

RESEARCH OF ENVIRONMENTAL CONTAMINATION




O. N. Marenkov  Cand. Sci. (Biol.)
K. K. Holoborodko Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.
Yu. S. Voronkova Cand. Sci. (Biol.)
V. A. Gorban Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

UDK 595.36

*O. Honchar Dnipro National University,
Gagarin ave, 72, Dnipro, Ukraine, 49010*

FEATURES OF HISTOLOGICAL ADAPTATION OF MARBLED CRAYFISH *PROCAMBARUS FALLAX F. VIRGINALIS* (DECAPODA) TO THE DIFFERENT CONCENTRATION OF CADMIUM IONS IN MODEL EXPERIMENT

Abstract. The article shows the results of studies on the influence of cadmium ions on the histological structure of antennal gland cells of marbled crayfish *Procambarus fallax f. virginalis* Martin et al., 2010 (Decapoda). Due to the fact that marbled crayfish got into the reservoirs of the Dnipropetrovsk region in 2015, it was necessary to study the possibilities of its adaptation to environmental factors of reservoirs for further prediction of its distribution or even acclimatization under conditions of toxicological contamination of the ponds of the steppe Prydniprovyia. We conducted a laboratory model experiments to study the mechanisms of adaptation of marbled crayfish *Procambarus fallax f. virginalis*. The effect of different concentrations of cadmium ions (0.01 mg/l, 2 MPC) on physiological state and histostucture of the excretory system of marbled crayfish was determined. The cells of the antennal gland of marbled crayfish in the control had a size of $166.08 \pm 10.13 \mu\text{m}^2$. Glandulocytes had clear cells edges, pronounced structure of ducts, and a clear basal membrane. The cells had large nuclei with a cross-sectional area of $51.31 \pm 3.92 \mu\text{m}^2$. The nucleic membrane had clear edges, there were nucleoli in nuclei that were characterized by basophilia. That is, the structure of the antennal gland of marbled crayfish in control was normal for Decapods. The worst histological picture of antennal gland cells was observed in individuals exposed to cadmium ions. The structure of the excretory ducts of the green gland was broken, they had fuzzy boundaries, contained a large number of fragments of glandulocytes cytoplasm. In some cells there was a picnose of nuclei, as well as the output of a nucleolus beyond the nucleus which is the appearance of the micronucleus. This phenomenon is caused by the toxicological effects of cadmium. Compared with control, the glandulocytes of the antennal gland were 14.8 % smaller, their area of cross-section reached $141.44 \pm 7.60 \mu\text{m}^2$. The nuclei of the glandular cells were also significantly lower by 17.5 % than such in control, and their area reached $42.32 \pm 1.74 \mu\text{m}^2$. To study the influence of cadmium on the glandular cells of the green gland of marbled crayfish, the index of nuclear-cytoplasmic ratio (NCR) was used. The indicator of nuclear-cytoplasmic ratio allows estimating the level of metabolism and detecting the manifestation of compensatory reactions of the organism of experimental crayfish. The value of NCR in the trial and control did not differ statistically and amounted to 0.31 units. This indicates an interproportional reduction in both the cytoplasm of the cells of the green gland and their nuclei, caused by cadmium exposure. It was determined that under

 Tel.: +38066-512-29-44. E-mail: gidrobions@gmail.com

DOI: 10.15421/031714

ISSN 1726-1112. Ecology and noospherology. 2017. Vol. 28, no. 3–4

37

the influence of heavy metals the size of the glandular cells and their nuclei decreases, while the nuclear-cytoplasmic ratio remains the same, which is probably an adaptive reaction of the excretory system against the influence of heavy metal ions. Investigation of the histological structure of tissues and organs of marbled crayfish will allow the development of measures for the determination of biomarkers for the bioindication of the aquatic environment using freshwater crayfish. The results of such studies have an important fundamental and applied significance for understanding the mechanisms of adaptation of crustaceans to the conditions of toxicological burden on aquatic ecosystems.

Keywords: *marble crayfish, Procambarus fallax f. virginalis, cadmium, heavy metals, antennal gland.*

УДК 595.36

О. Н. Маренков

канд. биол. наук

К. К. Голобородько

канд. биол. наук, доц.

Ю. С. Воронкова

канд. биол. наук

В. А. Горбань

канд. биол. наук, доц.

*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара,
пр. Гагарина, 72, г. Днепр, Украина, 49010,
тел.: +38066-512-29-44, e-mail: gidrobions@gmail.com*

ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ МРАМОРНЫХ РАКОВ *PROCAMBARUS FALLAX F. VIRGINALIS* (DECAPODA) К РАЗНЫМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ КАДМИЯ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Аннотация. В статье приведены результаты исследований влияния ионов кадмия на гистологическую структуру клеток антеннальной железы мраморного рака *Procambarus fallax f. virginalis* Martin et al., 2010 (Decapoda).

Клетки антеннальной железы мраморного рака в контроле имели размер $166,08 \pm 10,13$ мкм². Гландулоциты характеризовались наличием четких краев клеток, выраженной структурой протоков, четкой базальной мембраной. Клетки имели крупные ядра с площадью поперечного сечения $51,31 \pm 3,92$ мкм². Нуклеарная мембрана имела четкие края, в ядрах наблюдали ядрышка, которые характеризовались базофилией. То есть структура антеннальной железы мраморного рака в контроле соответствовала норме для десятиногих ракообразных.

Наиболее плохую гистологическую картину для клеток антеннальной железы наблюдали у особей, которые находились под воздействием ионов кадмия. Структура выводящих протоков зеленой железы была нарушена, они имели нечеткие границы, содержали в себе большое количество фрагментов цитоплазмы glandулоцитов. В некоторых клетках наблюдался пикноз ядер, а также выход ядрышка за границы ядра – появление микроядер. Подобное явление объясняется токсикологическим влиянием кадмия.

По сравнению с контролем glandулоциты антеннальной железы были на 14,8 % меньше, площадь их поперечного сечения достигла величины $141,44 \pm 7,60$ мкм². Ядра железистых клеток также были достоверно меньше на 17,5 %, чем контрольные показатели, а их площадь достигла $42,32 \pm 1,74$ мкм².

Для определения влияния кадмия на железистые клетки зеленой железы мраморных раков использовали показатель ядерно-цитоплазматического соотношения (ЯЦС). Показатель ядерно-цитоплазматического соотношения позволяет оценить уровень метаболизма и выявить проявление компенсаторных реакций организма исследуемых раков. Величина ЯЦС в опыте и контроле статистически не отличалась и достигала величины 0,31 единицы. Это указывает на взаимопропорциональное уменьшение как цитоплазмы клеток зеленой железы, так и их ядер, что вызвано влиянием кадмия.

Установлено, что под воздействием тяжелых металлов закономерно уменьшаются размеры glandулоцитов и их ядер, при этом устойчиво сохраняется ядерно-цитоплазматическое соотношение, что, вероятно, является адаптационной реакцией выделительной системы на влияние ионов тяжелых металлов.

Ключевые слова: *мраморные раки, Procambarus fallax f. virginalis, кадмий, тяжелые металлы, антеннальная железа.*

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010,
тел.: +38066-512-29-44, e-mail: gidrobions@gmail.com

**ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНОЇ АДАПТАЦІЇ МАРМУРОВИХ РАКІВ
PROCAMBARUS FALLAX F. VIRGINALIS (DECAPODA)
ДО РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ КАДМІЮ
В УМОВАХ МОДЕЛЬНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ**

Анотація. У статті наведено результати досліджень впливу іонів кадмію на гістологічну структуру клітин антенальної залози мармурового рака *Procambarus fallax f. virginalis* Martin et al., 2010 (Decapoda).

Клітини антенальної залози мармурового рака в контролі мали розмір $166,08 \pm 10,13$ мкм². Гландулоцити характеризувалися наявністю чітких країв клітин, вираженою структурою протоків, чіткою базальною мембраною. Клітини мали крупні ядра з площею поперечного перерізу $51,31 \pm 3,92$ мкм². Нуклеарна мембрана мала чіткі краї, в ядрах спостерігалися ядерця, які характеризувалися базофілією. Тобто структура антенальної залози мармурового рака в контролі відповідала нормі для десятиногих ракоподібних.

Найгірша гістологічна картина для клітин антенальної залози спостерігалася в особин, які знаходилися під впливом іонів кадмію. Структура вивідних протоків зеленої залози була порушена, вони мали нечіткі границі, містили в собі велику кількість фрагментів цитоплазми glandулоцитів. У деяких клітинах спостерігався пікноз ядер, а також вихід ядерця за межі ядра – поява мікроядер. Подібне явище пояснюється токсикологічним впливом кадмію.

Порівняно з контролем glandулоцити антенальної залози були на 14,8 % меншими, площа їх поперечного перерізу сягала величини $141,44 \pm 7,60$ мкм². Ядра залозистих клітин також були достовірно меншими на 17,5 % за контрольні показники, а їх площа сягнула $42,32 \pm 1,74$ мкм².

Для визначення впливу кадмію на залозисті клітини зеленої залози мармурових раків використовували показник ядерно-цитоплазматичного відношення (ЯЦВ), який дозволяє оцінити рівень метаболізму та виявити прояв компенсаторних реакцій організму дослідних раків. Величина ЯЦВ в досліді та контролі статистично не різнилася та становила 0,31 одиниці. Це вказує на взаємопропорційне зменшення як цитоплазми клітин зеленої залози, так і їх ядер, що викликано впливом кадмію.

Установлено, що під впливом важких металів закономірно зменшуються розміри glandулоцитів та їх ядер, при цьому стало зберігається ядерно-цитоплазматичне відношення, що, певно, є адаптаційною реакцією видільної системи на вплив іонів важких металів.

Ключові слова: мармурові раки, *Procambarus fallax f. virginalis*, кадмій, важкі метали, антенальна залоза.

ВСТУП

Мармуровий рак *Procambarus fallax f. virginalis* Martin et al., 2010 (Decapoda) – північноамериканський вид-вселенець, якого привезли до Європи як акваріумний вид. Через значну популярність в акваріумістиці він потрапив до країн Європи, Азії та Африки, де, скоріше за все, у результаті недбалості акваріумістів був випущений до природних водойм. Так, починаючи з 1990-х років відзначено появу партеногенетичної форми мармурового рака у водоймах Німеччини та Нідерландів (Holdich, Röckl, 2007; Souty-Grosset, Reynolds, 2009; Soes, Koese, 2010; Svobodová, Vlach, Fischer, 2010). У 2007–2008 рр. його появу зафіксували в Італії (Marzano et al., 2009), у 2015 р. – у Чехії та в Україні (Patoka et al., 2015; Novitsky, Son, 2016).

Стрімке поширення виду пояснюється тим, що популяція мармурового рака представлена виключно триплоїдними партеногенетичними самками, які відкладають

незапліднену ікру, з якої народжуються «клонівані» генетично однорідні особини даного виду. Ні в природних умовах, ні в лабораторних дослідженнях не було знайдено самців даного виду (партеногенетичної форми) (Scholtz et al., 2003).

У зв'язку з тим що мармуровий рак потрапив до водойм України, виникла необхідність дослідження можливостей адаптацій до екологічних умов водойм з метою подальшого прогнозування його поширення або навіть акліматизації в умовах токсикологічного забруднення водойм степового Придніпров'я (Holoborodko et al., 2016). Тому метою нашої роботи було визначення впливу важких металів на фізіологічний стан та гістоструктуру видільної системи мармурового рака.

Пріоритетними токсичними забруднювачами водойм є важкі метали, вони становлять надзвичайну небезпеку як забруднювачі природних вод, які навіть у порівняно малих концентраціях можуть негативно впливати на водні організми. Біологічні наслідки забруднення важкими металами водного середовища виявляються насамперед у прямій токсичній дії на гідробіонтів, що призводить до ураження їх фізіологічних систем.

Багаторічні дослідження вчених показали, що у воді Запорізького (Дніпровського) водосховища та його притоках постійно спостерігається порушення нормативних вимог СанПіН-88 за вмістом Cd, Mn, Cu і на деяких ділянках – за вмістом Zn, Ni і Fe. Зазначені важкі метали здатні знижувати чисельність, пригнічувати розвиток та викликати загибель гідробіонтів, чутливих до дії токсикантів (Fedonenko et al., 2012).

Особливий інтерес становить вивчення адаптаційних можливостей нових видів гідробіонтів, які вперше вселяються до водойм зі сталим екологічним режимом та сформованим токсикологічним фоном. У такому випадку нові види можуть або загинути, не витримавши тиску антропогенних чинників, або, навпаки, адаптуватися до нових умов. При цьому процес адаптації, який відбувається на біохімічному та клітинному рівні, створює передумови виживання популяції інвазійного виду.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Нами проведено лабораторні модельні експерименти з вивчення механізмів адаптацій мармурового рака *Procambarus fallax f. virginalis* Martin et al., 2010 (Descaroda). Визначено вплив різних концентрацій важких металів на фізіологічний стан та гістоструктуру видільної системи мармурового рака.

Експеримент проводився в акваріумах робочою ємністю 30 л. Температура води підтримувалася терморегулятором і в усіх акваріумах становила +24 °С. Кисневий режим підтримувався компресором, уміст кисню у воді акваріумів становив 8 мг/л. Двічі на тиждень проводили повну заміну води в акваріумах та додавали токсиканти із розрахунку концентрацій іонів Cd – 0,01 мг/л (2 ГДК). Концентрації кадмію визначалися із розрахунку їх вмісту у воді Запорізького (Дніпровського) водосховища – основній водоймі-реципієнті цього виду. Годівлю раків здійснювали кожного дня однаковою кількістю корму. У кожен акваріум було висаджено по 11 екземплярів мармурових раків однакової розмірно-вікової групи, отриманих партеногенетично від однієї самки. Експеримент тривав 21 добу.

З метою дослідження впливу важких металів на гістоструктуру антенальної залози мармурових раків використовували гістологічні методи досліджень. Особин контрольної та дослідної групи після закінчення експерименту фіксували у 4%-ному розчині формаліну з подальшим опрацюванням згідно з загальноприйнятими гістологічними методами (Mumford et al., 2007). Для виготовлення зрізів використовували мікротом МС-2. Гістологічні зрізи фарбували за допомогою гематоксилін-еозину. Мікрофотографії препаратів робили за допомогою цифрової насадки на мікроскоп Sciencelab T500 5.17 М, яку підключали до оптичного мікроскопу моделі Jenaval. Опис гістологічних препаратів здійснювали з використанням атласу

гістології ракоподібних (Shields, Boyd, 2014). Величину ядерно-цитоплазматичного відношення розраховували як відношення площі ядра до площі клітини.

Статистичну обробку даних здійснювали за загальноприйнятими методиками з використанням програмних пакетів для персональних комп'ютерів Microsoft Excel 2007 і Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед важких металів кадмій належить до найбільш шкідливих речовин-забруднювачів водного середовища. Навіть залишкові його концентрації здатні викликати незворотні функціональні порушення, деформації, а також викликати загибель гідробіонтів. За токсичністю для прісноводних організмів кадмію належить перше місце. У багатьох країнах світу вміст кадмію у воді жорстко регламентується для різних видів водокористування. У відповідності з рекомендаціями експертів ФАО/ВОЗ (Food and Agricultural Organization/World Health Organization) вміст кадмію у питній воді регламентується на рівні 1 мкг/л.

Іони кадмію викликають функціональні порушення в тканинах і органах гідробіонтів, впливаючи на репродуктивну систему, респіраторні органи, залози, органи травлення та виділення, шкірні покриви і клітини крові водяних тварин.

Основними органами виділення у мармурових раків є пара видозмінених метанефридіїв – антенальних залоз, або зелених залоз. Це досить крупні округлі залози, що розташовані в головному відділі та відкриваються протоками в основних члениках антен. Кожна залоза складається з невеликого ціломічного мішечка, звивистого каналця та сечового міхура.

Секреторна частина антенальної залози мармурового рака має вигляд мішечка, розділеного на чисельні камери, що вистилаються одношаровим залозистим епітелієм (рис. 1). На гістологічних препаратах помітні ряди залозистих клітин, які знаходяться на тонкій базальній мембрані. Клітини кубічної форми, містять дуже крупне ядро, в якому добре помітне ядерце. Кількість ядерців може варіювати від одного до декількох.

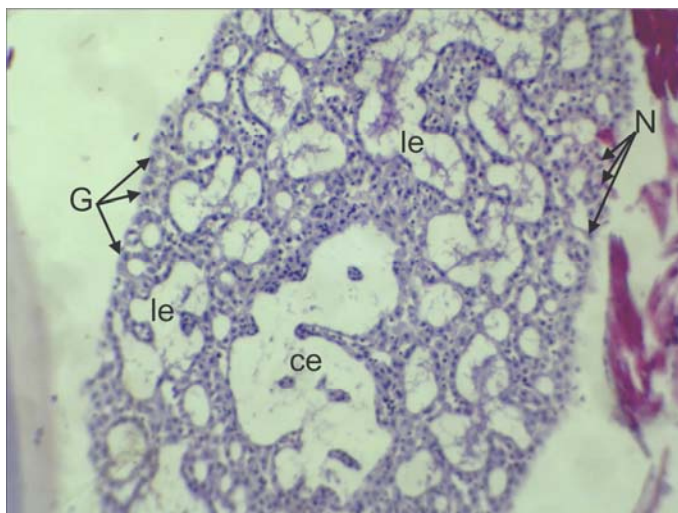


Рис. 1. Зелена залоза рака, контроль (об'єктив 8×):
G – гландулоцит, le – лабіринт зеленої залози,
ce – ціломічний мішечок, N – ядра гландулоцитів

Секрет залози накопичується в апікальній частині клітини, протоплазма при цьому розріджується та частково витрачається на створення секрету. На зовнішній частині клітини виникають вирости, які перетворюються на крупні пухирці, що

містять секрет та рідку протоплазму. Потім ці пухирці відриваються від клітини і деякий час лежать у просвіті залози у вигляді крапель або пухирців.

Після відділення апікальної частини клітина стає досить низькою, на вільній її поверхні з'являється виїмка (рис. 2). Поступово клітини залози відновлюються та виростають до нормальних розмірів, повторюючи секреторний цикл.

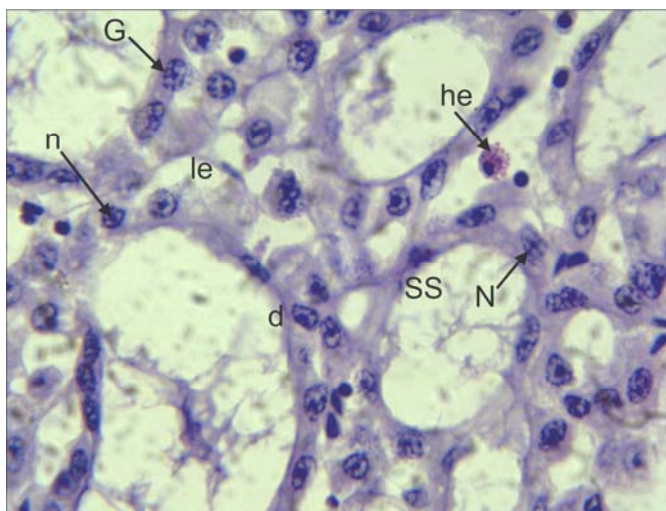


Рис. 2. Гістологічна картина антенальної залози мармурового рака, контроль (об'єктив 40×): G – гландулоцит, le – лабіринт зеленої залози, SS – секреторний відділ, d – протока, N – ядра гландулоцитів, n – ядереця, he – гемоцит

Клітини антенальної залози мармурового рака в контролі мали розмір $166,08 \pm 10,13$ мкм² (таблиця). Гландулоцити характеризувалися наявністю чітких країв клітин, вираженою структурою протоків, чіткою базальною мембраною. Клітини мали крупні ядра з площею поперечного перерізу $51,31 \pm 3,92$ мкм². Нуклеарна мембрана мала чіткі краї, в ядрах спостерігалися ядереця, які характеризувалися базофілією. Тобто структура антенальної залози мармурового рака в контролі відповідала нормі для десятиногих ракоподібних.

Результати гістометричного аналізу клітин антенальної залози мармурового рака

Дослідна група	Площа клітин, мкм ² (n=120)	Площа ядер, мкм ² (n=120)	Величина ЯЦВ (n=120)
Контроль	$166,08 \pm 10,13$	$51,31 \pm 3,92$	$0,31 \pm 0,01$
Кадмій, 2 ГДК (0,01 мг/л)	$141,44 \pm 7,60^*$	$42,32 \pm 1,74^*$	$0,31 \pm 0,02$

* Різниця достовірна при $p < 0,05$.

Найгірша гістологічна картина для клітин антенальної залози спостерігалася в особин, які знаходилися під впливом іонів кадмію. Структура вивідних протоків зеленої залози була порушена, вони мали нечіткі границі, містили в собі велику кількість фрагментів цитоплазми гландулоцитів. У деяких клітинах спостерігався пікноз ядер, а також вихід ядереця за межі ядра – поява мікроядер. Подібне явище пояснюється токсикологічним впливом кадмію (рис. 3).

Порівняно з контролем гландулоцити антенальної залози були на 14,8 % меншими, площа їх поперечного перерізу сягала величини $141,44 \pm 7,60$ мкм². Ядра залозистих клітин також були достовірно меншими на 17,5 % за контрольні показники, а їх площа сягнула $42,32 \pm 1,74$ мкм².

Для визначення впливу кадмію на залозисті клітини зеленої залози мармурових раків використовували показник ядерно-цитоплазматичного відношення (ЯЦВ). Відношення між площами цитоплазми та ядра клітин вивідної системи – це важлива гістоморфологічна характеристика, яка дозволяє оцінити рівень метаболізму та виявити прояв компенсаторних реакцій організму. Зміни розмірів ядер та ядерно-цитоплазматичного співвідношення можуть слугувати індикатором запалення та деяких форм патологічних змін у секреторних клітинах. Величина ЯЦВ в досліді та контролі статистично не різнилася і становила 0,31 одиниці. Це вказує на взаємопропорційне зменшення як цитоплазми клітин зеленої залози, так і їх ядер, що викликано впливом кадмію.

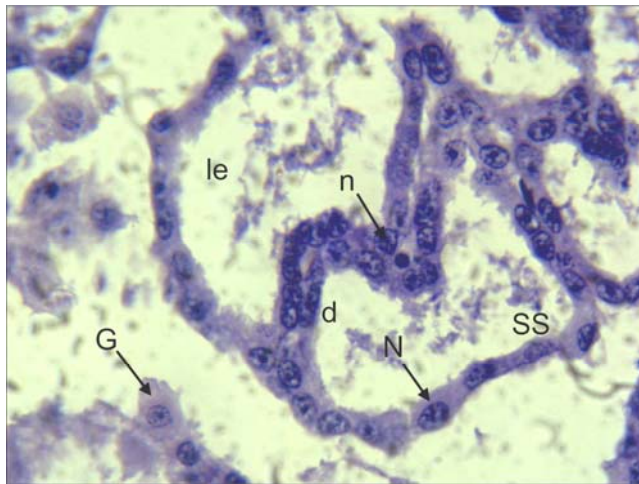


Рис. 3. Антенальна залоза мармурового рака під впливом кадмію (об'єктив 40х): G – гландулоцит, le – лабіринт зеленої залози, SS – секреторний відділ, d – протока, N – ядра гландулоцитів, n – ядрця

Таким чином, під впливом важких металів спостерігаються помітні зміни в структурі антенальної залози мармурових раків. Закономірно зменшуються розміри клітин та ядер гландулоцитів, при цьому стало зберігається ядерно-цитоплазматичне відношення, що, певно, є адаптаційною реакцією видільної системи на вплив іонів кадмію.

ВИСНОВКИ

1. Поява мармурового рака у водоймах степового Придніпров'я може сигналізувати про можливу його акліматизацію та подальше поширення виду територією України. Стрімке поширення виду водоймами Європи викликано широкими можливостями партеногенетичної форми мармурового рака до адаптацій, навіть у водоймах із напруженим токсикологічним станом.

2. Експериментально змодельовані концентрації важких металів на прикладі кадмію – 0,01 мг/л (2 ГДК) дозволили виявити реакцію видільної системи мармурових раків. Визначено, що під впливом іонів кадмію зменшується площа клітин гландулоцитів на 10,4–14,8 %. Також відбувається зменшення нуклеарного апарату клітин, під впливом кадмію – на 17,5 %.

3. Величина ядерно-цитоплазматичного відношення дозволяє оцінити рівень метаболізму та виявити прояв компенсаторних реакцій організму мармурових раків. Так, у досліді та контролі величина ЯЦВ статистично не різнилася і становила 0,31 одиниці, що вказує на взаємопропорційне зменшення як цитоплазми клітин зеленої залози, так і їх ядер, що викликано впливом кадмію.

4. Зафіксовано негативний ефект від впливу йонів кадмію: структура вивідних протоків зеленої залози була порушена, вони мали нечіткі границі, містили в собі велику кількість фрагментів цитоплазми гландулоцитів, спостерігався пікноз ядер, а також поява мікроядер.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

- Fedonenko, O. V., Esipova, N. B., Sharamok, T. S., Ananieva, T. V., Yakovenko, V. A., Zhezhera, V. A., 2012. Suchasni problemy hidroekolohiyi: Zaporizke vodoskhozvyshe [Modern problems in hydroecology: Zaporizhzhya Reservoir], Dnipropetrovsk (in Ukrainian).
- Holdich, D. M. & Pöckl, M., 2007. Invasive crustaceans in European inland waters. Biological Invaders in Inland Waters: Profiles, Distribution, and Threats. Francesca Gherardi. Dordrecht, Netherlands. Springer. 29–75. doi:10.1007/978-1-4020-6029-8 2.
- Holoborodko, K. K., Marenkov, O. M., Gorban, V. A. & Voronkova, Y. S., 2016. The problem of assessing the viability of invasive species in the conditions of the steppe zone of Ukraine. Visnyk of Dnipropetrovsk University Biology, Ecology 24(2), 466–472. doi:10.15421/011663
- Marzano, F. N., Scalici, M., Chiesa, S., Gherardi, F., Piccinini, A. & Gibertini, G., 2009. The first record of the marbled crayfish adds further threats to fresh waters in Italy. Aquatic Invasions 4(2), 401–404.
- Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., Macconnell, B. & Blazer, V., 2007. Fish Histology and Histopathology 4th Edition. US Fish & Wildlife Service. West Virginia, 357.
- Novitsky, R. A. & Son, M. O. 2016. The first records of Marmorokrebs [Procambarus fallax (Hagen, 1870) f. virginalis] (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in Ukraine. Ecol Montenegrina 5, 44–46.
- Patoka, J., Kalous, L. & Kopecký, O., 2015. Imports of ornamental crayfish: the first decade from the Czech Republic's perspective. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, (416), 4.
- Scholtz, G., Braband, A., Tolley, L., Reimann, A., Mittmann, B., Lukhaup, C., Steuerwald, F. & Vogt, G. 2003. Parthenogenesis in an outsider crayfish. Nature. 421(6925), 806. doi:10.1038/421806a
- Shields, J. D. & Boyd, R., 2014. Atlas of Lobster Anatomy and Histology, Virginia Institute of Marine Science.
- Soes, D. and Koese, B., 2010. Invasive crayfish in the Netherlands: a preliminary risk analysis. EIS-Nederland and Bureau Waardenburg, Waardenburg, The Netherlands, 69 p.
- Souty-Grosset, C. & Reynolds, J., 2009. Current ideas on methodological approaches in European crayfish conservation and restocking procedures. Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst., 394–395, 01.
- Svobodová, J., Vlach, P. & Fischer, D., 2010. Legislativní ochrana rakův České republice a ostatních státech Evropy. VTEI, 52, 1–5.

Стаття надійшла в редакцію 08.10.2017