



РАЦИОНАЛЬНОЕ ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ,
ЭКОЛОГИЯ И ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

RATIONAL NATURE MANAGEMENT, ECOLOGY
AND ENVIRONMENTAL PROTECTION

УДК: 636.084:633.367.3:597.552.512:616.15

DOI:10.31677/2311-0651-2024-46-4-74-81

БИОМЕТРИЧЕСКИЕ И ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ПРИ СНИЖЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ЖИВОТНОГО ПРОТЕИНА В РАЦИОНЕ

¹Н.В. Гапонов, кандидат биологических наук, научный сотрудник

²Е.В. Шмат, кандидат технических наук, доцент

²М.А. Амироков, доктор ветеринарных наук, доцент

¹Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии
им. В.Р. Вильямса

²Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы –
Сочинский институт (филиал)
E-mail: nv.1000@bk.ru

Ключевые слова: люпин, форель, печень, гепатоциты, пролиферация, протеин.

Реферат. На биологических моделях радужной форели проведены сравнительные исследования влияния замены в структуре рациона кормления растительным протеином животного белка на биометрические показатели и гистопатологические показатели печени радужной форели. Включение в состав комбикорма белого люпина с оболочкой привело к увеличению массы кишечника. В 1-й опытной группе по отношению к контролю масса кишечника увеличилась на 26,3 %, во 2-й опытной группе уменьшилась на 22 %. При этом основным местом всасывания является передний отдел кишечника и область, примыкающая к пилорическим придаткам, где при оптимальном кормлении может быть резорбировано до 90 % белков, жиров и углеводов от общего количества, которое доступно рыбам из пищи. Желудок радужной форели тоже принимает активное участие во всасывании питательных веществ (29 % белков, 44 % липидов и 26 % углеводов). В нашем эксперименте масса желудка увеличилась в 1-ой опытной группе на 2,61 % и во 2-й опытной – на 7,3 %. Анализ изученных литературных данных позволяет утверждать, что уменьшение массы кишечника во 2-й опытной группе, где использовали в структуре рациона люпин без оболочки в количестве 25 %, привело к более интенсивной переваримости питательных веществ в его краниальном отделе. Увеличение массы кишечника в 1-й опытной группе связано с применением люпина с оболочкой, что привело к адаптации форели, выразившейся в морфологических изменениях кишечника под воздействием клетчатки. При исследовании ткани печени во 2-й опытной группе выявлены некоторые дегенеративные изменения. Вакуолизация клеток печени во 2-й опытной группе, в которой применяли рацион с повышенным содержанием в его структуре растительного протеина, была значительно ниже, и соответственно, в этой группе были самые маленькие гепатоциты. Наблюдались дефекты клеточных контактов в печени, деструкция, и пролиферация клеток лимфогистиоцитарного ряда в синусоиды. Таким образом, снижение в структуре рационов хищных рыб кормов животного происхождения на 25 % приводит к дегенерации печени. Данная реактивная адаптация печени к новому растительному ингредиенту протеина носит кратковременный характер.

BIOMETRIC AND HISTOPATHOLOGICAL PARAMETERS OF RAINBOW TROUT WITH A DECREASE IN ANIMAL PROTEIN CONTENT IN THE DIET

¹N.V. Gaponov, PhD in Biological Sciences, Research Associate

²E.V. Shmat, PhD in Technical Sciences, Associate Professor

²M.A. Amirokov, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor

¹Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology

²Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia - Sochi Institute (Branch)

Keywords: lupine, trout, liver, cepatocytes, proliferation, 7protein.

Abstract. *Comparative studies of the effect of replacing animal protein with vegetable protein in the diet structure on biometric indices and histopathologic indices of rainbow trout liver were carried out on biological models of rainbow trout. Inclusion of white lupine with a shell in the composition of mixed fodder led to an increase in the weight of the intestine. In the 1st experimental group in relation to the control the mass of intestine increased by 26,3 %, in the 2nd experimental group it decreased by 22 %. The main place of absorption is the anterior intestine and the area adjacent to the pyloric appendages, where at optimal feeding can be resorbed up to 90% of proteins, fats and carbohydrates from the total amount that is available to fish from food. The stomach of rainbow trout also takes an active part in the absorption of nutrients (29 % of proteins, 44 % of lipids and 26 % of carbohydrates). In our experiment, stomach weight increased in the 1st experimental group by 2.61 % and in the 2nd experimental group by 7.3 %. The analysis of the studied literature data allows us to assert that the decrease in intestinal weight in the 2nd experimental group, where 25 % lupine without shell was used in the diet structure, resulted in more intensive digestion of nutrients in its cranial part. The increase in intestinal weight in the 1st experimental group is associated with the use of lupin with a shell, which led to adaptation of trout, expressed in morphological changes in the intestine under the influence of fiber. Examination of liver tissue in the 2nd experimental group revealed some degenerative changes. Vacuolization of liver cells in the 2nd experimental group, in which the diet with increased content of vegetable protein in its structure was applied, was significantly lower, and accordingly, this group had the smallest hepatocytes. Defects of cell contacts in the liver, destruction, and proliferation of cells of the lymphohistiocytic series into sinusoids were observed. Thus, reduction in the structure of diets of predatory fish of animal origin feeds to the level of 25 % leads to liver degeneration. This reactive adaptation of the liver to a new plant protein ingredient is short-term.*

Как известно, первостепенное влияние на показатели продуктивности *Oncorhynchus Mykiss* оказывает не только количественное содержание протеина, но и его качественный состав [1, 2].

Эволюционно выбранная адаптация форели как хищника к относительно стабильному составу корма способствовала возникновению зависимости от этого фактора. Известно, что при исключении из рациона форели незаменимых жирных и аминокислот, а также минералов и витаминов отмечается резкое торможение роста. Высокая степень выведения экскреции у форели свидетельствует о повышенной напряженности в работе всего организма и является показателем несбалансированности рациона, указывая на несоответствие потребностям рыб соотношения питательных веществ в рационе [3, 4].

Для сбалансированного развития и роста, как и все остальные живые существа, радужная форель нуждается в определенном наборе питательных веществ в своем рационе. При формировании рациона необходимо учитывать физиологические потребности выращиваемого вида и особенности его физиологии, которые способствуют усвоению компонентов, входящих в состав комбикорма [5, 6]. Кроме того, особенностью данного вида рыб является тот фактор, что они не могут синтезировать определенные вещества и обязательно должны получать их вместе с потребляемым кормом. Маленький пищеварительный тракт радужной форели и низкая температура воды препятствуют развитию широкой микрофлоры, которая у теплокровных животных в значительной мере обеспечивает организм витаминами [7, 8].

Потребность в получении протеина меняется с возрастом: если содержание его в сухом корме для молоди должно быть 40–55 %, то для взрослой рыбы оно может быть 34–40 %. При составлении рационов следует учитывать, что недостаток протеина способствует задерживанию скорости роста. При недостатке в рационе жиров и углеводов протеин может использоваться в организме рыбы в качестве источника основной энергии в ущерб своей основной функции – белкового обмена и роста тела [9, 10].

Протеин усваивается лососевыми рыбами практически на 100 %, но молодь усваивает его несколько хуже, чем взрослые особи. Наибольшую эффективность имеют корма, содержащие 55–65 % калорий за счет протеина. При кормлении на 1 кг прироста потребуется 500–650 г белка. Превышение показателя говорит о неполноценности ингредиентов комбикорма или о несбалансированности пищевой диеты. Растительный протеин по сравнению с животным усваивается у лососевых рыб немного хуже, однако за счет применения именно этих белков достигается более низкая стоимость рационов, по сравнению с рационами, включающими в свой состав протеин животного происхождения [11].

По данным Gomes (1995), переваримость протеина семян люпина у радужной форели находится практически на уровне переваримости рыбной муки – 85,5 % (рыбная мука – 86,6 %) [6]. Из бобовых используют горох, фасоль, сою, люпин, чечевицу, вику, чину и др. Они содержат до 25–30 % белка, который усваивается на 70–80 %, и содержание жира в бобовых в 2–3 раза выше, чем в злаковых. Перед введением в кормосмеси бобовые следует подвергнуть тепловой обработке для устранения ингибирующего действия [12, 13].

Таким образом, данное исследование может стать основой для фундаментального расширения знаний о биохимии протеинового питания рыб.

Целью данной работы являлось исследование биометрических параметров и гистопатологических показателей печени радужной форели при критической замене в структуре рациона животного протеина на протеин растительного происхождения.

Эксперимент проводили на молоди радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) породы Адлер. Получали объект исследований из АО Племенной форелеводческий завод «Адлер». В период эксперимента контрольную и 2 опытные группы содержали в трёх установках замкнутого цикла водоснабжения. Формировали 3 группы принципом пар аналогов по 200 голов, средней массой 55,5 г. Продолжительность эксперимента составила 16 недель.

Для питания применяли полнорационный комбикорм, полученный методом экструдирования. Размер кормовых частиц был адекватно пропорционален возрасту форели. Полнорационные составы для форели разрабатывали с учётом количества допустимого процентного ввода компонентов и норм потребности в питательных веществах для форели. В питании рыбы контрольной группы использовали тот же полнорационный комбикорм, который был принят в хозяйстве – месте постановки эксперимента. Причём экспериментальные группы поедали аналогичный корм, но с заменой белка животного происхождения на растительный протеин. Количество рыбной муки в контрольной группе составило 44 %. В 1-й опытной группе муку рыбную заменили растительным протеином на 7 %, итого в структуре рецепта рыбная мука составила 37 %. Во 2-й опытной группе для снижения клетчатки в рационе с люпина белого убирали оболочку, что позволило ввести в структуру рациона 25 % люпина. В итоге рыбную муку заменили на растительный протеин на 19 %, таким образом в структуре рецепта количество рыбной муки снижено до 25 %.

На период научных исследований было организовано питание форели не менее 4 дач корма в день, в светлое время суток, в равные интервалы времени. Суточную дачу корма определяли по известной в рыбоводстве методике, с учётом физических свойств воды и особенностей рыбы. Контролировали потребление комбикормов и отходы форели.

Анализ химических свойств воды осуществлялся в период посадки рыбы на эксперимент и в завершающей фазе исследований, в соответствии с методиками определения гидрохимических

свойств воды. Пробозабор осуществлялся согласно предписаниям, из поверхностного слоя. Изучение химсостава, физических свойств, проводили 2 методами – колориметрическим и титриметрическим, по соответствующим методикам [14]. Степень соответствия анализов рыбохозяйственным ПДК определяли по ОСТ 15.372-87 «Вода для рыбоводных хозяйств. Общие требования и нормы».

Биохимический анализ состава полнорационного комбикорма определяли на автоматизированном жидкостном хроматографе с детектором диодной матрицы Agilent 1100, Agilent Technologies, (США). И на спектральном анализаторе кормов ИНФРАСКАН-М, модификация 4200 (ООО «ЭКАН» НПП, Санкт-Петербург).

Образцы печени фиксировались в 10 % нейтральном формалине и заливались в желатин для приготовления гистологических срезов. Окраска препаратов осуществлялась суданом черным В, суданом красным и гематоксилином [15].

Данные экспериментов были подвергнуты статанализу в программе GraphPad Prizm 8.0 (США) и выражались в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Принятый уровень статистической значимости $p < 0,05$ [16, 17].

Как известно, на результат производства форели оказывают влияние химические и физические показатели качества воды. Поэтому, чтобы определить допустимость воды для экспериментов, необходимы данные анализов. Каковые показали, что концентрация растворенных в воде веществ не превышает допустимых значений, установленных ОСТ 15.372-87. На этом основании и был сделан вывод о целесообразности проведения экспериментов, что в дальнейшем позволило получить хорошую динамику роста рыбы и её сохранность.

В эксперименте была проанализирована степень воздействия растительного протеина в рационах форели на биометрические параметры. В анализе использовали форель средней живой массой около 290 г из контрольной и экспериментальных групп (см. табл.).

Масса внутренних органов
A mass of internal organs

Показатель	Контрольная	1-я опытная	2-я опытная
Сердце, г	$0,90 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,05$	$0,91 \pm 0,02$
Печень, г	$4,20 \pm 0,20$	$4,11 \pm 0,17$	$4,31 \pm 0,01$
Почки, г	$1,80 \pm 0,04$	$1,88 \pm 0,14$	$1,91 \pm 0,05$
Желудок, г	$4,20 \pm 0,13$	$4,31 \pm 0,33$	$4,51 \pm 0,02$
Кишечник, г	$4,10 \pm 0,18$	$5,18 \pm 0,08$	$3,19 \pm 0,11$

Примечание. Данные приведены в виде среднего значения и стандартной ошибки, $n = 4$ для всех групп. $P < 0.01^{**}$, $p < 0.05^{*}$ по сравнению с контрольной группой.

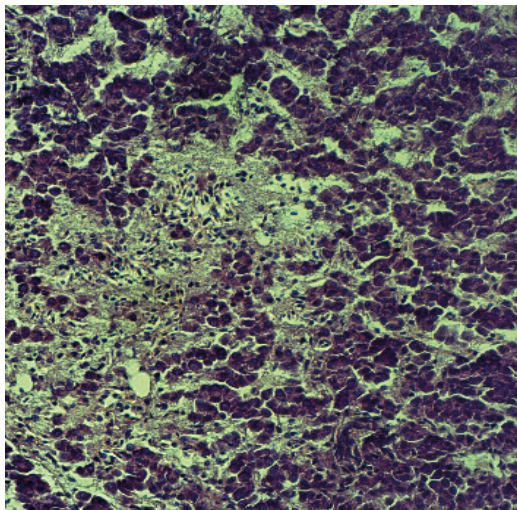
Включение в состав комбикорма белого люпина с оболочкой привело к увеличению массы кишечника. В 1-й опытной группе по отношению к контролю масса кишечника увеличилась на 26,3 %, во 2-й опытной группе уменьшилась на 22 %. По данным И. Н. Остроумовой, пищеварительная система форели достаточно быстро реагирует на физико-химические особенности пищи [18, 19]. При этом основным местом всасывания является передний отдел кишечника и область, примыкающая к пилорическим придаткам, где при оптимальном кормлении может быть резорбировано до 90 % белков, жиров и углеводов от общего количества, которое доступно рыбам из пищи. Желудок радужной форели тоже принимает активное участие во всасывании питательных веществ (29 % белков, 44 % липидов и 26 % углеводов). В нашем эксперименте масса желудка увеличилась в 1-й опытной группе на 2,6 % и во 2-й опытной на 7,38 %.

Анализ изученных литературных данных позволяет утверждать, что уменьшение массы кишечника во 2-й опытной группе, где использовали в структуре рациона люпин без оболочки в количестве 25 %, привело к более интенсивной переваримости питательных веществ в его крапильном отделе. Увеличение массы кишечника в 1-й опытной группе связано с применением люпина с оболочкой, что привело к адаптации форели, выразившейся в морфологических изменениях кишечника под воздействием клетчатки.

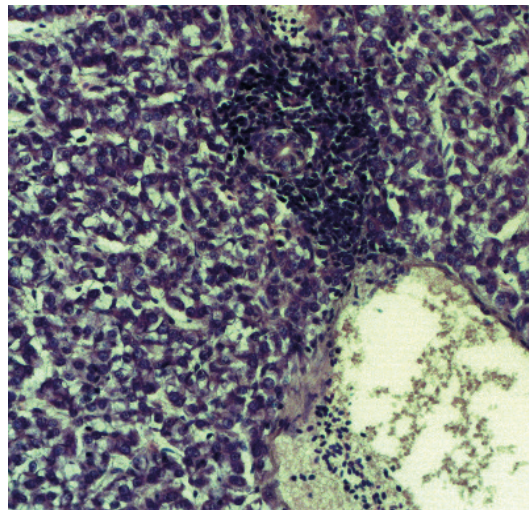
Печень как центральный орган метаболизма рыб характеризуется высокой интенсивностью процессов обмена. Для печени характерно повышенное содержание общих липидов, нуклеиновых кислот, гликогена, белка, а также структурных и резервных липидов всех классов. При этом максимальный уровень липидов сопряжен с состоянием нереста у рыб [20]. Наряду с активными реакциями биосинтеза и катаболизма необходимо отметить и постоянно протекающие в печени активные процессы обезвреживания и биоаккумуляции широкого ряда ксенобиотиков [21], а также регенерации поврежденных гепатоцитов, что связано с активацией свободно-радикальных реакций в лизосомах [22]. Для печени характерен высокий уровень эндогенной НАДФН-зависимой продукции ряда активных форм кислорода [21]. Все указанные особенности химического состава и функций печени, очевидно, способствуют более активному протеканию процессов ПОЛ в гепатоцитах, чем в клетках других органов рыб.

В рыбхозах у рыб может наблюдаться незаразное заболевание, характеризующееся образованием цирроида в результате самоокисления ненасыщенных жирных кислот и отложением его в печени. Причиной цирроидной (липоидной) дегенерации печени радужной форели является кормление рыбы недоброкачественными кормами, в частности долго хранящейся испорченной рыбной мукой.

Печень контрольных рыб имела нормальную структуру, патологических отклонений не обнаружено. Присутствуют гепатоциты, гомогенная цитоплазма и большое центральное и субцентрально-сферическое ядро.



Контроль



2-я опытная

Гистологический срез печени радужной форели
Histologic section of rainbow trout liver

В настоящем исследовании при изучении микроскопического строения печени достоверных различий между морфометрическими показателями у рыб контрольной и 1-й опытной групп не выявлено. Однако при исследовании ткани печени 2-й опытной группы выявлены некоторые дегенеративные изменения (см. рис.). Вакуолизация клеток печени во 2-й опытной группе, в

которой рыбу кормили рационом с повышенным содержанием растительного протеина в его структуре, была значительно ниже, и, соответственно, в этой группе были самые маленькие гепатоциты. Наблюдались дефекты клеточных контактов в печени, деструкция, и пролиферация клеток лимфогистиоцитарного ряда в синусоиды.

Подобные результаты были получены в исследованиях зарубежных авторов на радужной форели [23–26]. Как сообщают авторы, проявление инфильтрации воспалительных клеток в пластинке *proprgia* возникают, когда плотоядных рыб кормят растительными ингредиентами. Данный негативный эффект наблюдается у плотоядных видов, проявляясь через дегенерацию печени увеличением частоты лимфоцитарных очагов.

Гистопатологические изменения в печени 2-й опытной группы, выявленные в результате исследований под микроскопом, могут быть связаны с реакцией гепатоцитов на новое метаболическое состояние при кормлении хищных рыб растительным протеином в структуре полнорационного комбикорма с низким содержанием животного белка. Данная реактивная адаптация печени к новому растительному ингредиенту протеина носит кратковременный характер, но в долгосрочной перспективе может привести к некрозу печени, если вовремя не сбалансировать рацион кормления.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Dietary effects of coriandrum sativum extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) against yersinia ruckeri* / F.M. Naderi, S.H. Hoseinifar, G. Rashidian [et al.] // *Fish & Shellfish Immunology*. – 2019. – Vol. 91. – P. 233–241.
2. Гапонов Н.В., Пигарева С.А. Влияние технологических обработок зерна люпина на химический состав концентрата и переваримость питательных веществ у цыплят-бройлеров // *Проблемы биологии продуктивных животных*. – 2010. – № 3. – С. 47–53. – EDN: MUVYHF.
3. Гапонов Н.В. Значение люпина в продовольственной безопасности страны // *Инновации и продовольственная безопасность*. – 2020. – № 4 (30). – С. 101–107. – DOI: 10.31677/2072-6724-2020-30-4-101-107. – EDN: MEIAUL.
4. Гапонов Н.В. Использование белого люпина для улучшения продуктивности радужной форели // *Зоотехния*. – 2023. – № 2. – С. 23–27. – DOI: 10.25708/ZT.2023.95.24.006. – EDN: VASNEP.
5. Gemedede H.F.; Ratta N. Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects // *Int. J. Nutr. Food Sci*. – 2014. – Vol. 3. – P. 284–289.
6. Gomes F., Rema P., Kaushik S.J. Replacement of fishmeal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. // *Aquaculture*. – 1995. – Vol. 130, Is. 2–3. – P. 177–186.
7. Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. – Л.: Наука, 1985. – 554 с.
8. Щербина М.А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. – М.: ВНИРО, 2006. – 364 с.
9. Уголев А.М. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. – СПб.: Гидрометеиздат, 1994. – 239 с.
10. Энергосахаропротеиновый концентрат и способ его приготовления: 2461211 С2 Рос. Федерация. № 2010144896/13; заявл. 02.11.2010; опубл. 20.09.2012. – EDN: AUKXWM.
11. Власов В.А. Использование биологически активных добавок в кормлении рыб // *Рыбоводство и рыбное хозяйство*. – 2019. – № 1. – С. 123–130.
12. *Biochemical indicators of primate blood as a result of the inclusion of white lupine in diet structures* / N.V. Gaponov, O.P. Neverova, S.Yu. Harlap [et al.] // *Innovative Technologies in Agriculture: AIP conference proceedings: International Scientific and Practical Conference*. Orel, march 23–24 2022 г. – 2023. – Vol. 2921, Is. 1. – P. 020003. – DOI: 10.1063/5.0165004. – EDN: QEUKDJ.
13. Ketola H.G. Amino acid nutrition of fishes: Requirements and supplementation of diets // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular*. – 1982. – Vol. 16. – 25 p.
14. Алевкин О.А., Семёнов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу воды. – Л.: Гидрометеиздат, 1987. – 385 с.
15. Кононский А.И. Гистохимия. – М., 1976. – 278 с.

16. Gaponov N.V., Loretts O.G., Neverova O.P. Effects of white lupine on hematological and morphophysiological parameters of rainbow trout // BIO Web of Conferences. – 2024. – Vol. 108. – P. 01007. – DOI: 10.1051/bioconf/202410801007. – EDN: AQLCGW.
17. Gaponov N.V., Loretts O.G., Neverova O.P. The effect of plant protein high levels in feed on biometric and histopathological parameters of rainbow trout // BIO Web of Conferences. – 2024. – Vol. 108. – P. 01006. – DOI: 10.1051/bioconf/202410801006. – EDN: DLHXRU.
18. Скляр В.Я. Корма и кормление рыб в аквакультуре. – М.: ВНИРО, 2008. – 150 с.
19. Использование полиморфизма белков семян для сортовой идентификации люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) / Э.Э. Егги, М.С. Вишневская, П.А. Агеева [и др.] // Аграрная Россия. – 2012. – № 4. – С. 28. – EDN: TMVKED.
20. Shulman G.E., Love R.M. The Biochemical Ecology of Marine Fishes // Advances in Marine Biology. – San Diego: Acad. Press, 1999. – P. 36–351.
21. Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // Mar. Pollut. Bull. – 2001. – Vol. 42, № 8. – P. 656–666.
22. Morre M.N. Molecular and cellular pathology: summary // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 1992. – P. 117–119.
23. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases / Office International des Epizooties. – 4-th Ed. – Paris: World Organization for Animal Health, 2003. – Ch. 2.1.8.
24. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles / A. Figueiredo-Silva, E. Rocha, J. Dias [et al.] // Aquacult Nutr. – 2005. – Vol. 11. – P. 147–155.
25. Feeding high inclusion of whole grain white lupin (*Lupinus albus*) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, nutrient digestibility, liver and intestine histology and muscle fatty acid composition / A. Borquez, E. Serrano, P. Dantagnan [et al.] // Aquacul Res. – 2011. – Vol. 42. – P. 1067–1078.
26. Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. – СПб.: ГОНИОРХ, 2001. – 372 с.

REFERENCES

1. Naderi Farsani M., Hoseinifar S.H., Rashidian G., Ghafari Farsani H., Ashouri G., Doan H. Van, Dietary effects of coriandrum sativum extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) against yersinia ruckeri, *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, Vol. 91, P. 233–241.
2. Gaponov N.V., Pigareva S.A., *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh*, 2010, No. 3, pp. 47–53, EDN: MUVYHF. (In Russ.)
3. Gaponov N.V. *Innovacii i proizvodstvennaya bezopasnost'*, 2020, No. 4 (30), pp. 101–107, DOI: 10.31677/2072-6724-2020-30-4-101-107, EDN: MEIAUL. (In Russ.)
4. Gaponov N.V. *Zootekhnika*, 2023, No. 2, pp. 23–27, DOI: 10.25708/ZT.2023.95.24.006, EDN: VASNEP. (In Russ.)
5. Gemedede H.F., Ratta N., Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects, *Int. J. Nutr. Food Sci*, 2014, Vol. 3, P. 284–289.
6. Gomes F., Rema P., Kaushik S.J., Replacement of fishmeal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance, *Aquaculture*, 1995, Vol. 130, Issue 2–3, P. 177–186.
7. Ugolev A.M. *Evoluciya pishchevareniya i principy evolyucii funkciy* (Evolution of digestion and principles of evolution of function), Leningrad: Nauka, 1985, 554 p.
8. Shcherbina M.A. *Kormlenie ryb v presnovodnoj akvakul'ture* (Feeding fish in freshwater aquaculture), Moscow: VNIRO, 2006, 364 p.
9. Ugolev A.M. *Pishchevaritel'nye processy i adaptacii u ryb* (Digestive processes and adaptations in fish), St. Petersburg: Gidrometeoizdat, 1994, 239 p.
10. Artyuhov A.I., Gaponov N.V. Patent No. 2461211 C2 Rossijskaya Federaciya, MPK A23K 1/00. energosaharoproteinovyy konzentrat i sposob ego prigotovleniya: № 2010144896/13: zayavl. 02.11.2010: opubl. 20.09.2012, EDN: AUKXWM. (In Russ.)
11. Vlasov V.A. *Rybovodstvo i rybnoe hozyaistvo*, 2019, No. 1, pp. 123–130. (In Russ.)

12. Gaponov N.V., Neverova O.P., Harlap S.Yu. [et al.], Biochemical indicators of primate blood as a result of the inclusion of white lupine in diet structures, *Innovative Technologies in Agriculture: AIP conference proceedings*, International Scientific and Practical Conference, Orel, March 23–24 2022 g., 2023, Vol. 2921, Is. 1, P. 020003, DOI: 10.1063/5.0165004, EDN: QEUKDJ.
13. Ketola H.G. Amino acid nutrition of fishes: Requirements and supplementation of diets, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular*, 1982, Vol. 16, 25 p.
14. Alekin O.A., Semyonov A.D., Skopincev B.A. *Rukovodstvo po himicheskomu analizu vody* (Guidelines for chemical analysis of water), Leningrad: Gidrometeoizdat, 1987, 385 p.
15. Kononskij A.I. *Gistohimiya* (Histochemistry), Moscow, 1976, 278 p.
16. Gaponov N.V., Loretts O.G., Neverova O.P., Effects of white lupine on hematological and morphophysiological parameters of rainbow trout, *BIO Web of Conferences*, 2024, Vol. 108, P. 01007, DOI: 10.1051/bioconf/202410801007, EDN: AQLCGW.
17. Gaponov N.V., Loretts O.G., Neverova O.P., The effect of plant protein high levels in feed on biometric and histopathological parameters of rainbow trout, *BIO Web of Conferences*, 2024, Vol. 108, P. 01006, DOI: 10.1051/bioconf/202410801006, EDN: DLHXRU.
18. Sklyarov V.Ya. *Korma i kormlenie ryb v akvakul'ture* (Feed and feeding of fish in aquaculture), Moscow: Izd-vo VNI-RO, 2008, 150 p.
19. Eggi E.E., Vishnevskaya M.S., Ageeva P.A. [i dr.], *Agrarnaya Rossiya*, 2012, No. 4, pp. 2–8, EDN: TMVKED. (In Russ.)
20. Shulman G.E., Love R.M. The Biochemical Ecology of Marine Fishes, *Advances in Marine Biology*, San Diego: Acad. Press, 1999, P. 36–351.
21. Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms, *Mar. Pollut. Bull.*, 2001, Vol. 42, No. 8, P. 656–666.
22. Morre M.N. Molecular and cellular pathology: summary, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1992, P. 117–119.
23. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Office International des Epizooties, 4-th Ed, Paris: World Organization for Animal Health, 2003, Ch. 2.1.8.
24. Figueiredo-Silva A., Rocha E., Dias J. [et al.], Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles, *Aquacult Nutr.*, 2005, Vol. 11, P. 147–155.
25. Borquez A., Serrano E., Dantagnan P. [et al.], Feeding high inclusion of whole grain white lupin (*Lupinus albus*) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, nutrient digestibility, liver and intestine histology and muscle fatty acid composition, *Aquacul Res.*, 2011, Vol. 42, P. 1067–1078.
26. Ostroumova I.N. *Biologicheskie osnovy kormleniya ryb* (Biological basis of fish feeding), St. Petersburg, 2001, 372 p.