

УДК 597.551.2:639.335.043

Н.А. Егоркина, И.И. Лобода, В.В. Ковалев, С.В. Королькова

**ВЫБОР ПРОБИОТИКА И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ВО ВРЕМЯ
СТРЕССОВ У КАРПОВ ПРИ ИХ СОДЕРЖАНИИ
В АКВАРИУМАХ¹**

Российский государственный гидрометеорологический университет, svkr1@mail.ru

N.A. Egorkina, I.I. Loboda, V.V. Kovalev, S.V. Korolkova

**SELECTION OF PROBIOTIC AND THE METHOD
OF RESEARCH OF ITS EFFICIENCY DURING ITS APPLIANCE
IN CASE OF FISH STRESS IN AQUARIUM CONDITIONS**

В представленной работе исследовано применение пробиотика «Ветом 1.1», содержащего генномодифицированный штамм *Bacillus subtilis*, в качестве добавки в корм *Carassius carassius* для повышения их выживаемости в условиях содержания в аквариумах, особенно при их поражении паразитарными инвазиями и лечении антипротозойными средствами. В качестве основных методов оценки состояния рыб во время исследования были выбраны внешний вид рыб, их поведение, выживаемость, гидрохимические исследования и гистологические исследования после ихтиопатологического вскрытия. Показано протекторное действие пробиотика «Ветом 1.1» на карповых рыб при их лечении токсичными антипротозойными препаратами. Исследование имеет практическое значение для перспективного развития рыбоводства России.

Ключевые слова: пробиотик Ветом 1.1, *Bacillus subtilis*, генномодифицированный штамм, карась обыкновенный *Carassius carassius*, стресс, адаптация, гидрохимические показатели, ихтиопатологическое вскрытие.

It was searched in this article the appliance of probiotic Vetom 1.1 which contains the gene-modified strain of *Bacillus subtilis* as a food additive for *Carassius carassius* in order to help with their survival in aquarium conditions, especially when suffering from parasites invasion and antiprotozoic treatment. Fish habitus, their behavior, survival, hydrochemical parameters and histological analyses after ichthyopathological dissection were chosen as a main methods of fish analyses during the research. According to results of resent research it was shown the protection activity of probiotic Vetom 1.1 to carp fish when treating them with toxic antiprotozoic remedies.

Keywords: probiotic Vetom 1.1, *Bacillus subtilis*, gene-modified strain, carp *Carassius carassius*, stress, adaptation, hydrochemical parameters, ichthyopathological dissection.

Введение

Выбор пробиотика для использования в рыбном хозяйстве должен соотноситься с целями его применения. По определению, пробиотик – это физиологически функциональный пищевой ингредиент, состоящий из живых микроорганизмов, непатогенных и не токсикогенных для животных и человека [11]. Польза

¹ Материалы 5-й Международной конференции молодых ученых НАСИ.

пробиотика заключается в том, что он содержит культуры микроорганизмов нормальной микрофлоры кишечника или микроорганизмы, которые способствуют ее формированию при применении внутрь. Пробиотики действуют в толстом кишечнике и способствуют восстановлению кишечной микрофлоры, а также подавляют рост и развитие патогенной и условно-патогенной микрофлоры в толстом кишечнике. Пробиотики помогают в усвоении питательных веществ, в постстрессовой адаптации, улучшают работу пищеварительной системы за счет дополнительной продукции ферментов в пищеварительном тракте. В Российской Федерации зарегистрировано более 90 наименований пробиотиков ветеринарного назначения [6], одни и те же препараты применяются для разных сельскохозяйственных животных, в том числе рыб [9].

В практике рыбного хозяйства нашли применение пробиотики на основе штаммов рода *Bacillus*, рода *Bifidobacterium*, рода *Lactobacillus*, которые проявляют антибактериальные и фунгицидные свойства за счет антагонистической активности против патогенов, продукции антибактериальных веществ, изменению pH в сторону закисления. Последнее особенно характерно для рода *Lactobacillus* вследствие образования молочной кислоты, что подавляет рост патогенной микрофлоры. Кроме того, пробиотики повышают неспецифическую резистентность организма [5, 6]. Также в практике рыбоводства применяют пробиотик на основе живой культуры азотфиксирующих бактерий *Azomonas agilis*, который является антагонистом бактерий-возбудителей аэромоноза рыб [6]. Пробиотические препараты могут быть моно- и поликомпонентными с синергическим эффектом содержащихся бактериальных компонентов. Кроме того, пробиотические препараты могут содержать разного рода витаминные, ферментные и др. добавки [6, 8]. Следует отметить, что в качестве пробиотиков используют также рекомбинантные штаммы [10].

Среди широкого выбора пробиотиков рыбоводы достаточно часто обращаются к препаратам на основе рода *Bacillus*, особенно к сенной палочке *Bacillus subtilis*. В состав некоторых препаратов входят также *Bacillus liceniformes* и *Bacillus amyloliquefaciens*, которые являются сапрофитными аэробными почвенными бактериями, попадающими в водную среду при смывах, и могут оказаться в кишечнике рыб естественным путем. Бактерии продуцируют в кишечнике биологически активные вещества, различные пищеварительные ферменты, такие как амилаза, протеаза и липаза, витамины К и В₁₂, выделяют несколько пептидов, которые обладают антибактериальным и фунгицидным действием [1, 6].

Одним из важных преимуществ бактерий рода *Bacillus* является их способность к спорообразованию, позволяющая сохранять жизнеспособность при неблагоприятных условиях внешней среды, в том числе в технологических операциях производства препарата. Штаммы в стадии споры устойчивы к высокотемпературным воздействиям и могут перенести процессы экструдирования, гранулирования и др. Покоящаяся спорная стадия позволяет пробиотикам на основе рода *Bacillus* иметь более длительные сроки хранения без опасности потери свойств.

В настоящее время имеется много сходных по составу пробиотиков, содержащих сенную палочку, которые различаются по штаммам бактерий и, в некоторых случаях, добавлением других микроорганизмов, родственных в систематическом

отношении. Так, в состав биокорма «Пионер» входят природные немодифицированные культуры *Bacillus subtilis* [6], препарат «Субтилис» содержит смесь культур бацилл *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 и *Bacillus licheniformis* ВКМ В-2252 [12,14], препарат «Моноспорин» содержит *Bacillus subtilis* 945 (В-5225) [3], поликомпонентный препарат «Бацелл» содержит *Bacillus subtilis* штамм 945 (В-5225), *Lactobacillus acidophilus* L917 (В-4625), *Ruminococcus albus* 37 (В-4292) [1], препарат Суб-Про содержит *Bacillus subtilis* 2335 [13], препарат БПС-44 содержит штамм *Bacillus subtilis* 44-р [2], препараты «Ветом 1.1» и «Ветом 2.26» содержат: «Ветом 1.1» – *Bacillus subtilis* рекомбинантный штамм ВКПМ В-10641 (DSM 24613) [7], «Ветом 2.26» – рекомбинантный штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641 (DSM 24613) и *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10643 (DSM 24615) [10].

Для формулирования цели использования пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* авторы цитируемых работ указывали на следующие факты. При интенсивных технологиях выращивания рыб в условиях УЗВ и аквариумов с высокой плотностью посадки происходит увеличение уровня накопления загрязнителей в водной среде, в том числе и возрастание количества патогенных и условно-патогенных бактерий, паразитов рыб разной природы, которое может привести к увеличению их количества в органах и тканях рыб [1]. При этом отмечаются случаи ослабления общего состояния рыб и возникновения различных заболеваний. Снижение естественного иммунитета рыб приводит к высоким отходам в течение периода выращивания [10]. Широкое применение антибиотиков и химиопрепаратов для профилактики и борьбы с бактериальными болезнями в рыбоводных хозяйствах привело к возникновению таких проблем, как лекарственная сопротивляемость, накопление антибиотиков и химиопрепаратов в тканях и иммуносупрессия [1]. Целью применения пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* является повышение адаптации рыб к стрессовым условиям их выращивания, улучшение их здоровья и, следовательно, повышение их выживаемости. Это относится к молоди карпов [10], африканского клариевого сома [3], икры, эмбрионов и личинок карася и карпа [12], молоди кеты [13], молоди осетровых рыб [1, 5, 8].

Также интересны особые случаи повышения адаптации рыб к условиям обитания. В работе [4] показана эффективность добавки к пище пробиотика на основе *Bacillus subtilis* для подготовки производителей осетровых рыб к нересту и для улучшения их постнерестовой адаптации. В работе [14] наблюдали, как использование комбикормов с пробиотиком на основе *Bacillus subtilis* благоприятно влияет на процесс заживления раны, активизирует синтез коллагена, улучшает иммунный ответ при лечении травм, полученных осетровыми рыбами при заготовке и перевозке. В работе [2] показано компенсаторное влияние пробиотика на основе *Bacillus subtilis* при его добавке в корм рыбам, обитающим в водоеме с водой, загрязненной гербицидами 2,4-ДБЕ, метрибузином и глифосатом; отмечено протекторное действие препарата, повышающего стойкость рыб к действию глифосата.

Цель и задачи работы

Целью данной работы было показать протекторное действие препарата «Ветом 1.1», содержащего рекомбинантный штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641

(DSM 24613) [8], на выживаемость рыб при их обработке антибиотиками в процессе лечения от паразитарных инвазий. Задачами работы являлись выбор методики оценки состояния рыб, проведение исследования и подтверждение отмеченных выше по результатам обзора литературы адаптогенных свойств пробиотика на основе *Bacillus subtilis*. Новизной работы является использование пробиотика на основе рекомбинантного штамма (следует отметить, что в работе [10] также используется другой пробиотик на основе рекомбинантного штамма того же производителя «Ветом 2.26» [8]), изучение протекторного действия не по отношению к патогенам, а по отношению к антипротозойным и антигельминтным лекарственным препаратам, токсичным для рыб, и выбор методики оценки действия пробиотика по изменению гидрохимических показателей воды и по результатам ихтиопатологического вскрытия.

Настоящая работа была выполнена в рамках темы НИР кафедры водных биоресурсов и аквакультуры «Корма и кормовые добавки» и является продолжением исследований, изложенных в [7].

Объекты, материалы и методы исследования

В исследованиях был использован препарат для ветеринарного применения «Ветом 1.1». Он представляет собой сухую культуру пробиотических микроорганизмов *Bacillus Subtilis* рекомбинантный штамм ВКПМ В-10641 (DSM 24613), модифицированный плазмидой, синтезирующей интерферон α -2 лейкоцитарный человеческий, содержание живых бактериальных клеток 1×10^6 КОЕ/г, дополнительные составляющие – кукурузный экстракт, картофельный крахмал, сахара; производитель – НПФ «Исследовательский центр» [8].

Особенностью «Ветом 1.1» является его иммуномодулирующее действие за счет синтеза интерферона. Согласно информации производителя [8], «генетически модифицированный штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641 выделяет в кишечнике животных интерферон α -2 человеческий, антибиотикоподобные субстанции, ферменты, другие биологически активные вещества, под воздействием которых нормализуются биоценоз кишечника, кислотность среды, пищеварение, всасывание и метаболизм железа, кальция, жиров, белков, углеводов, триглицеридов, аминокислот, дипептидов, сахаров, солей желчных кислот. «Ветом 1.1» стимулирует клеточные и гуморальные факторы иммунитета, повышает устойчивость животных и птицы к инфицированию вирусными и бактериальными агентами» [8].

Объектом исследования являлся карась обыкновенный *Carassius carassius*.

В целях выяснения протекторных свойств пробиотической добавки «Ветом 1.1» в стрессовых условиях проводилось две серии опытов для двух разных препаратов.

В каждой серии опытов было взято по 2 аквариума объемом 50 л – опытный и контрольный, и в каждый было помещено по 5 карасей-годовиков суммарной массой 18 г. В контрольных аквариумах рыб кормили обычным кормом каждый день по 1,5 г, в опытных – тем же кормом с добавкой пробиотика «Ветом 1.1» каждый день по 2,5 г. Различие в массах корма связано с тем, что при смешивании живой культуры пробиотика «Ветом 1.1», которая представляет собой жидкость, с кормом, он увеличивался в объеме и массе. По содержанию сухого вещества

эти навески были эквивалентными. Корм замачивался в течение 10 мин в живой культуре бактерий, которая выращивалась в течение суток заблаговременно, наличие живых бактерий *Bacillus subtilis* подтверждалось при микроскопическом наблюдении.

В первой серии опытов в оба аквариума каждый день добавляли препарат «Оодиол», применяемый для борьбы с одноклеточными эктопаразитами, который содержит сульфата меди пентагидрат, токсичный для рыб. Концентрация меди в обоих аквариумах первой серии поддерживалась равной $0,2 \pm 0,05$ мг/л.

Во второй серии опытов в оба аквариума был добавлен препарат *Gyrodol Plus 250*, компании JBL, который используется при лечении как пресноводных, так и морских рыб от моногеней (*Dactylogyrus* и *Gyrodactylus*) и ленточных червей (*Cestodae*) и содержит активное вещество празиквантел. Для усиления эффекта на 3-й день к празиквантелу был добавлен формалин – препарат для борьбы с некоторыми эктопаразитами рыб, в том числе моногеней. Предполагалось, что при взаимодействии препараты дадут синергетический эффект. *Gyrodol Plus 250* прибавляли каждый день в объеме 3,5 мл на 50 л, что несколько выше рекомендуемой дозы – 2,5 мл на 50 л. Формалин добавляли по 3 мл в каждый аквариум.

Обе серии опытов проводили в течение 10 дней.

Температура во всех аквариумах составляла 23–24 °С, общая жесткость воды – $1,78 \pm 0,35$ мг-экв/л, концентрация водородных ионов $pH = 7,1 \pm 0,05$.

Исследовали внешний вид рыб, их поведение, выживаемость, проводили гидрохимические исследования по определению концентраций в воде аквариума суммарного содержания аммиака и аммония (NH_3 и NH_4^+), нитритов NO_2^- , нитратов NO_3^- , общей жесткости, pH, для определения которых использовались тест-системы фирм JBL и Tetra, измеряли температуру воды. После окончания эксперимента проводили ихтиопатологическое вскрытие рыб из экспериментальных и контрольных аквариумов и микроскопические исследования ткани жабр.

Результаты и их обсуждение

Суммарное содержание в воде аммиака и иона аммония является важнейшим рыбоводным показателем. Аммиак (NH_3) обладает острой токсичностью для рыб. Ионизированная форма аммиака – ион аммония (NH_4^+) – наносит вред при хроническом воздействии. Его токсичность особенно выражена при низких значениях жесткости воды. Суммарный показатель (NH_3 и NH_4^+) при искусственном содержании рыб является важнейшим фактором, ограничивающим плотность посадки рыб. Изменение гидрохимических показателей воды в аквариуме будет служить индикатором состояния рыб, особенно в стрессовой ситуации применения токсичных лекарств.

Следует отметить, что выбор показателей адаптивного действия пробиотика на рыб в данной работе отличается от принятого в цитируемых выше работах. Авторы предпочитали оценивать положительное действие пробиотика по выживаемости и увеличению массы рыб, а работающие с осетровыми рыбами также изучали изменения показателей крови [1, 4, 5, 8]. Только в работе по изучению токсического действия глифосата [2] проводили вскрытие, но там изучали гистологические срезы печени.

В настоящей работе представлялся нецелесообразным выбор индикатора изменения массы рыб как степень их стресса или, наоборот, адаптации, из-за недостаточного для набора статистических данных количества объектов эксперимента (20 особей) и относительно непродолжительного эксперимента. Длительность эксперимента в 10 дней, однако, представляется вполне достаточной для проявления эффекта стресса, сопровождающегося ранней гибелью рыб и, соответственно, выживаемостью в процессе адаптации.

Наиболее выраженное токсическое действие наблюдалось для контрольной группы в случае применения «Оодинола», где наблюдались угнетенное поведение рыб, отказ рыб от приема корма, была отмечена гибель 4-х особей. Оставшийся в живых годовик карася выглядел характерно – плавники рыбы были сжаты, брюшко впалое, спинка «усохшая». Налицо все признаки истощения рыбы несмотря на достаточное кормление.

При этом в экспериментальном аквариуме рыбы чувствовали себя гораздо лучше, были активными, от корма не отказывались, не было зафиксировано случаев гибели рыб. Их плавники были расправлены, покровы тела гладкие и естественного цвета, можно было отметить некоторое истощение рыб, но оно выражено значительно меньше по сравнению с выжившим карасем из контрольной группы.

На рис. 1–3 показано, как изменяются гидрохимические показатели для контрольного и опытного аквариумов в серии экспериментов с «Оодиолом». Было отмечено возрастание показателя $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, нитратов и нитритов в обоих аквариумах, но в контрольном рост показателей значительно заметнее. Эти данные свидетельствуют о том, что препарат «Оодиол» оказывает стрессирующее воздействие на рыб. С другой стороны, эти данные говорят о значительном угнетении нитрифицирующих бактерий аквариумов, окисляющих аммиак/аммоний и нитрит-ионы, для которых ионы меди также представляют опасность. Данные рис. 1–3 вместе с данными наблюдений за рыбами свидетельствуют об адаптирующем действии пробиотика «Ветом 1.1» в опытном аквариуме.

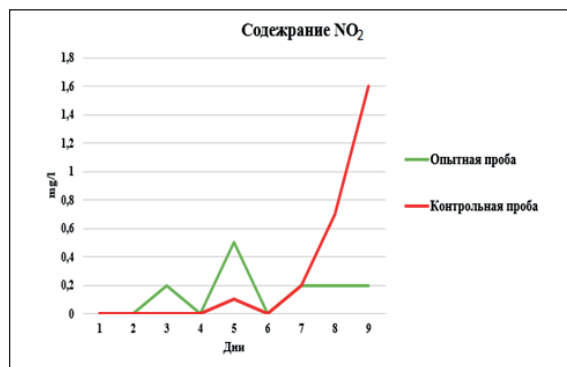


Рис. 1. Изменение концентрации нитритов в опытном и контрольном аквариумах в исследовании с «Оодиолом»

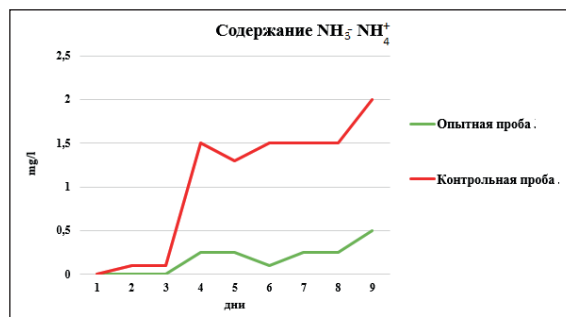


Рис. 2. Изменение показателя суммарного показателя (NH_3 и NH_4^+) в опытном и контрольном аквариумах в исследовании с «Оодиолом»

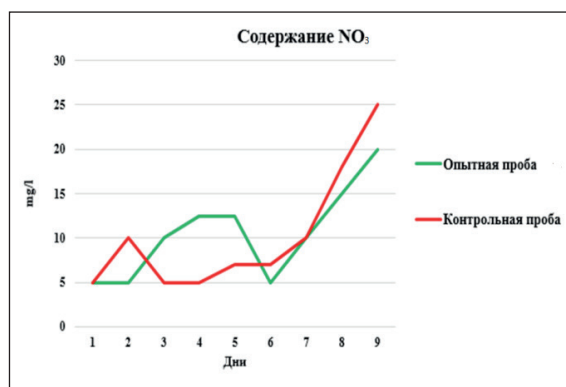


Рис. 3. Изменение концентрации нитратов в опытном и контрольном аквариумах в исследовании с «Оодиолом»

В серии опытов с *Gyrodol Plus 250* и формалином также отмечаются различия в поведении рыб и в гидрохимических показателях аквариумов, но они не так резко выражены, как в случае с «Оодиолом». В второй серии опытов не было отмечено гибели рыб в контрольном аквариуме, что в целом свидетельствует о том, что *Gyrodol Plus 250* с формалином оказывают меньшее стрессовое воздействие на рыб, чем «Оодиол». И в этой серии опытов наблюдается эффект адаптации рыб к воздействию препаратов в опытном аквариуме, где рыбы получали пробиотик «Ветом 1.1» с кормом.

На рис. 4 представлен фрагмент жаберной дуги карася *Carassius carassius* из контрольного аквариума (без пробиотика) из первой серии опытов (лечение рыб «Оодиолом»). Жаберные лепестки анемичны. Дыхательные складочки в значительной степени обескровлены. Хорошо заметно значительное слизеотделение. Скопления слизи расположены в поле зрения микроскопа над кончиками жаберных лепестков и между ними. Обильная слизь представляет собой ответную реакцию организма рыбы на повышенную концентрацию ионов меди в воде. Эта слизь затрудняет обмен кислородом, углекислым газом и ионами между кровеносными сосудами жабр и окружающей водной средой. Тем самым функция жабры

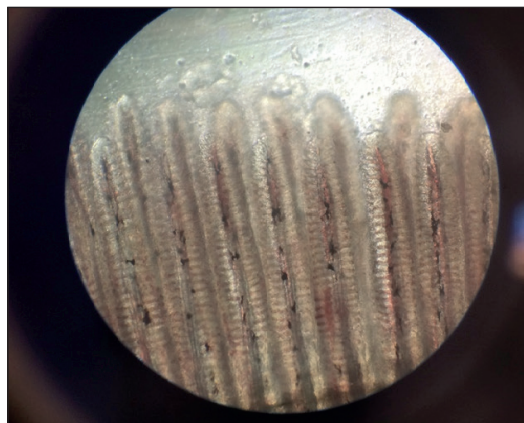


Рис. 4. Фрагмент жаберной дуги карася *Carassius carassius* из контрольного аквариума с «Одинолом»

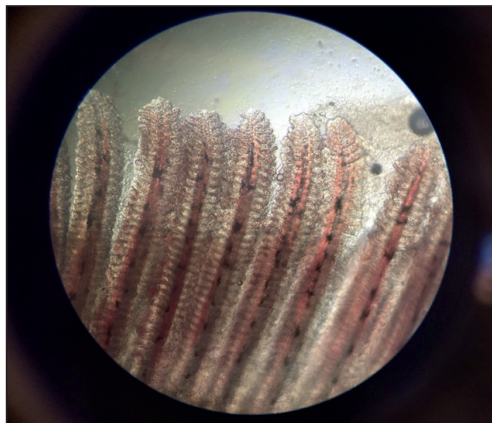


Рис. 5. Фрагмент жаберной дуги карася *Carassius carassius* из опытного аквариума с «Одинолом» и пробиотиком «Ветом 1.1»

оказалась в значительной степени нарушенной, что сказалось на выживаемости рыб в контрольном аквариуме.

На рис. 5 представлен фрагмент жаберной дуги карася *Carassius carassius* из опытного аквариума (с пробиотиком) из первой серии опытов (лечение рыб «Одинолом»). Анемии жаберных лепестков не наблюдается, дыхательные складочки хорошо заметны и заполнены кровью. Повышенное слизеотделение также заметно, но оно менее выражено, чем в контроле. Дыхательные складочки не слиплись и не представляют собой сплошную склеенную слизью массу, как это имело место у рыб в контрольной группе. Такая жабра способна нормально функционировать, что и нашло свое отражение в 100-процентной выживаемости рыб в опытной группе.

Выводы

Применение пробиотика «Ветом 1.1» снижает выраженность симптомов отравления карася *Carassius carassius* лекарственными препаратами для лечения их от тяжелых протозойных инвазий. В значительной степени устраняет патологическое отделение слизи, анемию жаберных лепестков, дистрофические изменения в скелетной мускулатуре; не подавляет пищевое поведение рыб и их нормальную жизнедеятельность. Использование кормов с пробиотиком «Ветом 1.1» для карповых рыб обеспечивает поддержание важнейших гидрохимических параметров, таких как содержание аммиака/аммония, нитрит-иона, нитрат-иона на оптимальном уровне, что также способствует высокой выживаемости рыбы даже в условиях повышенной плотности посадки. Протекторное действие пробиотика «Ветом 1.1» позволяет проводить успешное лечение молоди карповых рыб практически без существенного отхода даже в случае применения повышенных доз лекарств. В общем, применение пробиотика позволяет управлять назначением лекарственного препарата – повышать дозу для более быстрого и эффективного лечения в сложных случаях, комбинировать лекарственные препараты, сочетать которые при лечении обычно

не рекомендуется из-за повышения их токсичности для рыб при совместном использовании; а если имеется опасность накопления лекарственного препарата в тканях рыбы и снижения из-за этого ее качества, то, наоборот, уменьшать дозу [1].

Что касается использования в рыбоводстве именно генномодифицированного пробиотика «Ветом 1.1», то несмотря на то, что специального сравнительного исследования по применению модифицированного пробиотика и его природной формы не проводилось, авторы отмечают высокую эффективность применения в описанных условиях именно генномодифицированной формы.

Литература

1. Аламдари Х., Пономарев С.В. Использование пробиотических препаратов при кормлении осетровых рыб: результаты испытаний при температуре ниже оптимальной // Вестник АГТУ: Сер. Рыбное хозяйство, 2013. № 3. – С. 133–140.
2. Бибчук Е.В., Жиденко А.А. Состояние организма карпов в условиях действия гербицидов, нормализация пробиотическим препаратом БПС-44 // Scientific Journal «ScienceRise». Біологічні науки. № 10/6 (15), 2015. – С. 6–11.
3. Егоров А.О., Пашков А.Н. Опыт использования пониженных концентраций пробиотического препарата «Моноспорин» при подращивании молоди африканского клариевого сома (*Clarias Gariepinus*) в УЗВ // Рыбоводство и рыбное хоз-во, 2016. № 1. – С. 29–33.
4. Жандалгарова А.Д. Разработка нового эффективного комбикорма с биологически активными веществами и пробиотиками нового поколения для подготовки производителей осетровых рыб к нересту и их постнерестовой адаптации // Исследования молодых ученых – вклад в инновационное развитие России / сост. М.В. Лозовская, А.Г. Баделин. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2015. – С. 268–269.
5. Жандалгарова А.Д., Бахарева А.А., Пономарев С.В. Пробиотики нового поколения на основе родов *Bacillus*, *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в составе стартовых комбикормов как стимуляторы роста осетровых рыб // Рыбоводство и рыбное хоз-во, 2016. № 3. – С. 35–37.
6. Иванова А.Б., Сариев Б.Т., Ноздрин Г.А. и др. Перспективы применения бактериальных препаратов и пробиотиков в рыбоводстве // Вестник НГАУ, 2012. № 2 (23), ч. 2. – С. 58–61.
7. Ковалев В.В., Королькова С.В., Лобода И.И., Егоркина Н.А. Опыт применения пробиотика Ветом 1.1 для оценки выживаемости карповых рыб в условиях содержания в аквариумах // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны // Сб. мат. национальной науч.-практ. конф. СГАУ им. Н.И. Вавилова 04–05.10.2016 г. / под ред. А.В. Молчанова. – Саратов: «Научная книга», 2016. – С. 52–57.
8. Металлов Г.Ф., Левина О.А., Григорьев В.А., Ковалева А.В. Биологически активные добавки в продукционных кормах для осетровых пород рыб // Вестник АГТУ: Сер. Рыбное хозяйство. № 3, 2013. – С. 146–152.
9. Научно-производственная фирма «Исследовательский центр». Официальный сайт. БАД пробиотика Ветом 1.1. – [Электронный ресурс] <http://vetom.ru> (дата обращения 25.01.2017).
10. Ноздрин Г.А., Морузи И.В., Хмельков С.В. и др. Эффективность пробиотика Ветом 2.26 при скормливании молоди карпа // Вестник НГАУ, 2013. № 4 (29). – С. 58–60.
11. Сворцова Н.Н., Забодалова Л.А., Подгорнова А.А. Пищевая химия: уч. пос. – СПб.: СПбГУНиПТ, 2009. – 108 с.
12. Скларов В.Я., Микряков В.Р., Кулаков Г.В. и др. Перспективы применения препарата пробиотик «Субтилис» в рыбоводстве для обработки икры, эмбрионов и личинок рыб на примере карася *Carassius carassius* и карпа *Cyprinus carpio* // Вопросы рыболовства, 2004. Т. 5, № 3 (19). – С. 151–161.
13. Устименко Е.А., Винник Н.Г. Использование пробиотика «Суб-Про» при выращивании молоди кеты на лососевом рыбоводном заводе (Камчатка) // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2015. № 7. – С. 33–35.
14. Шульга Е.А., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. Лечебные свойства пробиотика «Субтилис» при репарации кожных покровов осетровых рыб // Вестник АГТУ: Сер. Рыбное хозяйство. № 1, 2009. – С. 86–89.