

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Оригинальная научная статья

УДК 639.517: 639.51: 576.3

<https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-75-79>



Прижизненное исследование гемолимфы красноклещевого рака (*Cherax quadricarinatus*) при искусственном разведении

Николай Константинович Юдин, Галина Иозеповна Пронина,
Эдуард Владимирович Бубунец, Алексей Васильевич Жигин

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

Автор, ответственный за переписку: Галина Иозеповна Пронина; gidrobiont4@yandex.ru

Аннотация

Красноклещевого рака начали разводить в промышленных условиях относительно недавно. Важно контролировать и оценивать физиологическое состояние разводимых объектов и определять критерии оценки, а также референтные значения показателей гемолимфы как циркулирующей жидкости. В приведенных материалах излагаются результаты прижизненного исследования гемолимфы австралийского красноклещевого рака (*Cherax quadricarinatus*). Определены референтные значения показателей клеточного состава гемолимфы. Выявлен ряд гендерных различий: значение общего числа гемоцитов у самцов выше; доля полугранулоцитов в гемограмме самцов больше, чем у самок, гранулоцитов и ювенильных форм гемоцитов, соответственно, ниже. Полученные результаты могут быть использованы для прижизненной оценки физиологического состояния австралийских красноклещевых раков при выращивании в установках с замкнутым водоиспользованием в промышленных условиях.

Ключевые слова

гематология, гемолимфа, речные раки, австралийский красноклещевый рак, гемоцит

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

Юдин Н.К., Пронина Г.И., Бубунец Э.В., Жигин А.В. Прижизненное исследование гемолимфы красноклещевого рака (*Cherax quadricarinatus*) при искусственном разведении // Тимирязевский биологический журнал. 2024. Т. 2, № 2. С. 75-79. <http://dx.doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-75-79>

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

Original article

<https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-75-79>



Lifetime study of hemolymph of the red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) under artificial culture conditions

Nikolay K. Yudin, Galina I. Pronina, Eduard V. Bubunets, Alexey V. Zhigin

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

Corresponding author: Galina I. Pronina; gidrobiont4@yandex.ru

Abstract

The red claw crayfish has only recently been farmed under industrialized conditions. It is important to monitor and evaluate the physiological state of cultured animals and to establish assessment criteria and reference values for hemolymph parameters as a circulating fluid. The results of a lifetime study of the hemolymph of the Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) are presented. Reference values of indicators of cellular composition of the hemolymph were determined. A number of gender differences were revealed: the value of the total number of hemocytes is higher in males; the proportion of semi-granulocytes in the hemogram of males is higher than in females, granulocytes and juvenile forms of hemocytes are correspondingly lower. The results obtained can be used to assess the physiological state of the Australian red claw crayfish during their life cycle in closed water systems under industrial conditions.

Keywords

Hematology, hemolymph, river crayfish, Australian red claw crayfish, hemocyte

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

Yudin N.K., Pronina G.I., Bubunets E.V., Zhigin A.V. Lifetime study of hemolymph of the red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) under artificial culture conditions. *Timiryazev Biological Journal*. 2024;2(2):75-79. <http://dx.doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-2-75-79>

Введение Introduction

В России потребление речных раков традиционно основывалось лишь на эксплуатации природных запасов, но они в настоящее время сильно истощены, и для стабильного, рентабельного промысла раков возникла необходимость в их искусственном воспроизводстве.

Древнейшим способом разведения раков является интродукция – искусственное вселение производителей в водоемы, где они прежде отсутствовали. При успешном проведении интродукции в северных районах страны промысел в заселенном водоеме может быть развернут через 7-10 лет, в южных районах – через 5-8 лет. Повторные посадки производителей могут сократить этот срок в 2 раза. Для вселения раков подходят чистые незамерзшие водоемы глубиной 1,5-2 м. В Карелии и других регионах северо-запада России к интродукции рекомендуется широкопалый рак, а в южных регионах – узкопалый [1, 2].

В современном раководстве применяют индустриальные способы разведения, которые позволяют управлять гидрохимическими, температурными и другими факторами среды, а также регулировать количество выращиваемого посадочного материала.

Главные задачи искусственного выращивания раков заключаются в получении производителей, которые только один раз в год дают потомство, выращивании жизнестойкой молоди с применением искусственного кормления, в снижении каннибализма в период подращивания. Почти все промышленные методы выращивания раков так или иначе подразумевают добычу производителей из природы. В основном осуществляется отлов икряных самок, которые в целях адаптации изначально помещаются в бассейны, и лишь затем – в инкубаторы.

Вместе с тем, несмотря на большое количество исследований по биологии и культивированию аборигенных видов речных раков (главным образом широкопалого и длиннопалого), в силу целого комплекса причин (биологических и экономических) опыт их искусственного воспроизводства в целом

остаётся нереализованным. В сложившихся условиях альтернативой выращиванию долгорастущих нативных видов речных раков для повышения продуктивности аквакультуры ракообразных в России является введение в нее новых, быстрорастущих тропических видов. Одним из них является австралийский красноклешневый рак *Cherax quadricarinatus*¹. Внедрение его в мировую аквакультуру было начато в 80-е гг. прошлого столетия. Он обладает рядом преимуществ над отечественными видами речных раков, а именно: высокой скоростью роста, меньшей требовательностью к условиям содержания, относительно низкими агрессивностью и склонностью к каннибализму.

Красноклешневый рак достигает весьма крупных размеров: длина тела может достигать 25 см, масса тела – 500 г. При этом самцы крупнее самок. Половая зрелость наступает в 7-12-месячном возрасте при длине тела 6-10 см. Окраска особей – зеленовато-бурая с синими элементами и желтыми пестринами. Для самцов характерно наличие яркого оранжевого пятна на внешней стороне клешни. В естественных условиях раки всеядны.

В природе населяют пресные водоемы севера Австралии (северо-запад Квинсленда и Северной Территории), и отчасти – Папуа-Новой Гвинеи, что связано с теплолюбивостью вида. При выращивании рекомендуется температура 23-31°C. Смертельную опасность представляют температуры ниже 10°C и выше 36°C². В связи с этим все возможные варианты культивирования красноклешневого рака в нашей стране подразумевают использование установок с замкнутым водоиспользованием (УЗВ) [3].

Важной задачей современной зоотехнии и ветеринарии является исследование гематологических показателей животных. Кровеносная система отражает полный спектр морфобиохимических процессов и реактивности организма, любые

¹ Monatsberichte der Königlich Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin. *Biodiversitylibrary.org*. 2024;1868. Accessed May 13, 2024. <https://www.biodiversitylibrary.org/page/35990130#page/643/mode/1up>.

² Жигин А.В. Пути и методы интенсификации выращивания объектов аквакультуры в установках с замкнутым водоиспользованием (УЗВ): Дис. ... д-ра с.-х. наук. М., 2002. 331 с.

изменения, происходящие в организме, тесно связаны с ее физико-химическими и морфологическими показателями³. Состав крови отражает и общее устройство организма, и различные аспекты промежуточного обмена веществ. Это означает, что гематологические показатели имеют связь и с продуктивными качествами объектов аквакультуры. Кровь, будучи жидкой тканью, представляет собой важный компонент внутренней среды организма, что участвует в поддержании кислотно-основного, температурного, клеточного гомеостаза, осуществляет защитную, транспортную, трофическую, терморегуляторную функции, омывает все клетки, доставляя к ним необходимые вещества и унося продукты обмена [4]. Знание особенностей клеточного состава животных позволяет достоверно судить об их физиологическом состоянии, что особенно актуально для объектов аквакультуры – в частности, беспозвоночных.

Речные раки обладают незамкнутой кровеносной системой. Клеточную часть циркулирующей гемолимфы образуют гемоциты [5]. Большинство исследователей у речных раков признаны 3 типа гемоцитов: агранулоциты, полугранулоциты, гранулоциты [6]. Другой тип клеток гемолимфы, описанный у речных раков (прозрачные клетки), вероятно, является предшественником гемоцитов [7]. Однако число гемоцитов и соотношение разных популяций этих клеток у речных раков малоизучены. Особенно это касается красноклещевого рака, разведение которого в условиях УЗВ начато относительно недавно. Гендерные различия этих показателей также практически не изучались. Тем не менее важными представляются оценка этих параметров у раков и определение референтных значений.

Цель исследований: изучение и сравнительная оценка показателей гемолимфы у самцов и самок красноклещевого рака при содержании в условиях УЗВ.

Методика исследований

Research method

Объектом исследований были австралийские красноклещевые раки (*Cherax quadricarinatus*) в возрасте 6 месяцев. Масса их тела составляла от 19,1 до 25,3 г при длине 8,5-9,7 см.

Раки содержались в двух одинаковых аквариумах объемом по 180 л с замкнутой системой водоиспользования, терморегуляцией, аэрацией и биологической очисткой воды при плотности посадки 10 шт/м² отдельно по полу. Кормление

осуществлялось один раз в сутки в количестве 0,5% от биомассы раков специализированным комбикормом Tetra Wafer Mix (Германия). Температура воды в течение месяца до проведения эксперимента колебалась в пределах 21,6-27,6 °С; pH – 6,97-7,11; O₂ 6,6-8,4 мг/л. Другие гидрохимические показатели (NH₄⁺, NO₂⁻ и NO₃⁻) соответствовали нормативам⁴.

Гематологическая оценка проводилась микроскопически в нативной гемолимфе в камере Горяева. Гемоцитарная формула определялась методом дифференциального подсчета. Идентифицировали 4 популяции гемоцитов по Г.И. Прониной с соавт. [7]: ГцI (агранулоциты); ГцII (полугранулоциты); ГцIII (гранулоциты); ГцIV (прозрачные клетки). Гемолимфу отбирали прижизненно путем пункции вентрального синуса (рис.).

Общее число гемоцитов (ОЧГ) определяли в нативной гемолимфе в камере Горяева. Подсчитывалось количество клеток в 5 больших квадратах.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

Все показатели гемолимфы изучаемых раков находились в пределах физиологической нормы, определенной у речных раков [8]. Отмечено, что общее число гемоцитов (ОЧГ) у самцов достоверно выше, чем у самок, что косвенно может свидетельствовать о высоком газообмене самцов (табл.).



Рис. Отбор гемолимфы у речных раков (*Cherax quadricarinatus*)

Fig. Hemolymph sampling from river crayfish (*Cherax quadricarinatus*)

³ Ковачева Н.П., Александрова Е.Н. Гематологические показатели как индикаторы физиологического состояния декапод: камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* и речных раков родов *Astacus* *Pontastacus*. М.: Изд-во ВНИРО, 2010. 92 с.

⁴ Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1999. 304 с.

Имеются гендерные различия и в гемограмме раков. С высокой степенью достоверности можно судить о большей доле полугранулоцитов (ГЦ II) у самцов за счет гранулоцитов (ГЦ III) и прозрачных клеток (ГЦ IV), характеризующих более интенсивный гемопоэз самок. Другими авторами также получены данные о большем проценте полугранулоцитов в гемограмме красноклещевого рака [9].

Таблица

Гематологические показатели красноклещевого рака

Показатели	Самцы (n = 5)	Самки (n = 5)
ОЧГ, 10 ⁹ ед/л	1,6±0,09	1,3±0,06*
Гемограмма, %		
ГЦ I	26,3±0,9	27,3±0,7
ГЦ II	49,1±0,6	40,0±2,1***
ГЦ III	21,9±0,6	25,0±0,6**
ГЦ IV	2,7±0,3	7,7±0,9***

*p≤0,05; **p≤0,02; ***p≤0,01.

Выводы

Conclusions

Таким образом, физиолого-иммунологическая оценка речных раков показала их хорошее физиологическое состояние. Определены референтные значения по общему числу гемоцитов: порядка 1,2-1,7 10⁹ ед/л, а также по гемограмме. Выявлены достоверные различия между самцами и самками по показателям клеточного состава гемолимфы:

Список источников

1. Александрова Е.Н. Длиннопалый рак как объект разведения в водоемах бассейна реки Волги // Вестник АГТУ. Серия «Рыбное хозяйство». 2016. № 4. С. 9-17. EDN: XDXTJR
2. Торопов Д.И., Коровин Г.Г., Славнов Б.С., Лавровская Г.Н. и др. *Состояние социально-трудовой сферы села и предложения по ее регулированию: Ежегодный доклад по результатам мониторинга 2007 г.* Москва: Российский научно-исследовательский институт информации и технико-экономических исследований по инженерно-техническому обеспечению агропромышленного комплекса, 2008. 227 с. EDN: QQAYZN
3. Жигин А.В., Изотова Н.В. Замкнутые системы в аквакультуре – базисная инновация // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. 2015. № 31. С. 52-66. EDN: VCJLZV.
4. Pronina G.I., Koryagina N.Y., Trenkler I.V. Influence of rusty-spotted disease on river crayfish in aquaculture. *AACL Bioflux*. 2022;15(1):407-414. EDN: HYTQID.

Однако имеются работы, в которых показана наибольшая доля гранулоцитов в гемоцитарной формуле красноклещевого рака при меньшем проценте полугранулоцитов, и при этом клетки-предшественники (прозрачные клетки) не идентифицировались [10].

После отбора гемолимфы для исследований выживаемость особей составила 100%.

Table

Hematological indicators of the red claw crayfish

Indicators	Males (n = 5)	Females (n = 5)
Total number of hemocytes, 10 ⁹ unit/l	1.6±0.09	1.3±0.06*
Hemogram, %		
Agranulocytes	26.3±0.9	27.3±0.7
Semi-granulocytes	49.1±0.6	40.0±2.1***
Granulocytes	21.9±0.6	25.0±0.6**
Clear cells	2.7±0.3	7.7±0.9***

Note: * – p≤0.05. ** – p≤0.02. *** – p≤0.01

у самцов больше общее число гемоцитов. С высокой степенью достоверности можно говорить о большей доле полугранулоцитов у самцов за счет гранулоцитов, и особенно – клеток-предшественников прозрачных клеток.

Представленные референтные значения могут быть использованы для прижизненной оценки физиологического состояния австралийских красноклещевых раков при выращивании в индустриальных условиях УЗВ.

References

1. Alexandrova E.N. Long clawed crayfish as an object of breeding in water bodies of the River Volga basin. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2016;4:9-17. (In Russ.)
2. Toropov D.I., Korovin G.G., Slavnov B.S., Lavrovskaya G.N. et al. *State of social and labor sphere of the village and proposals for its regulation: annual report on the results of monitoring of 2007*. Moscow, Russia: Russian Research Institute of Information and Technical and Economic Studies on Engineering and Technical Provision of Agro-Industrial Complex, 2008:227. (In Russ.)
3. Zhigin A.V., Izotova N.V. Recirculating aquaculture systems as fundamental innovation. *Voprosy rybno-go khozyaystva Belarusi*. 2015;31:52-66. (In Russ.)
4. Pronina G.I., Koryagina N.Y., Trenkler I.V. Influence of rusty-spotted disease on river crayfish in aquaculture. *AACL Bioflux*. 2022;15(1):407-414.

5. Jeyachandran S., Park K., Kwak I.S., Baskaralingam V. Morphological and functional characterization of circulating hemocytes using microscopy techniques. *Microscopy Research and Technique*. 2020;83(7):736-743. <https://doi.org/10.1002/jemt.23463>
6. Johansson M.W., Keyser P., Sritunyalucksana K., Söderhäll K. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*. 2000;191(1-3):45-52.
7. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О. Сравнительная оценка речных раков разных видов по биохимическим и гематологическим показателям // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2009. № 4 (24). С. 186-188. EDN: KYHDLT.
8. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Референсные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов // *Вестник Астраханского государственного технического университета*. 2015. № 4. С. 103-108. EDN: VDPCLR.
9. Скафарь Д.Н., Шумейко Д.В. Гемоциты австралийского красноклещевого рака (*Cherax quadricarinatus*): морфология и гемограмма // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2022. Т. 58, № 6. С. 507-519. <https://doi.org/10.31857/S0044452922060109>
10. Ширина Ю.М., Файзулина Д.Р., Конькова А.В., Котельников А.В. и др. Перспективы использования муки из люцерны в составе кормов для австралийского красноклещевого рака (*Cherax quadricarinatus*) // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия «Рыбное хозяйство»*. 2023. № 1. С. 72-81. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2023-1-72-81>
5. Jeyachandran S., Park K., Kwak I.S., Baskaralingam V. Morphological and functional characterization of circulating hemocytes using microscopy techniques. *Microscopy Research and Technique*. 2020;83(7):736-743. <https://doi.org/10.1002/jemt.23463>
6. Johansson M.W., Keyser P., Sritunyalucksana K., Söderhäll K. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*. 2000;191(1-3):45-52.
7. Pronina G.I., Koryagina N.Yu., Revyakin A.O. Comparative assessment of river crayfish of different species on biochemical and hematological indicators. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2009;4(24):186-188. (In Russ.)
8. Pronina G.I., Koryagina N.Yu. Reference values of physiological and immunological indicators of hydrobionts of different species. *Vestnik of Astrakhan State Technical University*. 2015;4:103-108. (In Russ.)
9. Skafar D.N., Shumeyko D.V. Hemocytes of the Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*): morphology and hemogram. *Zhurnal Evolyutsionnoi Biokhimii i Fiziologii*. 2022;58(6):507-519. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0044452922060109>
10. Shirina Yu.M., Faizulina D.R., Konkova A.V., Kotelnikov A.V. et al. Prospects for using alfalfa flour as part of feed for australian red-claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2023;1:72-81. (In Russ.) <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2023-1-72-81>

Сведения об авторах

Николай Константинович Юдин, аспирант кафедры аквакультуры и пчеловодства, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: dartanian777@yandex.ru

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>

Эдуард Владимирович Бубунец, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: bobunets@rgau-msha.ru

Алексей Васильевич Жигин, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: zhigin@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5526-6904>

Information about the authors

Nikolay K. Yudin, postgraduate student at the Department of Aquaculture and Beekeeping, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation); e-mail: dartanian777@yandex.ru

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>

Eduard V. Bubunets, DSc (Bio), 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: bobunets@rgau-msha.ru

Alexey V. Zhigin, DSc (Bio), 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: zhigin@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5526-6904>

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