

## ВЛИЯНИЕ ТРЕКРЕЗАНА НА СТРУКТУРУ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ КРОВИ КЛАРИЕВЫХ СОМОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В БАССЕЙНОВОЙ АКВАКУЛЬТУРЕ

**Шленкина Татьяна Матвеевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

**Романова Елена Михайловна**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

**Любомирова Васелина Николаевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

**Шадыева Людмила Алексеевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.: 8(8422)55-23-75; e-mail: t-shlenkina@yandex.ru

**Ключевые слова:** аквакультура, африканский клариевый сом, адаптоген трекрезан, лейкоцитарная формула.

Работа посвящена исследованию влияния адаптогена трекрезана на физиологические процессы в организме рыб. В частности, оценивалось влияние трекрезана на состав клеток белой крови африканского клариевого сома. Лейкоцитарная формула африканского клариевого сома в настоящее время не достаточно изучена. Целью нашей работы было исследование лейкоцитарной формулы африканского клариевого сома в норме и на фоне использования адаптогена трекрезана. Лейкоциты выполняют в организме множество функций. Каждый вид клеток белой крови имеет множество разновидностей, каждая из которых решает собственные конкретные задачи. Основная функция лейкоцитов - защита организма от всего чужеродного. Полученные нами результаты свидетельствуют, что лейкоцитарная формула африканского клариевого сома лимфоидного типа. Содержание лимфоцитов в ней достигает 84,9 – 88,9%. Выявлены незначительные различия в структуре лейкоцитарной формулы самцов и самок. На фоне использования адаптогена трекрезана прослеживалась тенденция увеличения доли лимфоцитов за счет снижения доли моноцитов. Трекрезан индуцирует выработку интерферонов, повышает иммунный статус организма, активируя клеточный и гуморальный иммунитет. Он укрепляет иммунную систему организма и повышает устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды. В наших исследованиях трекрезан проявил себя как мягкий, эффективный иммуномодулятор. Трекрезан оказал воздействие на функции уже существующих в кровотоке лимфоцитов, активизировав их активность, незначительно увеличив их количество, но не на столько, чтобы в кровотоке появились функционально незрелые лимфоидные клетки.

**Исследования выполнялись по гранту РФФИ, проект 18-016-00127.**

### Введение

В современном мире огромное значение имеет развитие отрасли рыбоводства, оказывающее значительное влияние на состояние экономики, так как является поставщиком продуктов питания, ценных компонентов различных отраслей промышленности.

Рыбная продукция пользуется популярностью среди населения за счет того, что в своем составе содержит такой важный компонент, как животный белок, усваиваемый организмом человека намного легче, чем белок мяса теплокровных животных. Кроме того мясо рыбы содержит витамины, минеральные вещества и аминокислоты, необходимые человеку для роста, развития и поддержания здоровья [1, 2].

Загрязнение среды обитания отрицательно сказывается на рыбопродуктивности.

Основными путями влияния загрязнений на продуктивность рыбохозяйственных водоемов являются: прямое токсическое действие на рыб (от икры и личинок до половозрелых особей) и косвенное - ухудшение условий обитания и обеднение кормовой базы. Это и дало толчок к выращиванию рыбы в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ). Такой способ выращивания может обеспечить более высокое и стабильное производство продукции аквакультуры с меньшим риском возникновения болезней и большими возможностями контроля параметров, влияющих на рост и развитие рыбы [3].

Многообещающим объектом разведения в установках замкнутого водоснабжения является клариевый сом (*Clarias gariepinus*). Этот вид отличается быстрым ростом, высокой скоростью полового созревания, хорошими вкусовыми ка-

чествами, высокой оплатой корма, а также устойчив к колебаниям ряда показателей гидрохимического режима.

В настоящее время в России существует большое количество хозяйств по товарному выращиванию клариевого сома.

Он неприхотлив, всеяден, быстро адаптируется к различным условиям содержания и имеет уникальную устойчивость к дефициту кислорода. Это дает возможность выращивать рыбу при больших плотностях посадки. Оптимальной температурой выращивания считается 25<sup>0</sup> -28<sup>0</sup>С, т.е. клариас считается теплолюбивой рыбой. Одним из физиологических преимуществ этого вида является наличие наджаберного органа дыхания, который позволяет ему дышать атмосферным кислородом [4 - 6].

Изменение экологических условий среды обитания вызывает хронический стресс у рыбы, сказывающийся на ее иммунной системе и приводящий к повышению восприимчивости к заболеваниям. В медицине в таких случаях прибегают к использованию адаптогенов. Исследование клеток белой крови, расшифровка лейкограммы позволяет визуализировать и осознать формирующуюся проблему уже на ее начальных этапах [7].

В связи с систематическим положением, особенностями среды обитания и образа жизни может меняться морфологическая и биохимическая картина крови. Внутри представителей одного вида она также может меняться в зависимости от сезона, условий содержания, возраста, пола, состояния особей.

Пересадка, резкие изменения температуры, повышение плотности посадки- это те факторы, которые могут спровоцировать стрессовую ситуацию внутри популяции. Объективно оценить физиологическое состояние рыбы можно на основании изучения гематологических показателей крови, так как она является одной из наиболее чувствительных систем организма при оценке иммуно-физиологического состояния организма [8, 9].

В своих исследованиях для повышения естественной резистентности рыбы в индустриальной аквакультуре мы использовали адапто-

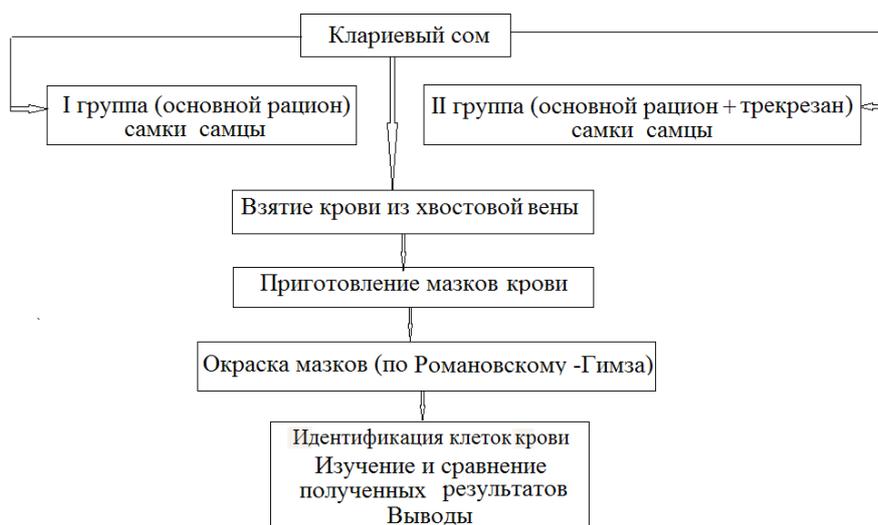


Рис. 1 – Схема опыта

ген - трекрезан. Трекрезан - иммуномодулирующий препарат с выраженным адаптогенным эффектом. Препарат укрепляет иммунную систему, уменьшает действие различных токсинов, повышает устойчивость организма к гипоксии, низким и высоким температурам и другим неблагоприятным факторам.

Целью работы являлось изучение влияния адаптогена трекрезана на клетки крови клариевого сома, отвечающие за иммунитет.

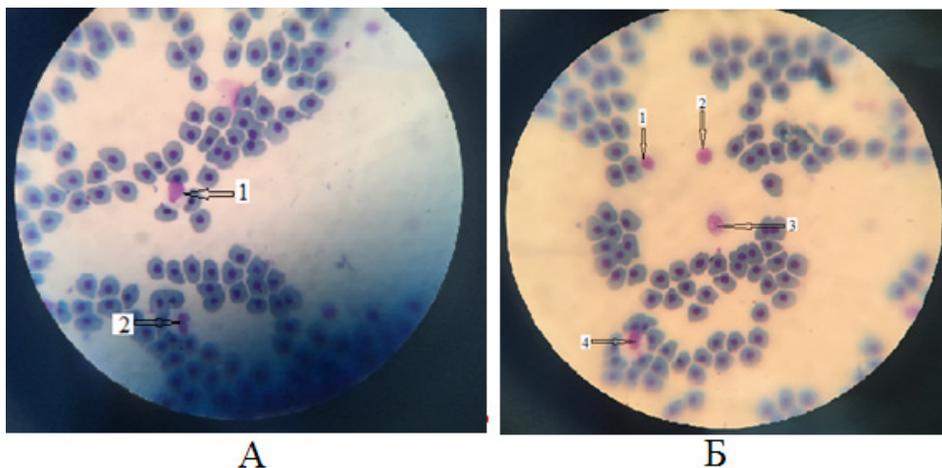
Исследовалась лейкоцитарная формула клариевого сома в норме и на фоне использования адаптогена трекрезана.

#### Объекты и методы исследований

В ходе проведения опыта были сформированы две группы: I – контрольная, которая состояла из 100 особей (50 самок и 50 самцов) в возрасте 6 месяцев и получала основной рацион; II – опытная, состоящая из 100 особей (50 самок и 50 самцов) в этом же возрасте, которая кроме основного рациона дополнительно получала трекрезан. В экспериментальной и контрольной группах рыбу кормили экструдированным кормом Aqarex. Кормление осуществлялось с учетом размера кормовых гранул в соответствии с возрастом и весом рыбы. Трекрезан смешивали с кормом, опрыскивая его раствором в дозировке 0,03 г/кг и далее высушивая. Кормление опытных групп осуществлялось вручную для обеспечения регулярного питания, интервал между кормлениями составлял 3 часа.

Эксперимент проводили в лаборатории экспериментальной биологии и аквакультуры кафедры «Биологии, ветеринарной генетики, паразитологии и экологии» Ульяновского ГАУ.

Сомов содержали в бассейнах, оборудованных фильтрами с кварцевым песком. Объем



**Рис. 2 - Мазок крови клариевого сома:**

*А - 1 лимфоцит, 2 – моноцит; Б - 1,2,4 - лимфоцит; 3- моноцит*

бассейна составлял 3,8 м<sup>3</sup>, глубина - 85 см. Содержание кислорода составляло 70-90%. В сутки подмена воды составляла не менее 25%. Схема опыта представлена на рис. 1.

После окончания опыта производили забой с целью получения крови для исследований. Для проведения гематологических исследований кровь брали у голодной, выдержанной в хорошо аэрированной воде рыбы. Место забора крови обрабатывали 70° спиртом, а затем высушивали ватным тампоном для удаления слизи. Для взятия крови использовали шприц с инъекционной иглой. Инструменты предварительно обрабатывали антикоагулянт – гепарином. Кровь брали из хвостовой артерии.

Подготовка предметных стекол: стекла кипятили в 1 %-ном растворе двууглекислой соды, охлаждали и промывали водопроводной, а затем дистиллированной водой, высушивали на воздухе. Хранили в смеси спирта с эфиром 1:1. Перед употреблением насухо вытирали фильтровальной бумагой.

После взятия кровь наносили на заранее приготовленное обезжиренное предметное стекло.

После приготовления мазка высушивали на воздухе в течение 15 минут.

Окрашивание проводили по Романовскому – Гимза. Окрашенные мазки промывали водопроводной водой и высушивали на воздухе.

В мазках производили подсчет всех групп лейкоцитов в пересчете на 100 клеток, чтобы расшифровать лейкоформулу, отражающую процентное соотношение между отдельными видами лейкоцитов. Клетки классифицировали по Н. Т. Ивановой [10], Г. И. Прониной [11].

## Результаты исследований

Физиологические процессы, протекающие в организме рыб, связаны с сезонными изменениями, интенсивностью питания, накоплением массы тела, половым созреванием, возрастом и другими показателями, которые оказывают заметное влияние на активность гемопоэза, а, следовательно, и на динамику показателей крови. На основании из-

учения крови можно судить об адаптационных возможностях рыб в конкретных условиях.

У африканских клариевых сомов исследовали сезонные и возрастные изменения гематологических показателей.

Определенные затруднения в идентификации клеток крови рыб могут быть обусловлены одновременным присутствием в кровеносном русле клеток разной степени зрелости, количество которых зависит от физиологического состояния особи, факторов внешней среды, от способа взятия крови. Поскольку кровь является наиболее лабильной и чувствительной, ее часто используют для изучения состояния здоровья или же диагностики каких-либо патологических процессов.

Форменным элементам белой крови рыб свойственно большое морфологическое разнообразие. По наличию зернистости в цитоплазме их делят на агранулоциты и гранулоциты. К агранулоцитам относят лимфоциты и моноциты.

Лимфоциты – это небольшие клетки. Они практически полностью заполнены ядром. Цитоплазму можно увидеть в виде небольшой полоски, которая окружает ядро. При окраске по Романовскому-Гимза ядро окрашивается в фиолетово-розовый цвет (рис. 2 А, Б).

Моноциты относятся к крупным клеткам, ядро которых имеет бобовидную форму, расположенное эксцентрично, цитоплазма вакуолизована, зернистость отсутствует (рис. 2 А, Б).

Нейтрофилы - это круглые клетки, имеющие овальное, палочковидное или сегментированное ядро, которое располагается у края клетки. При окрашивании по Романовскому зернистость в цитоплазме приобретает фиолетово-розовый цвет (рис. 3).

Полиморфноядерные клетки находятся на разных стадиях зрелости.

Лейкоциты выполняют в организме защитную функцию от различных видов инфекций, паразитарных заболеваний, осуществляют поддержание тканевого гомеостаза и участвуют в регенерации тканей.

Изучение лейкоцитарной формулы у клариевого сома показало, что кровь носит лимфоидный характер, т.к. 84,9 – 88,9% белых клеток крови составляют лимфоциты.

В опытной группе количество нейтрофилов у самок было выше на 7,84% ( $P < 0,05$ ), чем в контрольной. У самцов прослеживалась та же тенденция, различия составили 6,38% ( $P < 0,05$ ) (рис. 4, 5).

За период опыта количество моноцитов снизилось в опытной группе как у самок, так и самцов. Эти различия были более существенными по сравнению с другими формами лейкоцитов. Так, количество моноцитов у самок опытной группы снизилось в 1,6 раза, а у самцов - в 1,08 раза (рис. 4, 5).

Полиморфноядерные клетки также имели тенденцию к снижению. Эти различия составили у самок 10,91% ( $P < 0,05$ ), самцов - 6,98% ( $P < 0,05$ ) (рис. 4, 5). Это может быть связано с тем, что они находятся на стадии миелоцита.

#### Выводы

Как показали исследования, самой многочисленной группой в лейкоцитарной формуле африканского клариевого сома являются лимфоциты, уровень которых в норме достигает 85-90%. На фоне применения адаптогена трекрезана отмечалась тенденция незначительного увеличения доли лимфоцитов по отношению к остальным группам клеток. При этом количество

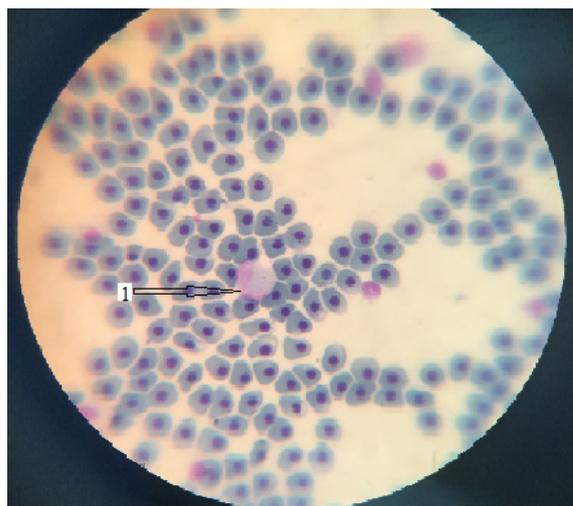


Рис. 3 - Мазок крови клариевого сома: 1 - нейтрофил

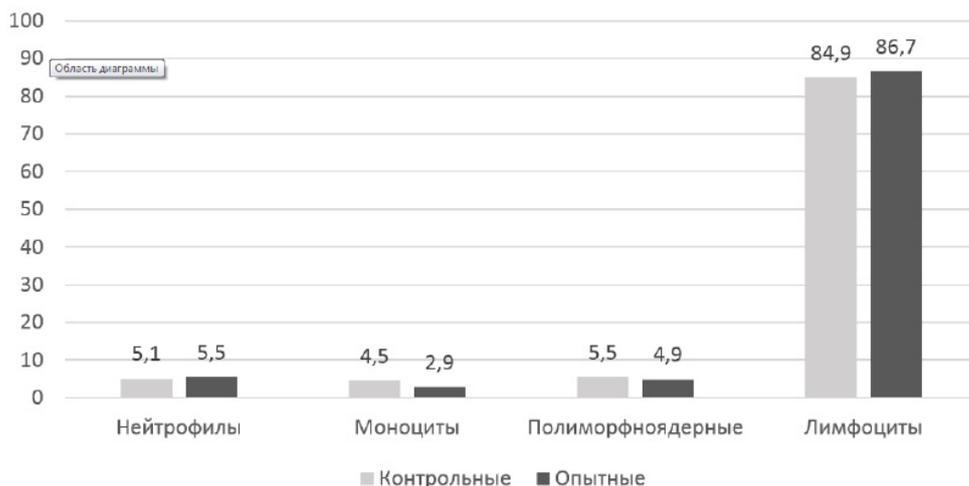


Рис. 4 – Лейкоцитарная формула самок, %

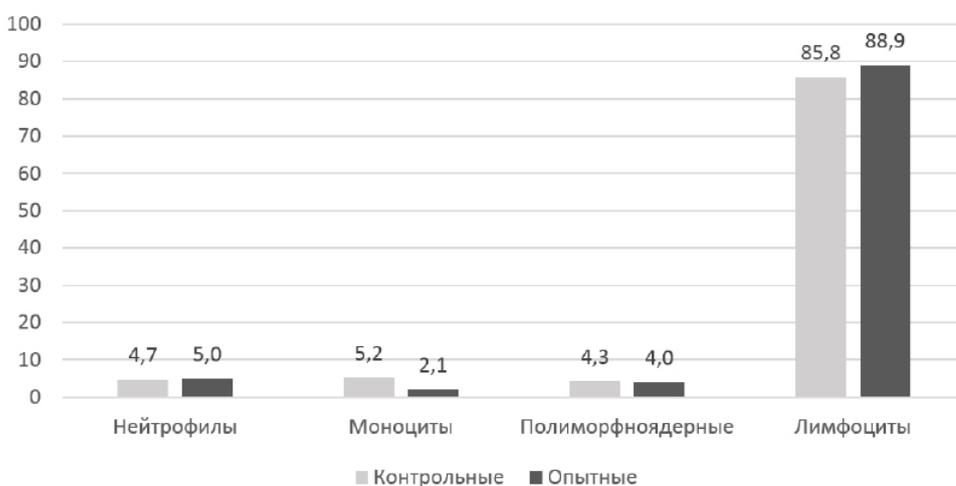


Рис. 5 – Лейкоцитарная формула самцов, %

лимфоцитов в контрольной группе, которая со-держалась без адаптогена, было ниже и у самок, и у самцов на 2,12 % ( $P < 0,01$ ), и 3,61 % ( $P < 0,01$ ), соответственно. Несмотря на количественное перераспределение клеток разных групп внутри лейкоцитарной формулы, все они находились в пределах физиологической нормы.

Было установлено, что в периферической крови сома выявлены основные клеточные формы лейкоцитов: агранулоциты и гранулоциты, находящиеся на различных стадиях развития. Лимфоциты доминировали в количественном отношении как в контрольной, так и опытной группах. Трекрезан активировал функции существующих лимфоцитов, но не стимулировал появления новых, функционально незрелых лимфоидных клеток.

Изучение влияния препарата на функциональную активность лейкоцитов показало, что трекрезан в количестве 0,03 г/кг обладал способностью усиливать хемотактическую активность всех видов лейкоцитов.

Применение трекрезана, стимулируя количественное перераспределение функционально разных клеток белой крови в лейкоцитарной формуле африканского клариевого сома, также оказывало активирующее воздействие на фагоцитарное звено неспецифического иммунитета.

#### Библиографический список

1. Анализ современного состояния товарной аквакультуры / А.Б. Алиев, Б.И. Шихшабекова, А.Д. Гусейнов, И.В. Мусаева, Е.М. Алиева, А.Р. Шихшабеков // Проблемы развития АПК региона. - 2017. – Том 3, №3(31). - С. 102-106.
2. Seasonal studies of caviar production and the growth rate of the African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) / Е.М. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov, M.E. Mukhitova, T.M. Shlenkina // Egyptian Journal of Aquatic Research. - 2018. - Том 44, № 4. - С. 315-319.
3. Biology of reproduction of catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) in hightech industrial aquaculture / Е.М. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov, M.E. Mukhitova, T.M. Shlenkina, L.A. Shadyeva, I.S. Galushko // Journal of Fundamental and Applied Sciences. - 2018. - Том 10, № 5S. - С. 1116-1129.
4. Пробиотики в аквакультуре / Е.А. Котова, Н.А. Пышманцева, Д.В. Осепчук, А.А. Пышманцева, Л.Н. Тхакушинова // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2012. – Том 3, № 1-1. – С. 100-103.
5. Возрастные особенности лейкоцитарной формулы африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) / Т.М. Шленкина, Е.М. Романова, В.В. Романов, В.Н. Любомирова, М.Э. Мухитова, Л.А. Шадыева // Рыбоводство и рыбное хозяйство. - 2019. - № 1(156). - С. 46-52.
6. Кириллов, В.Н. Морфофункциональные особенности адаптации молоди белого амура к различным уровням солености воды / В.Н. Кириллов // Вестник Астраханского государственного технического университета. - 2008. - № 3(44). - С. 68-70.
7. Морфо-биологическая характеристика племенных двухлетков европейского сома при выращивании в прудах / С.И. Докучаева, В.В. Кончиц, В.Д. Сенникова, Л.С. Дударенко, В.Г. Федорова // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. - 2010. - № 26. - С. 144-151.
8. Включение в стартовые корма для сиговых рыб (*Coregonidae*) бактериальной биомассы и белковых гидролизатов. / И.Н. Остроумова, В.В. Костюничев, А.А. Лютиков, В.А. Богданова, А.К. Шумилина, Т.П. Данилова, А.В. Козьмина, Т.А. Филатова // Вопросы рыболовства. - 2018. - Том 19, № 1. - С. 82-98.
9. Некоторые аспекты экологии карася серебряного (*Carassius gibelio bloch*) в условиях мелководного озера / В.С. Голубев, Э.В. Марамохин, К.В. Малахова, Л.В. Мурадова, И.Г. Криницын // Молодой ученый. - 2015. - № 19 (99). - С. 245-249.
10. Иванова, Н.Т. Атлас клеток крови рыб / Н.Т. Иванова. - Москва: Легкая и пищевая промышленность, 1982. - 184 с.
11. Пронина, Галина Иозепоовна. Физиолого-иммунологическая оценка культивируемых гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков: автореф. дис. ... д-ра биологических наук: 03.03.01 / Г.И. Пронина. – Москва, 2012. - 36 с.

# THE INFLUENCE OF TREKREZAN ON LEUKOCYTE FORMULA STRUCTURE OF SHARPTOOTH CATFISH IN CASE OF BREEDING IN BASIN AQUACULTURE

Shlenkina T.M., Romanova E.M., Lyubomirova V.N., Shadyeva L.A.

FSBEI HE Ulyanovsk State Agrarian University

432017, Ulyanovsk, Novy Venets boulevard, 1; tel.: 8 (8422) 55-23-75; e-mail: t-shlenkina@yandex.ru

*Key words:* aquaculture, African sharptooth catfish, trekrezan adaptogen, leukocyte count formula.

The work is devoted to study of trekrezan adaptogen influence on physiological processes in fish organism. In particular, the effect of trekrezan on content of the white blood cells of African catfish was evaluated. The leukocyte formula of African catfish is currently not well studied. The aim of our work was to study the leukocyte formula of African catfish in normal conditions and with the use of trekrezan adaptogen. White blood cells perform many functions in the body. Every type of white blood cell has many varieties, each of which solves its own specific tasks. The main function of white blood cells is to protect the body from everything foreign. Our results indicate that the leukocyte formula of African catfish is of lymphoid type. The content of lymphocytes reaches 84.9 - 88.9%. Minor differences in leukocyte formula structure of males and females were revealed. With the use of trekrezan adaptogen, a tendency toward an increase in the proportion of lymphocytes was observed due to a decrease in the proportion of monocytes. Trekrezan induces the production of interferons, increases the immune status of the body, activating cellular and humoral immunity. It strengthens the body immune system and increases resistance to adverse environmental factors. In our studies, trekrezan proved to be a mild, effective immunomodulator. Trekrezan influenced the functions of lymphocytes which already exist in the bloodstream, activating their activity, slightly increasing their number, but not so much that functionally immature lymphoid cells appear in the bloodstream.

## Bibliography

1. Analysis of the current state of commercial aquaculture / A.B. Aliev, B.I. Shikhshabekova, A.D. Guseynov, I.V. Musaeva, E.M. Aliev, A.R. Shikhshabekov // Problems of the development of the agricultural sector of the region. - 2017. V.3. № 3 (31). - P. 102-106.
- 2 Romanova, E.M. Seasonal studies of caviar production and the growth rate of the African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) / E.M. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov, M.E. Mukhitova, T.M. Shlenkina // Egyptian Journal of Aquatic Research. - 2018. - T. 44. № 4. - C. 315-319.
3. Biology of reproduction of catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) in hightech industrial aquaculture / E.M. Romanova, V.N. Lyubomirova, V.N. Lyubomirova, V.V. Romanov, M.E. Mukhitova, T.M. Shlenkina, L.A. Shadyeva, I.S. Galushko // Journal of Fundamental and Applied Sciences. 2018. - T. 10. № 5 S. - P. 1116-1129.
4. Probiotics in aquaculture / E.A. Kotova, N.A. Pyshmantseva, D.V. Osepchuk, A.A. Pyshmantseva, L.N. Tkhakushinova // Collection of scientific works of the All-Russian Scientific Research Institute of Sheep Breeding and Goat Breeding. - 2012. - Volume 3, No. 1-1. - P. 100-103.
5. Age peculiarities of the leukocyte formula of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) / T.M. Shlenkina, E.M. Romanova, V.V. Romanov, V.N. Lyubomirova, M.E. Mukhitova, L.A. Shadyeva // Fish farming and fisheries. 2019. - No 1 (156). - P. 46-52.
6. Kirillov, V.N. Morphological and functional features of adaptation of young grass carp to various levels of water salinity / V.N. Kirillov // Vestnik of Astrakhan State Technical University.- 2008. - No. 3 (44). - P. 68-70.
7. Morphological and biological characteristics of breeding two-year-old European catfish in case of pond breeding / S.I. Dokuchaeva, V.V. Konchits, V.D. Sennikova, L.S. Dudarenko, V.G. Fedorova // Issues of fisheries in Belarus.- 2010. No. 26. - P. 144-151.
8. Application of (*Coregonidae*) bacterial biomass and protein hydrolysates in the starting feed for whitefish. / I.N. Ostroumova, V.V. Kostyunichev, A.A. Lyutikov, V.A. Bogdanova, A.K. Shumilina, T.P. Danilova, A.V. Kozmina, T.A. Filatova // Issues of fishing. 2018.Vol. 19. - No. 1.- P. 82-98.
9. Some aspects of the ecology of silver Prussian carp (*Carassius gibelio bloch*) in the conditions of a shallow lake / V.S. Golubev, E.V., Maramokhin, K.V. Malakhova, L.V. Muradova, I.G. Krinitsyn // Young scientist. 2015. No 19 (99). P. 245-249.
10. Ivanova, N.T. Atlas of fish blood cells / N.T. Ivanova-. M.: Consumer and food industry. 1982. - 184 p.
11. Pronina, Galina Iozepovna. Physiological and immunological evaluation of bred aquatic organisms: carp, catfish, crayfish. Author's abstract of dissertation of Doctor of Biological Sciences: 03.03.01 / Pronina G.I. - M.: Russian State Agrarian University. - Moscow, 2012. - 36 p.