И. Енукашвили [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 240, № 4. – С. 151-154. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-240-4-151-154. – EDN TPPVSW.
15. Nguyen, V.T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Kotani, T., 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae. Aquaculture 285, 184–192.
16. Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture 151, 185–207.
17. Goering, P., 2003. The Road to Elucidating the Mechanism of Manganese-Bilirubin-Induced Cholestasis. Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology. 73. 216-9. 10.1093/toxsci/kfg112.
18. Sun B., Pankhurst N.W. 2003. Correlation between oocyte development and plasma levels of steroids and vitellogenin in greenback flounder *Rhombosolea tapirine* // Abstr. 7th Intern. Symp. on Reproductive Physiology of Fish. Mie. Japan. P. 95.
19. Adatto I, Lawrence C, Krug L, Zon LI (2022) The effects of intensive feeding on reproductive performance in laboratory zebrafish (*Danio rerio*). PLoS ONE 17(11): e0278302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278302>
20. Беренев Ю.Е. Сравнительная характеристика самок ладожской палии (*Salvelinus Alpinus* L.), выращиваемой в условиях рыбоводного хозяйства Ленинградской области, по размерно-весовым и репродуктивным признакам. Генетика и разведение животных. 2023;(3):67-73. <https://doi.org/10.31043/2410-2733-2023-3-67-73>
21. Зуева М.С. Современный опыт включения биологически активных кормовых добавок в рацион рыб // Животноводство и кормопроизводство. 2022. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/>

sovremennyy-opyt-vklyucheniya-biologicheskii-aktivnykh-kormovykh-dobavok-v-ratsion-ryb (дата обращения: 17.03.2024).

REFERENCES

1. Elnakib, M. A. Elshahat, A. Comparative assessment of the reproductive function of female oarfish (*Polyodon spathula* – Walbaum, 1792), repeatedly matured in breeding herds-2022-No. 1-165 c.
2. Magzanova, D. K. Experimental data on the search for raw materials for the forage production of herbivorous fish / D. K. Magzanova // International Journal of Applied and Fundamental Research. – 2011. – No. 10-1. – p. 146. – EDN OFVCXJ.
3. Kozlov V.I. et al. Aquaculture : textbook / V.I. Kozlov, A.L. Nikiforov-Nikishin, A.L. Borodin. - M.: MGUTU - 2004. - p. 433
4. Analysis of indicators of lysozyme activity of blood serum of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when using the drug "Smartbiotic" / L. Y. Karpenko, A. A. Bakhta, K. P. Ivanova [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2021. – No. 4. – pp. 140-142. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.140. – EDN GOYUHD.
5. Kochetkov N. I., Smorodinskaya S., Nikiforov-Nikishin D. L., Klimov V., Golovacheva N., Nikiforov-Nikishin D. L., Grozescu Yu. Assessment of the possible genotoxicity of three feed additives recommended for aquaculture by the method of micronuclear test on erythrocytes *Danio rerio* // Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries. 2022. No. 3. pp. 48-59. DOI: <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2022-3-48-59> (date of application: 03/18/2024).
6. Fishman MC. Genomics. Zebrafish--the canonical vertebrate. Science. 2001 Nov 9;294(5545):1290-1. doi: 10.1126/science.1066652. PMID: 11701913.R. Cretton
7. Determination of fecundity and stages of maturity of fish : (Textbook) / A. P. Petlina; Edited by V. V. Kafanova. Tomsk : Publishing House Vol. unita, 1987. - 106 p
8. Canadian Council on Animal Care. (2020, December 10). CCAC publishes new guidelines on zebrafish. Retrieved from <https://ccac.ca/en/about/news-and-media/2020/12/10/ccac-publishes-new-guidelines-on-zebrafish/>
9. McGill University. (n.d.). (2021). Fish and aquatic amphibian anesthesia.//SOP 118.03- Fish and Aquatic Amphibian Anesthesia Retrieved from https://www.mcgill.ca/research/files/research/118_fish_and_aquatic_amphibian_anesthesia.pdf
10. Wang KY, Peng CZ, Huang JL, Huang YD, Jin MC, Geng Y. The pathology of selenium deficiency in *Cyprinus carpio* L. J Fish Dis. 2013 Jul;36(7):609-15. doi: 10.1111/jfd.12030. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23320605.
11. Bell, J.G., Pirie, B.J.S., Adron, J.W., Cowey, C.B., 1986. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (EC I. 11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Br. J. Nutr. 55, 305–311.
12. Köhrle, J., Brigelius-Flohé, R., Böck, A., Gärtner, R., Meyer, O., Flohé, L., 2000. Selenium in biology: facts and medical perspectives. Biol. Chem. 381, 849–864.
13. Naiel M. et al., 2023. The Assessment of Different Dietary Selenium Resources on Reproductive Performance, Spawning Indicators, and Larval Production of Red Tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) Broodfish. Aquaculture Nutrition. 2023. 1-11. 10.1155/2023/5596619.
14. The effect of zinc on hematological parameters of carp / P. A. Polistovskaya, L. Y. Karpenko, A. I. Enukashvili [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. - 2019. – Vol. 240, No. 4. – pp. 151-154. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-240-4-151-154. – EDN TPPVSW.
15. Nguyen, V.T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Kotani, T., 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae. Aquaculture 285, 184–192.
16. Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture

- 151, 185–207.
17. Goering, P., 2003. The Road to Elucidating the Mechanism of Manganese-Bilirubin-Induced Cholestasis. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*. 73. 216-9. 10.1093/toxsci/kfg112.
18. Sun B., Pankhurst N.W. 2003. Correlation between oocyte development and plasma levels of steroids and vitellogenin in greenback flounder *Rhombosolea tapirine* // Abstr. 7th Intern. Symp. on Reproductive Physiology of Fish. Mie. Japan. P. 95.
19. Adatto I, Lawrence C, Krug L, Zon LI (2022) The effects of intensive feeding on reproductive performance in laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS ONE* 17(11): e0278302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278302>
20. Berenev Yu.E. Comparative characteristics of female Ladoga palia (*Salvelinus Alpinus* L.), grown in the conditions of fish farming in the Leningrad region, by size, weight and reproductive characteristics. *Genetics and animal breeding*. 2023;(3):67-73. <https://doi.org/10.31043/2410-2733-2023-3-67-73>
21. Zueva M.S. Modern experience of including biologically active feed additives in the diet of fish // *Animal husbandry and feed production*. 2022. No.4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennyy-opyt-vklyucheniya-biologicheski-aktivnyh-kormovyh-dobavok-v-ratsion-ryb> (date of application: 03/17/2024).