

УДК [597.553.1-111:593.161.13](282.5)

**ВЛИЯНИЕ ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ ТРИПАНОСОМАМИ
НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТЮЛЬКИ
(*Clupeonella cultriventris*)
ИВАНЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА**

©2024 г. Д. Ю. Трофимов^{а, *}, Е. А. Заботкина^а

^аИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: dytrof@ibiw.ru

Поступила в редакцию 06.06.2023 г.

После доработки 31.07.2023 г.

Принята к публикации 24.08.2023 г.

Впервые методом световой микроскопии исследованы показатели клеток крови у тюльки (*Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840) Иваньковского водохранилища, в периферической крови которой обнаружены трипаносомы. Показаны сдвиг состава эритроцитов в сторону незрелых клеток, лимфопения, увеличение долей незрелых гранулоцитов, уменьшение доли тромбоцитов. Отмечено, что ранее у этого вида рыб в Иваньковском водохранилище не выявляли инвазии трипаносомами.

Ключевые слова: *Trypanosoma* sp., тюлька, периферическая кровь, лейкоциты, эритроциты, тромбоциты, морфометрические показатели клеток

DOI: 10.31857/S0320965224020147 EDN: xslnpl

Тюлька (*Clupeonella cultriventris* Nordmann 1840) — один из самых ярких представителей видов-вселенцев в водохранилища р. Волги. Попадая в новые местообитания, в процессе адаптации вид не только занимает определенную экологическую нишу, но и постепенно становится подвергаемым заражению “местными” паразитами. В водохранилищах Верхней Волги тюлька отмечена в уловах с конца XX в.: в Рыбинском водохранилище — в 1994 г., в Иваньковском и Угличском водохранилищах — в 1999 г. (Slynko et al., 2002). По исследованию 1996 г. в Рыбинском водохранилище трипаносомы отмечены только у карповых видов рыб (Колесникова, 1996).

Трипаносомы присутствуют в периферической крови многих видов рыб. Среди пресноводных видов они обнаружены у карповых (Колесникова, 1996; Grybchuk-Ieremenko et al., 2014), окуневых (Gupta N., Gupta D.K., 2012), угреобразных (Zintl et al., 2000), бычковых, шуковых, сиговых, тресковых и сомовых (Жохов, Молодожинова, 2006).

Основные переносчики этого заболевания у пресноводных видов — пиявки и паразитические ракообразные (Фролов и др., 2015). Зрелые трипаносомы поглощают пищу всей поверхностью тела, а токсичные для рыбы продукты обмена выделяют в кровотока хозяина и могут вызывать

тяжелые, порой смертельные интоксикации хозяев. Тяжесть заболевания определяется как состоянием организма хозяина, так и условиями среды обитания (Gupta N., Gupta D.K., 2012).

Известно, что трипаносомы вызывают сдвиг физиолого-биохимических показателей, изменения в паренхиматозных органах и жабрах (Osman et al., 2009), снижают выживаемость и темпы роста рыб (Головина и др., 2007; Clauss et al., 2008). Ранее было показано, что у леща из Угличского водохранилища трипаносомы оказали существенное влияние на показатели красной и белой крови, вызывая увеличение индекса обилия лейкоцитов, эозинофилию, лимфопению, увеличение относительного количества незрелых эритроцитов в крови, уменьшение площади зрелых клеток, уровня гемоглобина в крови (Lapirova, Zabolotkina, 2018). У тюльки, как вида-вселенца, паразитарную инвазию трипаносомами ранее не отмечали.

Материал для исследования отлавливали мальковым тралом в августе 2019 г. в Иваньковском водохранилище в ходе рейса научно-исследовательского судна “Академик Топчиев”. Для исследования отбирали рыб (20 экз.) в возрасте 1+, 2+ длиной 47–58 мм и массой 1.1–2.4 г. Для исследования клеток приготавливали мазки периферической крови. Высушенные на воздухе мазки фиксировали этиловым спиртом и окрашивали

краской Романовского–Гимза на фосфатном буфере при pH 7.0. Мазки просматривали под цифровым микроскопом Keyence VHX-1000 с объективом Z-500 и встроенной программой морфометрического анализа. Определяли индекс обилия лейкоцитов, состав лейкоцитов и тромбоцитов, состав эритроцитов и наличие патологических форм эритроцитов, при морфометрии эритроцитов рассчитывали площадь клеток и их ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), индекс формы клеток (I_f). Подробно методы исследования лейкоцитов и тромбоцитов описаны ранее (Трофимов и др., 2022). Соотношение различных форм эритроцитов и амитозы рассчитывали как доли при просмотре 500 клеток (%), микроядра – 1000 клеток (‰). Для морфометрических исследований на каждом мазке измеряли по 100 зрелых эритроцитов. Индекс формы эритроцитов рассчитывали как отношение малого и большого диаметра клетки (усл. ед.).

Результаты исследования представляли в виде средних и их ошибок. Статистическую обработку данных проводили при помощи программ пакета Microsoft Office 2010 и STATISTICA с оценкой значимости различий по U-тесту Уилкинсона ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

Была поставлена задача провести сравнительное исследование гематологических параметров клеток белой и красной крови у неинвазированной и инвазированной трипаносомами тюльки.

Результаты исследования показали, что в августе 2019 г. в периферической крови двух особей

присутствовали трипаносомы (*Trypanosoma* sp.) на стадии промастиготы и взрослых особей (рис. 1). Это вызвало существенное изменение показателей клеток красной и белой крови у инвазированных рыб (табл. 1): снижение относительного количества зрелых эритроцитов и тромбоцитов и повышение долей эритробластов и незрелых эритроцитов, незрелых гранулоцитов (двукратное и более чем трехкратное — метамиелоцитов), увеличение индекса обилия лейкоцитов. У инвазированных рыб увеличались доли округлых и голоядерных тромбоцитов, а доля веретенновидных — уменьшилась. Анализ морфометрических данных эритроцитов показал у инвазированных рыб увеличение площади клеток и уменьшение ядерно-цитоплазматического отношения.

Ранее было показано, что в водохранилищах р. Волги трипаносомоз — достаточно частая инвазия в крови карповых и окуневых рыб, щуки, сома (Колесникова, 1996; Жохов, Молодожникова, 2006; Кириллов и др., 2018; Lapirova, Zobotkina, 2018). У половозрелых рыб, инвазированных трипаносомами, выявлены анемия, лимфопения и гранулоцитоз, в основном за счет эозинофилии (Lapirova, Zobotkina, 2018; De Sousa et al., 2020), отмечена гибель инвазированной молоди (Головина и др., 2007). Картина крови тюльки при инвазировании ее трипаносомами в целом соответствует таковой у других видов рыб, гранулоцитоз при этом происходит за счет возрастания долей незрелых нейтрофильных гранулоцитов.

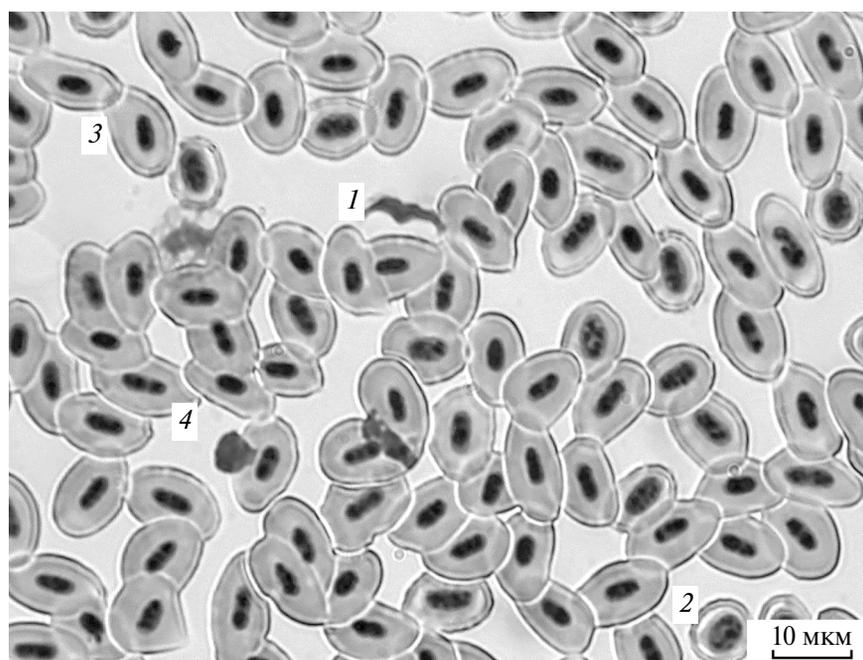


Рис. 1. Картина крови инвазированной трипаносомами тюльки. 1 — трипаносома, 2 — незрелый эритроцит, 3 — зрелый эритроцит, 4 — амитотически делящееся ядро в эритроците тюльки.

Таблица 1. Показатели клеток периферической крови тюльки, неинвазированной и инвазированной трипаносомами

Показатели	Неинвазированные рыбы	Инвазированные рыбы
Обилие лейкоцитов (клеток/поле зрения)	2.13 ± 0.76	4.00 ± 0.90*
Лейкоциты, %		
Гемоцитобласты	0.71 ± 0.53	6.25 (0.50– 12.00)
Лимфоциты	66.79 ± 11.83	34.00 (30.00– 38.00)*
Моноциты	7.13 ± 4.06	4.00 (3.50– 4.50)
Миелоциты	6.75 ± 2.79	13.00 (11.00– 15.00)*
Метамиелоциты	12.04 ± 5.88	39.00 (25.50– 52.50)*
Нейтрофилы палочкоядерные	5.71 ± 2.59	3.50 (1.50– 5.50)
Нейтрофилы сегментоядерные	0.88 ± 1.00	0.25 (0.00– 0.50)
Тромбоциты, %		
Тромбоциты	63.76 ± 9.84	39.88 (36.10–43.66)*
Тромбоциты округлые	20.97 ± 7.10	32.53 (22.58–42.48)
Тромбоциты веретеновидные	51.94 ± 10.55	30.18 (20.35–40.00)**
Тромбоциты голаядерные	27.08 ± 7.30	37.30 (37.17–37.42)**
Эритроциты, %		
Эритробласты	0.38 ± 0.16	1.70 ± 0.16*
Незрелые эритроциты	3.68 ± 0.67	11.68 ± 2.57*
Зрелые эритроциты	95.94 ± 0.59	86.63 ± 2.41*
Амитозы	0.28 ± 0.33	1.69 ± 1.54
Микроядра	1.28 ± 1.99	2.01 ± 2.85
Морфометрические показатели эритроцитов		
Площадь клеток, мкм ²	68.38 ± 7.47	77.74 ± 5.72
Площадь ядер, мкм ²	11.35 ± 1.49	10.49 ± 1.24
ЯЦО, усл. ед.	0.20 ± 0.03	0.14 ± 0.04*
Индекс формы, усл. ед.	0.66 ± 0.07	0.62 ± 0.07

Примечание. ЯЦО — ядерно-цитоплазматическое отношение. В скобках приведены минимальные и максимальные значения. Результаты инвазированных и неинвазированных рыб достоверно отличаются:

* при $p < 0.01$;

** при $p < 0.05$.

Н.Т. Ивановой (1983) отмечены псевдобазо- и эозинофилы в крови донской сельди. В нашем исследовании у инвазированных рыб были встречены две клетки, которые обладали оксифильной цитоплазмой, но без характерной для эозинофилов зернистости. Наличие у тюльки одного или более типов гранулоцитов нуждается в уточнении другими методами исследований.

Анализ литературы показал, что трипаносомы — случайные паразиты для этого вида рыб и могут быть примером экзотрансформации жизненного цикла паразитов (Фролов, 2015), хотя пути передачи инфекции не очень понятны. Учитывая распространенность и численность тюльки в водоемах Верхней Волги (Карабанов, 2009), она может представлять дополнительный резервуар для инфекции. В то же время, инвазирование тюлек трипаносомами, что ранее было для них нехарактерно, может свидетельствовать

о включении вида в новые пищевые цепочки в водоемах.

Увеличение площади эритроцитов у инфицированных рыб при уменьшении доли зрелых клеток в крови, по-видимому, одна из компенсаторных реакций и способ увеличения переноса кислорода в крови. Ранее у лещей, напротив, было обнаружено уменьшение площади клеток и возрастание ядерно-цитоплазматического отношения (Larigova, Zobotkina, 2018). Возможно, это связано с длительностью инвазии, ее стадией, возрастом рыб и их физиологическими особенностями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заражение тюльки трипаносомами вызывает уменьшение в крови доли зрелых эритроцитов и их ядерно-цитоплазматического отношения, увеличение обилия лейкоцитов и сдвиг соотно-

шения лейкоцитов в сторону лимфопении и гранулоцитоза. По-видимому, как и у других рыб, паразитарная инвазия вызывает анемию у тюльки, изменения лейкоцитарного звена соответствуют таковым, обнаруженным у других видов рыб.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность М.И. Базарову и Ю.И. Соломатину (Институт биологии внутренних вод РАН) за помощь в сборе материала.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания г/р № 121050500046-8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Головина Н.А., Стрелков В.Н., Воронин П.П. и др. 2007. Иктиопатология. М.: Мир.
- Жохов А.Е., Молодожникова Н.М. 2006. Таксономическое разнообразие паразитов рыбообразных и рыб бассейна Волги I. Паразитические простейшие (Protozoa) // Паразитология. Т. 40. № 3. С. 244.
- Иванова Н.Т. 1983. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть
- Карабанов Д.П. 2009. Генетико-биохимические адаптации черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) при расширении ареала: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва. 24 с.
- Кириллов А.А., Кириллова Н.Ю., Чихляев И.В. 2018. Паразиты позвоночных животных Самарской области. Тольятти: Полиар.
- Колесникова И.Я. 1996. Экология и фауна паразитических простейших рыб Рыбинского и Шекснинского водохранилищ: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Борок: Ин-т биологии внутр. вод РАН.
- Трофимов Д.Ю., Цельмович О.Л., Заботкина Е.А. 2022. Лейкоциты и тромбоциты периферической крови тюльки черноморско-каспийской (*Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840) Иваньковского и Угличского водохранилищ // Тр. Ин-та биологии внутр. вод им. И.Д. Папанина РАН. № 100(103). С. 17. <https://doi.org/10.47021/0320-3557-2022-17-34>
- Фролов А.О., Малышева М.Н., Костыгов А.Ю. 2015. Трансформации жизненных циклов в эволюционной истории трипаносоматид. Макротрансформации // Паразитология. Т. 49. № 4. С. 233.
- Clauss T.M., Dove A.D.M., Arnold J.E. 2008. Hematologic disorders of fish // Veterinary clinics of North America: exotic animal practice. V. 11. № 3. P. 445. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>
- De Souza W., Barrias E.S. 2020. May the epimastigote form of *Trypanosoma cruzi* be infective? // Acta Tropica. V. 212. P. 105688. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105688>
- Grybchuk-Ieremenko A., Losev A., Kostygov A.Y. et al. 2014. High prevalence of trypanosome co-infections in freshwater fishes // Folia Parasitologica. V. 61. № 6. P. 495. <https://doi.org/10.14411/fp.2014.064>
- Gupta N., Gupta D.K. 2012. Erythropania in piscine trypanosomiasis // Trends Parasitol. Res. V. 1. № 1. P. 1.
- Lapirova T.B., Zobotkina E.A. 2018. Effect of trypanosomiasis on hematologic characteristics of bream (*Abramis brama*) // Regul. Mechanism Biosyst. V. 9. №. 3. P. 309. <https://doi.org/10.15421/021845>
- Osman H.A.M., Fadel N.G., Ali A.T. 2009. Biochemical and histopathological alterations in catfish, *Clarias gariepinus*, infected with trypanosomiasis with special reference to immunization // Egypt J. Comp. Pathol. Clinical Pathol. V. 22. P. 164.
- Slyenko Yu.V., Korneva L.G., Rivier I.K. et al. 2002. The Caspian-Volga-Baltic invasion corridor // Invasive aquatic species of Europe. Distribution, impacts and management. P. 399. https://doi.org/10.1007/978-94-015-9956-6_40
- Zintl A., Voorheis H.P., Holland C.V. 2000. Experimental infections of farmed eels with different *Trypanosoma granulosum* life-cycle stages and investigation of pleomorphism // J. Parasitol. V. 86. № 1. P. 56. <https://doi.org/10.2307/3284908>

Effect of Trypanosome Infection on Hematological Parameters of the Black Sea Sprat (*Clupeonella cultriventris*) from the Ivankovo Reservoir

D. Yu. Trofimov^{1,*}, E. A. Zobotkina¹

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: dytrof@ibiw.ru

For the first time, light microscopy was used to study the parameters of red and white blood cells and thrombocytes were studied in the Black Sea Sprat (*Clupeonella cultriventris* Nordmann) from the Ivankovo Reservoir, in the peripheral blood of which trypanosomes were found. A shift in the composition of erythrocytes towards immature cells, lymphopenia, an increase in the proportion of immature granulocytes, and a decrease in the proportion of platelets are shown. It was noted that earlier this species of fish in the Ivankovo reservoir was not infected with trypanosomes.

Keywords: *Trypanosoma* sp., Black Sea Sprat, peripheral blood, leukocytes, erythrocytes, thrombocytes, cell morphometric parameters