

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Оригинальная научная статья

УДК 591.111.1: 597.851

<https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-69-74>



Гематологические показатели озерной лягушки при стимулированном нересте

Роман Викторович Желанкин¹, Галина Иозепова Пронина²

¹ ФГБУН Институт психологии РАН, Москва, Россия

² Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Роман Викторович Желанкин; zhelankin86@mail.ru

Аннотация

При разведении лягушек в условиях фермы необходимо контролировать их состояние здоровья, и наиболее удобным методом контроля является анализ крови. Гематологические показатели озерных лягушек изучались до нереста и после него. После спячки при температуре 4°C и недельного содержания в бассейне лягушки были подвергнуты гормональной стимуляции смесью препаратов «Гонадотропин хорионический» и «Сурфагон», на следующий день наблюдался успешный нерест со 100%-ным оплодотворением икры. В крови лягушек после нереста обнаружилось пониженное количество эритроцитов. Доля нейтрофилов и эозинофилов в лейкограмме у лягушек после нереста снизилась, а доля моноцитов увеличилась в 3 раза, повысился процент базофилов. Стимулированный нерест озерной лягушки впервые был воспроизведен в неволе под контролем анализа гематологических показателей, что показало возможность использования данного процесса в условиях ранаккультуры.

Ключевые слова

Relophylax ridibundus, гематологические показатели озерной лягушки, разведение лягушек, гематология амфибий, стимулированный нерест, репродуктивный иммунитет

Благодарности

Статья подготовлена по результатам доклада на Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы физиологии животных», посвященной 155-летию со дня образования кафедры физиологии животных в РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (28-29 марта 2024 г., Москва).

Для цитирования

Желанкин Р.В., Пронина Г.И. Гематологические показатели озерной лягушки при стимулированном нересте // *Тимирязевский биологический журнал*. 2024. Т. 2, № 2. С. 69-74. <http://dx.doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-69-74>

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

Original article

<https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-69-74>



Hematological indicators of the marsh frog during stimulated spawning

Roman V. Zhelankin¹, Galina I. Pronina²

¹ Institute of Psychology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

Corresponding author: Roman V. Zhelankin; zhelankin86@mail.ru

Abstract

When breeding frogs on a farm, it is necessary to monitor their health status, and the most convenient method of control is a blood test. Hematological parameters of marsh frogs were studied before and after spawning. After hibernation at a temperature of 4°C from the first week in the pool, the frogs were subjected to hormonal stimulation with a mixture of drugs “Gonadotropin chorionic” and “Surfagon”, the next day successful spawning with 100% fertilization of eggs was observed. A reduced number of red blood cells was found in the blood of frogs after spawning. The proportion of neutrophils and eosinophils in the leukogram of frogs after spawning decreased, the number of monocytes increased 3 times, the proportion of basophils increased. The stimulated spawning of the marsh frog was reproduced for the first time in captivity under the control of an analysis of hematological parameters, which showed the possibility of using this process in raniculture conditions.

Keywords

Relophylax ridibundus, hematological parameters of the marsh frog, frog breeding, amphibian hematology, stimulated spawning, reproductive immunity

Acknowledgments

The article was prepared on the basis of the results of the report at the International Scientific and Practical Conference “Current Problems of Animal Physiology” dedicated to the 155th anniversary of the Department of Animal Physiology of the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (March 28-29, 2024, Moscow, Russia).

For citation

Zhelankin R.V., Pronina G.I. Hematological indicators of the marsh frog during stimulated spawning. *Timiryazev Biological Journal*. 2024;2(2):69-74. <http://dx.doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-69-74>

Введение Introduction

Во многих странах мира в настоящее время развивается ранакультура – отрасль аквакультуры, занимающаяся выращиванием лягушек. Мясо лягушек используется для приготовления консервов и пресервов [1]. Сезон размножения озерных лягушек в природе приходится на май – начало июня, и каждая особь откладывает 5000-10000 икринок, что часто приводит к угнетению их физиологического состояния [2].

В научной литературе описано три способа инъекционной стимуляции размножения земноводных: суспензией гипофизов тех же или близкородственных видов; аналогами гипоталамического нейrogормона люлиберина (LHRH) (коммерческое название – сурфагон) [3]; хорионическим гонадотропином [4].

Исследование крови методами общего анализа является достаточно удобным для амфибий. Многие исследователи пользуются для взятия крови амфибий пункцией сердца под наркозом [5, 6], что считается прижизненным методом, но при неосторожности может привести к гибели животного. Достаточное для измерения гематологических показателей количество крови можно собрать прижизненно из подколенной вены – нижнего участка бедренной вены (*vena femoralis*) [7], что и было сделано в данном исследовании.

У озерной лягушки определены некоторые референтные значения по таким показателям крови, как уровень гемоглобина, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), количество эритроцитов, но они могут сильно варьировать [6-8]. Соотношение клеток в лейкограмме позволяет определить характер реакции организма земноводных при различных физиологических и адаптационных процессах. Количество лимфоцитов у представителей рода *Pelophylax*, как и у других бесхвостых амфибий Европы, преобладает над другими клетками в лейкограмме [9, 10], а количество нейтрофильных и базофильных гранулоцитов в процентном содержании более варибельно. При этом характер реакции белой крови в условиях воздействия комплекса антропогенных факторов определяется возрастанием прессы нагрузки на среду обитания, и, в частности, по этим показателям можно оценивать качество воды в водоемах [11].

Цель исследований: изучение показателей крови озерных лягушек до стимулированного нереста и после него.

Методика исследований Research method

8 особей озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus Pallas, 1771*) в течение лета 2023 г. содержались в огороженном летнем вольере в диапазоне температуры воздуха от 15 до 23°C при питании природными кормами (живыми беспозвоночными). После этого лягушки были отправлены в зимовку при температуре 4°C на 1 месяц, затем 2 недели содержались в бассейне, и производилась гормональная стимуляция амфибий. Для стимуляции созревания половых продуктов лягушкам внутримышечно вводили биологический препарат «Гонадотропин хорионический» (500 МЕ) в смеси с ветеринарным препаратом «Сурфагон» (5 мкг/мл) 1:1 в дозе 0,2 мл на особь (в среднем 2,86 мл/кг) по методам, описанным в литературе [3, 4]. При этом дозы препаратов были рассчитаны в соответствии с массой тела (рис. 1).

Кровь отбирали из подколенной вены, инъецируя гепаринизированным инсулиновым шприцем район внутренней поверхности коленного сустава (рис. 2).

Измеряли: СОЭ по методу Панченкова, количество гемоглобина в г/л по методу Сали, количество эритроцитов в камере Горяева с пересчетом на 1 л крови, лейкограмма (в процентах на 100 клеток) при исследовании тонких мазков крови, окрашенных по Паппенгейму. При обработке результатов пользовались критерием Манна-Уитни в программе STATISTICA 7.0. Достоверными считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение Results and discussion

Лягушки успешно перенесли спячку и гормональную стимуляцию, после которой на следующий день наблюдался успешный нерест со 100%-ным оплодотворением икры.

Количество гемоглобина и скорость оседания эритроцитов лягушки до нереста и после него не имели достоверных отличий (табл. 1).

Имеются данные о рыбах, у которых в посленерестовый период наблюдается падение уровня гемоглобина [12]. Общее количество эритроцитов у лягушек после нереста с высокой степенью достоверности снижается почти в 3 раза по сравнению с показателем до нереста.

Микроскопическая картина крови лягушек показана на рисунке 3.



Рис. 1. Гормональные инъекции лягушкам
Fig. 1. Hormonal injections to the frogs



Рис. 2. Отбор проб крови у лягушек
Fig. 2. Blood sampling from the frogs

Таблица 1

Гематологические показатели лягушек в разные физиологические периоды

Показатели	Лягушки до нереста	Лягушки после нереста
Гемоглобин, г/л	58,3±7,9	46,5±9,0
СОЭ, мм/ч	8,0±1,0	8,5±1,0
Кол-во эритроцитов, ×10 ¹² клеток/л	0,26±0,02	0,08±0,01***
Лейкоцитарная формула, %		
Бластные клетки миелоидного ряда	6,1±1,2	3,2±1,3
Палочкоядерные нейтрофилы	3,2±1,3	1,9±0,8
Сегментоядерные нейтрофилы	10,6±2,0	3,5±1,5**
Эозинофилы	3,2±0,4	0,5±0,3***
Базофилы	0	1,1±0,5***
Моноциты	1,5±0,4	3,3±0,5**
Лимфоциты	75,4±6,4	86,5±5,3

Примечание. * p≤0,05; ** p≤0,02; *** p≤0,01.

Table 1

Hematological indicators of the frogs in different physiological periods

Indicators	Frogs before spawning	Frogs after spawning
Hemoglobin, g/l	58.3±7.9	46.5±9.0
ESR, mm/h	8.0±1.0	8.5±1.0
Number of red blood cells, $\times 10^{12}$ cells/l	0.26±0.02	0.08±0.01***
Leucogram, %		
Myeloid blast cells	6.1±1.2	3.2±1.3
Stab neutrophils	3.2±1.3	1.9±0.8
Segmented neutrophils	10.6±2.0	3.5±1.5**
Eosinophils	3.2±0.4	0.5±0.3***
Basophils	0	1.1±0.5***
Monocytes	1.5±0.4	3.3±0.5**
Lymphocytes	75.4±6.4	86.5±5.3

Note. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.02$; *** $p \leq 0.01$.

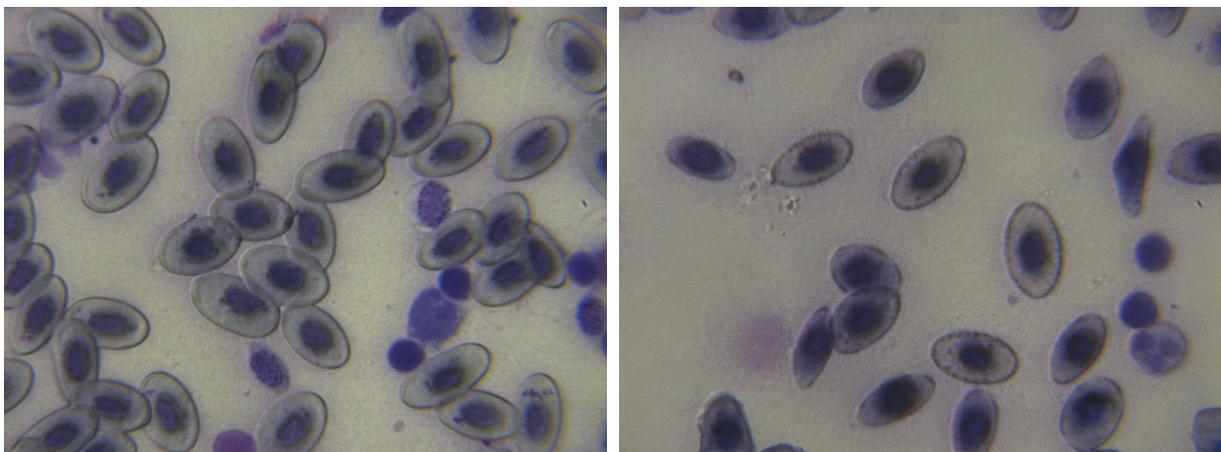


Рис. 3. Картина крови озерной лягушки. Микроскопирование, увеличение 10×90

Fig. 3. Hematological status of a marsh frog. Microscopy, 10×90 magnification

Доли бластных форм гранулоцитов (миелобласты, миелоциты) и палочкоядерных нейтрофилов в лейкограмме лягушек до нереста и после него достоверно не изменились, что является косвенным свидетельством того, что усиление лейкопоза не происходило. Содержание данных форменных элементов в норме в литературе не описано, но известно, что это может быть связано с диффузным характером кроветворения у амфибий, которое происходит интраваскулярно в периферической крови, даже у животных, находящихся в состоянии анабиоза [13].

Относительное количество нейтрофилов (в большей степени зрелых сегментоядерных форм) в лейкоцитарной формуле лягушек после нереста снизилось, что, вероятно, обусловлено расхождением этих клеток в процессе резорбции гонад. То же можно сказать и об эозинофилах, процент которых к лейкограмме крови лягушек после нереста снижается.

Доля базофилов возрастает после нереста как усиление иммунной защиты. Известно, что эти клетки выделяют специфические гранулы, содержащие

гистамин, гепарин, серотонин и другие медиаторы воспаления [14]. Однако показатель находится в пределах референтных значений, определенных для лягушек [7, 10]. Относительное число моноцитов после нереста увеличилось почти в 3 раза. Это, возможно, свидетельствует об активации моноцитарно-макрофагального звена иммунитета в результате резорбции остатков половых продуктов в гонадах.

Достоверные изменения процента лимфоцитов у лягушек после нереста не отмечены.

Выводы

Conclusions

Таким образом, после нереста у озерной лягушки значительно снижается количество эритроцитов, что связано с физиологическими процессами и усиленным тканевым дыханием в процессе созревания и резорбции остатков гонад. Усиливается моноцитарно-макрофагальный иммунитет: возрастает доля моноцитов в лейкограмме крови за счет зрелых сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов.

Список источников

1. Ван Х.Д., Мукатова М.Д., Сколков С.А. О возможности использования озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в качестве пищевого сырья // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия «Рыбное хозяйство»*. 2013. № 1. С. 190-193. EDN: PZXFER
2. Минеева О.В., Минеев А.К. Особенности гематологических параметров озерной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 Саратовского водохранилища // *Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии*. 2014. Т. 23, № 2. С. 178-184. EDN: SIMQFZ
3. Uteshev V.K., Shishova N.V., Kaurova S.A., Manokhin A.A., Gakhova E.N. Collection and cryopreservation of hormonally induced sperm of pool frog (*Pelophylax lessonae*). *Russian Journal of Herpetology*. 2013;20(2):105-109. EDN: QGQPRT
4. Kouba A.J., del Barco-Trillo J., Vance C.K., Milam C., Carr M.A. Comparison of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone releasing hormone on the induction of spermiation and amplexus in the American toad (*Anaxyrus americanus*). *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2012;10:59. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-59>
5. Meesawat S., Kitana N., Kitana J. Hematology of Wild Caught *Hoplobatrachus rugulosus* in Northern Thailand. *Asian Herpetological Research* 2016;7(2): 131-138. <https://doi.org/10.16373/j.cnki.ahr.150037>
6. Романова Е.Б., Николаев В.Ю. Иммунофизиологические характеристики популяций зеленых лягушек урбанизированных территорий // *Известия Самарского научного центра РАН*. 2014. Т. 16, № 5(1). С. 616-622.
7. Желанкин Р.В. Изменения морфологических и физиологических показателей взрослых особей

References

1. Van Kh.D., Mukatova M.D., Skolkov S.A. On possibility of use of lake frog (*Rana ridibunda*) as a raw material. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2013;1:190-193. (In Russ.)
2. Mineeva O.V., Mineev A.K. Features of hematological parameters of lake frog *Rana ridibunda* Pallas, 1771 of the Saratov reservoir. *Samarskaya Luka: problemy regional'noy i global'noy ekologii*. 2014;23(2):178-184. (In Russ.)
3. Uteshev V.K., Shishova N.V., Kaurova S.A., Manokhin A.A., Gakhova E.N. Collection and cryopreservation of hormonally induced sperm of pool frog (*Pelophylax lessonae*). *Russian Journal of Herpetology*. 2013;20(2):105-109.
4. Kouba A.J., del Barco-Trillo J., Vance C.K., Milam C., Carr M.A. Comparison of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone releasing hormone on the induction of spermiation and amplexus in the American toad (*Anaxyrus americanus*). *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2012;10:59. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-59>
5. Meesawat S., Kitana N., Kitana J. Hematology of Wild Caught *Hoplobatrachus rugulosus* in Northern Thailand. *Asian Herpetological Research* 2016, 7(2): 131-138. <https://doi.org/10.16373/j.cnki.ahr.150037>
6. Romanova E.B., Nikolaev V.Yu. Immunophysiological characteristics of the populations of green frogs in urban territory. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2014;16(5-1):616-622. (In Russ.)
7. Zhelankin R.V. Changes in morphological and physiological parameters of adult individuals of the lake frog

озерной лягушки на разных фазах технологии их нагула и разведения // *Рыбоводство и рыбное хозяйство*. 2021. № 10 (189). С. 44-56. <https://doi.org/10.33920/sel-09-2110-04>

8. Присный А.А., Кулько С.В., Пигалева Т.А. Влияние постоянного магнитного поля на показатели системы крови и созревание сперматозоидов *Rana Ridibunda* Pall // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Естественные науки»*. 2011. № 3 (98). С. 141-144. EDN: ORHMNV

9. Arıkan H., Çiçek K. Haematology of amphibians and reptiles: a review. *Journal of zoology*. 2014;10(1):190-209. https://biozoojournals.ro/nwjz/content/v10n1/nwjz_143501_Cicek.pdf

10. Иванов А.А., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. *Гематология пойкилотермных гидробионтов*: Монография. Иркутск: ООО «Мегапринт», 2018. 133 с. EDN: XSWJL

11. Peskova T.Yu., Bachevskaya O.N., Plotnikov G.K. Hematological Indices of the Lake Frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Ranidae, Anura) Inhabiting Reservoirs in the Northwestern Ciscaucasia with Various Pollution Types. *Current Studies in Herpetology*. 2019;19(1-2):40-45. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2019-19-1-2-40-45>

12. Микряков В.Р., Микряков Д.В. Иммунологическая индикация здоровья рыб // *Вопросы ихтиологии*. 2015. Т. 55, № 1. С. 119-123. <https://doi.org/10.7868/S0042875215010129>

13. Шаповалова К.В. *Адаптивные реакции костного мозга и развитие окислительного стресса у прудовых и озерных лягушек, обитающих в различных гидрохимических условиях среды*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2020. 23 с.

14. Пронина Г.И., Колоскова О.В. *Практикум по патологической физиологии животных*: Учебное пособие. М.: Лань, 2021. 336 с.

at different phases of technology of their feeding and breeding. *Fish Breeding and Fisheries*. 2021;10(189):44-56. (In Russ.) <https://doi.org/10.33920/sel-09-2110-04>

8. Prısnıy A.A., Kulko S.V., Pigaleva T.A. Influence of a constant magnetic field on morphophysiology parameters of blood system and sperm cells of *Rana Ridibunda* Pall. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*. 2011;3(98):141-144. (In Russ.)

9. Arıkan H., Çiçek K. Haematology of amphibians and reptiles: a review. *Journal of Zoology*. 2014;10(1):190-209. https://biozoojournals.ro/nwjz/content/v10n1/nwjz_143501_Cicek.pdf

10. Ivanov A.A., Pronina G.I., Koryagina N.Yu. *Haematology of poikilothermic hydrobionts*: monograph. Irkutsk, Russia: ООО “Megaprint”, 2018:133. (In Russ.)

11. Peskova T.Yu., Bachevskaya O.N., Plotnikov G.K. Hematological Indices of the Lake Frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Ranidae, Anura) Inhabiting Reservoirs in the Northwestern Ciscaucasia with Various Pollution Types. *Current Studies in Herpetology*. 2019;19(1-2):40-45. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2019-19-1-2-40-45>

12. Mikryakov V.R., Mikryakov D.V. Immunological indication of fish health. *Journal of Ichthyology*. 2015;55(1):119-123. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S0042875215010129>

13. Shapovalova K.V. *Adaptive reactions of bone marrow and development of oxidative stress in pond and lake frogs living in different hydrochemical conditions of the environment*: CSc (Bio) thesis abstract: 03.02.08. Nizhny Novgorod, Russia: Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 2020:23. (In Russ.)

14. Pronina G.I., Koloskova O.V. *Practicum on pathological physiology of animals*: textbook. Moscow, Russia: Lan', 2021:336. (In Russ.)

Сведения об авторах

Роман Викторович Желанкин, младший научный сотрудник лаборатории познавательных процессов и математической психологии, ФГБНУ Институт психологии РАН, 129366, Россия, г. Москва, Ярославская ул., 13 к. 1; e-mail: zhelankin86@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9865-3744>

Галина Иозеповна Пронина, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: gidrobiont4@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0805-6784>

Information about the authors

Roman V. Zhelankin, Junior Research Associate, Laboratory of Cognitive Processes and Mathematical Psychology, Institute of Psychology of the Russian Academy of Sciences, (13 Yaroslavskaya St., Moscow, 129366, Russian Federation); e-mail: zhelankin86@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9865-3744>

Galina I. Pronina, DSc (Bio), Associate Professor, Professor at the Department of Aquaculture and Beekeeping, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation); e-mail: gidrobiont4@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0805-6784>

Статья поступила в редакцию 12.05.2024
Одобрена после рецензирования 18.06.2024
Принята к публикации 21.06.2024

The article was submitted to the editorial office May 12, 2024
Approved after reviewing June 18, 2024
Accepted for publication June 21, 2024