

Научная статья  
УДК 591.113; 59.08  
<https://doi.org/10.24143/2073-5529-2023-1-105-111>  
EDN IFFWLP

## Методика подсчета общего числа гемоцитов австралийского красноклешневого рака

Денис Николаевич Скафарь<sup>1✉</sup>, Дмитрий Валентинович Шумейко<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия, [Skafden@mail.ru](mailto:Skafden@mail.ru)

<sup>1</sup>Азово-Черноморский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>1,2</sup>ООО НПЦ «АКВАТЕХБИОТОП», Краснодар, Россия

<sup>2</sup>Международный Таразский инновационный институт им. Ш. Муртазы, Тараз, Казахстан

**Аннотация.** Установлена оптимальная формула для подсчета общего числа гемоцитов (ОЧГ) австралийского красноклешневого рака (*Cherax quadricarinatus*), которая позволяет оптимизировать время подсчета ОЧГ без снижения точности. Приведены методические рекомендации по пробоподготовке образца гемолимфы, подсчету ОЧГ и дифференцированному подсчету гемоцитов. Выяснено, что отличия в ОЧГ при использовании различных формул минимальны, что подтверждается дисперсионным анализом  $F = 0,011$ ,  $p = 0,998$ , средние величины ОЧГ колеблются от 2 384 до 2 427 шт./мкл. Проведение множественных сравнений также продемонстрировало, что различия между формулами минимальны: уровни значимости между формулами составляли  $p = 0,99$ . Наиболее оптимальной для использования у австралийского красноклешневого рака является формула:  $\text{ОЧГ в 1 мкл} = N \cdot 10$ , где  $N$  – общее число гемоцитов в 25 больших квадратах камеры Горяева. Счетная камера должна быть чистой, т. к. при нахождении на сетке даже мелких пылинок могут образовываться скопления из гемоцитов, которые осложняют подсчет, или результат при таком подсчете будет некорректным, поскольку распределение на сетке гемоцитов будет неравномерным. После заполнения камеры гемолимфой рекомендуется подождать 1–1,5 мин, чтобы перемещение в ней гемолимфы остановилось и гемоциты прекратили свое движение. Рекомендуется использовать антикоагулянт, он препятствует быстрому распаду клеток и способствует их равномерному распределению на сетке камеры, без образования сгустков (скоплений), которые влияют на точность подсчета. Работа с цельной гемолимфой подразумевает быстроту и точность действий исследователя, поскольку она быстро коагулирует и образует скопления гемоцитов. Во избежание путаницы при подсчете клеток, находящихся на границе между квадратами, применяют правило Егорова. Наиболее оптимальным увеличением для ведения подсчета является 400-кратное увеличение.

**Ключевые слова:** австралийский красноклешневый рак, *Cherax quadricarinatus*, гемолимфа, гемоциты, общее число гемоцитов, дифференцированный подсчет

**Для цитирования:** Скафарь Д. Н., Шумейко Д. В. Методика подсчета общего числа гемоцитов австралийского красноклешневого рака // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2023. № 1. С. 105–111. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2023-1-105-111>. EDN IFFWLP.

Original article

## Methods of calculating total hemocyte count in Australian red-claw crayfish

Denis N. Skafar<sup>1✉</sup>, Dmitry V. Shumeyko<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Kuban State University, Krasnodar, Russia, [Skafden@mail.ru](mailto:Skafden@mail.ru)

<sup>1</sup>Azov-Black Sea branch of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Rostov-on-Don, Russia

<sup>1,2</sup>LLC SPC “AQUATECHBIOTOPE”, Krasnodar, Russia

<sup>2</sup>International Taraz Innovative Institute named after Sh. Murtaza, Taraz, Kazakhstan

**Abstract.** The optimal formula for calculating the total number of hemocytes (HTN) of the Australian red-claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) has been established, which allows optimizing the time of counting HTN without reducing accuracy. Methodical recommendations on preparing a hemolymph sample, HTN calculation and differentiated calculation of hemocytes are given. It was found out that the differences in HTN are minimal when using different formulas, which is confirmed by the analysis of variance  $F = 0.011$ ,  $p = 0.998$ , the average values of HTN range from 2 384 to 2 427 cell/ $\mu\text{l}$ . Conducting multiple comparisons also demonstrated that the differences between the formulas are minimal: the significance levels between the formulas were  $p = 0.99$ . The optimal formula for the Australian red-claw crayfish is: HTN in  $1 \mu\text{l} = N \cdot 10$ , where  $N$  is the total number of hemocytes in 25 large squares of Gorjaev's chamber. The counting chamber should be clean, since when even small dust particles are found on the grid, hemocyte clusters can form and impede counting, or the result of the calculation will be incorrect, because the distribution of hemocytes on the grid will not be uniform. After filling the chamber with hemolymph, it is recommended to wait 1-1.5 minutes so that the movement of the hemolymph stops and the hemocytes stop moving. It is recommended to use an anticoagulant, which prevents the rapid decay of cells and promotes their uniform distribution on the grid of the chamber without developing clots (clusters) that affect the accuracy of counting. Working with the whole hemolymph implies the speed and accuracy of the researcher's actions, since it quickly coagulates and forms clusters of hemocytes. In order to avoid confusion when counting cells located on the border between squares, Egorov's rule is applied. The optimal increase for counting is a 400-fold increase.

**Keywords:** Australian red-claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, hemolymph, hemocytes, total hemocyte number, differentiated counting

**For citation:** Skafar D. N., Shumeyko D. V. Methods of calculating total hemocyte count in Australian red-claw crayfish. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry.* 2023;1:105-111. (In Russ.). <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2023-1-105-111>. EDN IFFWLP.

### Введение

Прижизненная оценка физиологического состояния промыслово значимых видов ракообразных является перспективным направлением, развивающимся последние несколько десятков лет. Наиболее полную картину о состоянии ракообразного позволяет дать анализ гемолимфы [1, 2]. При анализе гемолимфы используют группу различных показателей, в их число входит общее число гемоглобинов (ОЧГ). Для ряда декапод установлено, что отклонение ОЧГ от нормы указывает на изменение физиологического состояния. Так, повышение уровня ОЧГ можно рассматривать как ответ на стресс или как спровоцированное митогенетическое возбуждение [3, 4], а снижение ОЧГ можно интерпретировать как показатель ослабления иммунитета и ухудшения состояния здоровья, вызванного угнетением вследствие влияния загрязняющих и отравляющих веществ [5–7] или заражением ракообразного вирусами или микроорганизмами [8]. Также изменение ОЧГ может сопровождать такие процессы, как линька, изменение цвета и гликемия [9]. Однако приведенные закономерности нельзя экстраполировать на все таксономические группы ракообразных, т. к. для различных видов возможны отличные изменения ОЧГ как ответ на одни и те же факторы воздействия.

Обычно ОЧГ определяют, используя различные типы камер для счета форменных элементов крови, как правило, в России применяют камеру Горяева.

Камера Горяева представляет собой счетную камеру объемом  $0,9 \text{ мм}^3$  с выгравированной сеткой, состоящей из 225 больших квадратов размером  $0,2 \times 0,2 \text{ мм}$  и 400 маленьких квадратов размером  $0,05 \times 0,05 \text{ мм}$ .

При установлении формул для подсчета форменных элементов крови рыб и ракообразных руководствуются рекомендациями Н. Т. Ивановой по подсчету клеток крови рыб [10]. Так, для длинно-

палого и широкопалого раков разработаны следующие формулы для подсчета ОЧГ в камере Горяева [11, 12]:

$$\text{ОЧГ} = N \cdot 4\,000 / 3\,600$$

или

$$\text{ОЧГ} = N / 0,9, \quad (1)$$

где  $N$  – ОЧГ в 225 больших квадратах камеры Горяева;

$$\text{ОЧГ} = N \cdot 2,5, \quad (2)$$

где  $N$  – ОЧГ в 100 больших квадратах камеры Горяева;

$$\text{ОЧГ} = N \cdot 5, \quad (3)$$

где  $N$  – ОЧГ в 50 больших квадратах камеры Горяева;

$$\text{ОЧГ} = N \cdot 10, \quad (4)$$

где  $N$  – ОЧГ в 25 больших квадратах камеры Горяева.

Как правило, ОЧГ в России выражают в числе клеток (шт.) в  $1 \text{ мкл}$  или  $1 \text{ мм}^3$ .

Как можно заметить, число просчитываемых квадратов может варьировать в широком диапазоне – от 225 (все квадраты камеры) до 25. Представленное разнообразие формул объясняется тем, что в зависимости от концентрации гемоглобинов в крови целесообразно использовать ту или иную формулу. Так, например, при очень маленьком числе гемоглобинов рекомендуется использовать формулы с большим количеством просчитываемых квадратов (формулы (1) и (2)). Однако от числа просчитанных квадратов зависит время получения результата, что в реалиях рыбоводных предприятий требует наименьших затрат по времени. При этом для перспективного объекта аквакультуры [13] – австралийского красноклещевого рака – требуется переосмотреть предложенные для речных раков формулы

подсчета ОЧГ, поскольку имеется тенденция к снижению количества подсчитываемых квадратов сетки счетной камеры при увеличении числа форменных элементов крови. Так, у раков *Astacus astacus* и *Pontastacus leptodactylus* ОЧГ составляет в норме в среднем 700–800 шт./мкл соответственно [14, 15], в то время как у австралийского красноклешневого рака ОЧГ в несколько раз выше, чем у первых двух видов, и среднее число гемоцитов может колебаться, по разным источникам, от 1 678 до 2 400 шт./мкл в зависимости от условий содержания [16, 17].

Целью настоящей работы было определение наиболее оптимальной формулы и разработка рекомендаций для подсчета ОЧГ австралийского красноклешневого рака.

### Материалы и методы исследования

Работу проводили в лаборатории перспективных технологий в аквакультуре на базе бизнес-инкубатора ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет». В работе использовали 23 раз-

норазмерных особи австралийского красноклешневого рака обоих полов (*Cherax quadricarinatus*, Von Martens 1868).

**Отбор гемолимфы и подсчет общего числа гемоцитов.** Гемолимфу отбирали прижизненно из вентрального синуса шприцем объемом 2 мл с иглой 23G с учетом норм санитарии. Такой способ позволяет отбирать кровь, не нанося здоровью раков значительного ущерба. В качестве антикоагулянта использовали 4 %-й раствор Трилона-Б (ЭДТА-Na<sub>2</sub>) (BASF, Китай).

Подсчет ОЧГ велся в 225, 100, 50 и 25 больших квадратах камеры Горяева и рассчитывался в соответствии с формулами (1)–(4). Всего провели 23 наблюдения для каждой из формул. Подсчет ОЧГ осуществляли следующим образом: подсчитывали гемоциты во всех больших квадратах камеры Горяева, далее производили подсчет по формулам с использованием необходимого числа квадратов, расположенных на сетке в соответствии с рис. 1.

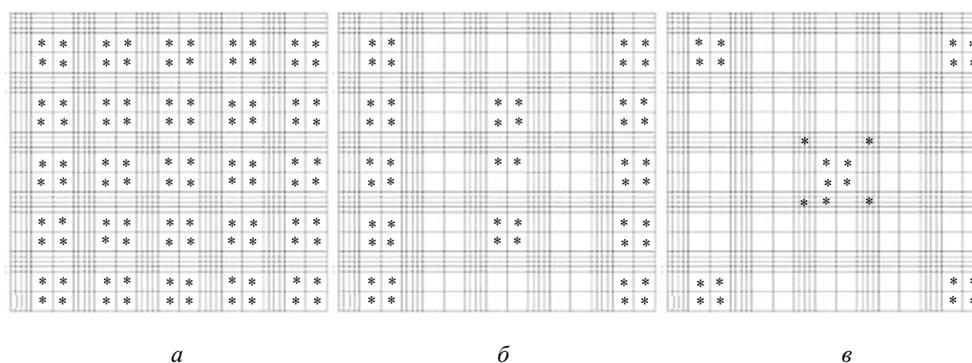


Рис. 1. Квадраты камеры Горяева, в которых велся подсчет:  
\* – квадраты, в которых велся подсчет гемоцитов; а – в 100 больших квадратах;  
б – в 50 больших квадратах; в – в 25 больших квадратах

Fig. 1. Squares of Goryaev's chamber in which the counting was carried out:  
\* – squares in which hemocytes were counted; а – in 100 large squares;  
б – in 50 large squares; в – in 25 large squares

**Статистическая обработка.** Для определения статистической значимости результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), предварительно проведя проверку на нормальность с использованием критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Множественные сравнения проводили с помощью HSD-теста.

Расчеты и графическое оформление полученных данных проводили с использованием программ Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США)

и Statistica 14 (TIBCO Software Inc. США). Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ).

### Результаты и их обсуждение

Отличия в ОЧГ при использовании различных формул минимальны, что подтверждается дисперсионным анализом  $F = 0,011$ ,  $p = 0,998$ , средние величины ОЧГ колеблются от 2 384 до 2 427 шт./мкл (табл., рис. 2).

#### Показатели ОЧГ при подсчете различными формулами

#### THC indicators calculated by different formulas

Показатели ОЧГ	Число просчитанных больших квадратов в камере			
	225	100	50	25
$M \pm SD$	2 427 ± 921,5	2 384 ± 896,1	2 402 ± 877,9	2 384 ± 947,2
Min-max	942–4 444	761–4 400	910–4 305	900–4 360

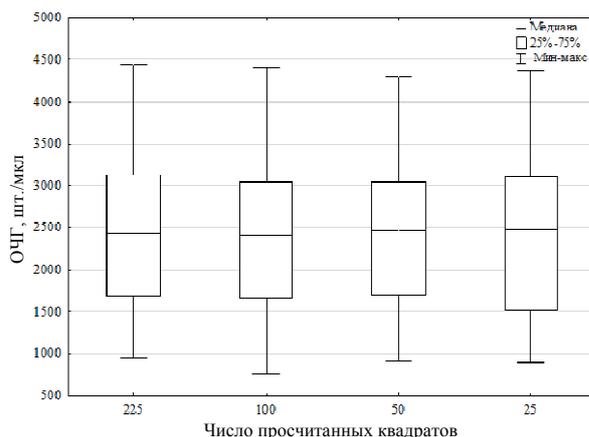


Рис. 2. Результаты подсчета ОЧГ различными формулами

Fig. 2. Results of calculating the TNC by different formulas

Проведение множественных сравнений также показало, что различия между формулами минимальны: уровни значимости между формулами составляли  $p = 0,99$ . Исходя из этого можно сделать вывод, что наиболее оптимальной для использования у австралийского красноклещевого рака является формула (4), поскольку при подсчете 25 квадратов камеры, по сравнению с другими вариантами, различия в средних значениях ОЧГ минимальны. Используя меньшее количество квадратов можно снизить количество времени на проведение анализа без снижения его точности, что позволяет оптимизировать процесс подсчета ОЧГ.

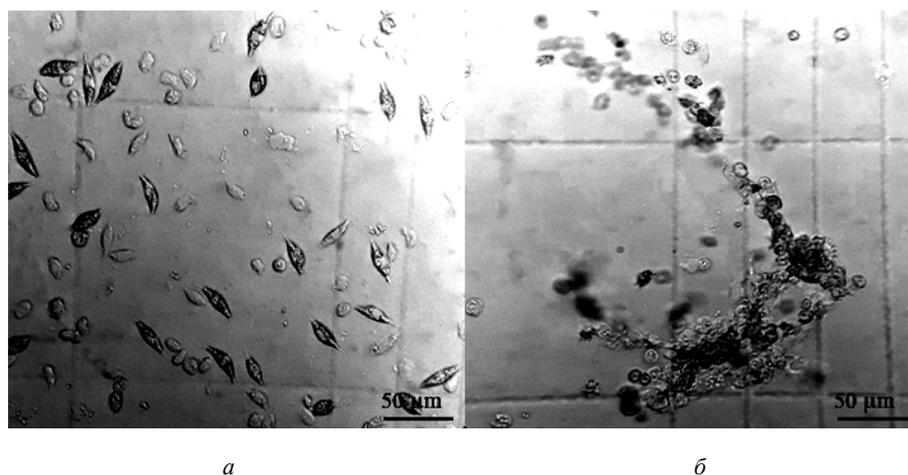
#### Методические рекомендации по подсчету ОЧГ

Счетная камера должна быть чистой, т. к. при на-

хождении на сетке даже мелких пылинок могут образовываться скопления из гемоцитов, которые осложняют подсчет, или результат при таком подсчете будет некорректным, поскольку распределение на сетке гемоцитов не будет равномерным.

После заполнения камеры гемолимфой рекомендуется подождать 1–1,5 мин, чтобы перемещение в ней гемолимфы остановилось и гемоциты прекратили свое движение.

Для подсчета ОЧГ рекомендуется использовать антикоагулянт: он препятствует быстрому распаду клеток и способствует их равномерному распределению на сетке камеры, без образования сгустков (скоплений), которые влияют на точность подсчета (рис. 3, а).



а

б

Рис. 3. Гемоциты в камере Горяева:

а – равномерное распределение гемоцитов в камере при использовании антикоагулянта;  
 б – скопления гемоцитов в нативной гемолимфе

Fig. 3. Hemocytes in Goryaev's chamber:

а – uniform distribution of hemocytes in the chamber when using an anticoagulant;  
 б – accumulations of hemocytes in native hemolymph

Важно при использовании антикоагулянта не забывать вводить поправки на разбавление гемолимфы в формулы. Равномерного распределения клеток в сетке камеры можно также добиться, если заполнить камеру первыми двумя каплями только что отобранной нативной гемолимфы [18]. Работа с цельной гемолимфой подразумевает быстроту и точность действий исследователя, поскольку она быстро коагулирует и образует скопления гемоцитов (см. рис. 3, б). При образовании скоплений клеток в квадратах камеры рекомендуется пропускать такие квадраты и просчитывать другие, находящиеся неподалеку, без скоплений гемоцитов.

Во избежание путаницы при подсчете клеток, находящихся на границе между квадратами, применяют правило Егорова при подсчете эритроцитов: в квадрате учитываются только те клетки, которые находятся внутри квадрата и на его верхней и левой границе, при условии, что клетки находятся в квадратах больше собственной половиной внутри него.

Тип клеток (%) =  $100 / (\text{Кол-во клеток, просчитанных для диф. подсчета}) \cdot \text{Кол-во клеток искомого типа}$ .

Допустим, мы просчитали 150 гемоцитов, и 38 из этих просчитанных клеток – гранулоциты, тогда доля гранулоцитов будет рассчитываться следующим образом:

$$\text{Гранулоциты} = 100 / 150 \cdot 38 = 25,3 \%$$

В итоге в анализируемом образце гемолимфы доля гранулоцитов будет составлять 25,3 %.

Наиболее оптимальным увеличением для ведения подсчета является 400-кратное увеличение.

Несмотря на то, что разница в ОЧГ между предложенными формулами минимальна, рекомендуется при ОЧГ менее 1 100 шт./мкл использовать формулу (3) или (2), а не (4).

Помимо подсчета ОЧГ в камере Горяева можно определить присутствие бактерий в гемолимфе и обломков гемоцитов, а также произвести дифференциальный подсчет гемоцитов – определить процентное соотношение различных типов гемоцитов. В частности, не составляет труда определить процент гранулоцитов в гемолимфе, поскольку данный тип клеток хорошо идентифицируется ввиду своего большого лучепреломления из-за крупных гранул. Для дифференциального подсчета гемоцитов следует просчитать не менее 100 клеток (100–300 в зависимости от количества клеток в камере) в разных частях камеры Горяева и воспользоваться следующей формулой:

#### Заключение

Таким образом, установлена оптимальная формула с использованием 25 квадратов в счетной камере Горяева для подсчета ОЧГ австралийского красно-клевшевого рака, которая позволяет оптимизировать время подсчета ОЧГ без снижения точности. Помимо этого были приведены методические рекомендации по пробоподготовке образца гемолимфы, подсчету ОЧГ и дифференцированному подсчету гемоцитов.

#### Список источников

1. Александрова Е. Н., Кочева Н. П. Прижизненное определение физиологического статуса десятиногих ракообразных (*Crustacea: Decapoda*) по гематологическим показателям // Успехи физиологических наук. 2010. Т. 41, № 2. С. 51–67.
2. Paterson B. D., Spanogle P. T., Davidson G. W., Hosking W., Nottingham S., Jussila J., Evans L. H. Prediction survival of western rock lobster *Panulirus cygnus*, using discriminant analysis of hemolymph parameters taken immediately following simulated handling treatments // New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 2005. V. 39. P. 1129–1143.
3. Jussila J. Physiological responses of Astacid and Parastacid Crayfishes (*Crustacea: Decapoda*) to conditions of intensive culture: the dissertation on doctor's degree. Univ. Kuopio, 1997. 138 p.
4. Sequiera T., Tavares D., Arala-Chaves M. Evidence for circulation hemocyte proliferation in the shrimp *Penaeus japonicus* // J. Develop. and Comp. Immunol. 1996. V. 20, no. 2. P. 97–104. [https://doi.org/10.1016/0145-305x\(96\)00001-8](https://doi.org/10.1016/0145-305x(96)00001-8).
5. Lorenz S., Francese M., Smith V. J., Ferrero E. A. Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon elegans* // Fish Shellfish Immunol. 2001. V. 11, no. 6. P. 459–472. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0321>.
6. Cheng W., Chen Jiann-Chu. Effects of environmental factors on the immune responses of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and other decapod crustaceans // J. Fish. Soc. Taiwan. 2002. V. 29. P. 1–19.
7. Romano N., Zeng C. Toxic Effects of Ammonia, Nitrite, and Nitrate to *Decapod Crustaceans*: A Review on Factors Influencing their Toxicity, Physiological Consequences, and Coping Mechanisms // Reviews in Fisheries Science. 2013. V. 21, no. 1. P. 1–21. <https://doi.org/10.1080/10641262.2012.753404>.
8. Liu Y.-T., Chang C.-I., Hseu J.-R., Liu K.-F., Tsai J.-M. Immune responses of prophenoloxidase and cytosolic manganese superoxide dismutase in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* against a virus and bacterium // Molecular Immunology. 2013. V. 56, no. 1-2. P. 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2013.03.023>.
9. Truscott R., White K. N. The Influence of Metal and Temperature Stress on the Immune System of Crabs // Functional Ecology. 1990. V. 4, no. 3. P. 455–461. <https://doi.org/10.2307/2389609>.
10. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М.: Лег. пром-сть, 1982. 184 с.
11. Александрова Е. Н., Пронина Г. И., Корягина Н. Ю. О числе гемоцитов и некоторых других свойствах гемолимфы речных раков (*Decapoda, Astacinae*) // Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности: материалы Междунар. науч.-практ. конф.,

посвящ. 60-летию Моск. рыбоводно-мелиоратив. опыт. ст. и 25-летию ее реорганизации в ГНУ ВНИИР (Москва, 11–13 апреля 2005 г.): сб. науч. тр. М.: Изд-во ВНИИР Россельхозакадемии, 2005. С. 365–375.

12. Иванов А. А., Пронина Г. И., Корягина Н. Ю. Физиология гидробионтов. СПб.: Лань, 2021. 480 с.

13. Лагуткина Л. Ю., Кузьмина Е. Г., Ахмеджанова А. Б., Таранина А. А., Ясинский В. С., Пономарев Р. А. Фактологическое обеспечение практик повышения эффективности выращивания тропических пресноводных видов // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство. 2020. № 2. С. 94–105. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2021-2-134-143>.

14. Пронина Г. И., Корягина Н. Ю. Референсные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство. 2015. № 4. С. 103–108.

15. Аджиев Д. Д., Пронина Г. И., Иванов А. А., Корягина Н. Ю. Функциональные показатели пойкилотермных гидробионтов из природных и искусственных водных

биоценозов // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53, № 2. С. 337–347. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.2.337rus>.

16. Mauro M., Arizza V., Arculeo M., Attanzio A., Pinto P., Chirco P., Badalamenti G., Tesoriere L., Vazzana M. Haemolympathic Parameters in Two Aquaculture Crustacean Species *Cherax destructor* (Clark, 1836) and *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) // Animals. 2022. N. 12. P. 543. <https://doi.org/10.3390/ani12050543>.

17. Bone J. W. P., Renshaw G. M. C., Furse J. M., Wild C. H. Using biochemical markers to assess the effects of imposed temperature stress on freshwater decapod crustaceans: *Cherax quadricarinatus* as a test case // Journal of Comparative Physiology B. 2014. V. 185, no. 3. P. 291–301. <https://doi.org/10.1007/s00360-014-0883-3>.

18. Ковачева Н. П., Александрова Е. Н. Гематологические показатели как индикаторы физиологического состояния декапод: камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* и речных раков родов *Astacus* и *Pontastacus*. М.: Изд-во ВНИРО, 2010. 91 с.

## References

1. Aleksandrova E. N., Kocheva N. P. Prizhiznennoe opredelenie fiziologicheskogo statusa desiatingikh rakobraznykh (*Crustacea: Decapoda*) po gematologicheskim pokazateliam [In vivo determination of physiological status of decapods (*Crustacea: Decapoda*) by hematological parameters]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, 2010, vol. 41, no. 2, pp. 51–67.

2. Paterson B. D., Spanogle P. T., Davidson G. W., Hosking W., Nottingham S., Jussila J., Evans L. H. Prediction survival of western rock lobster *Panulirus cygnus*, using discriminant analysis of hemolymph parameters taken immediately following simulated handling treatments. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 2005, vol. 39, pp. 1129–1143.

3. Jussila J. *Physiological responses of Astacid and Parastacid Crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture. The dissertation on doctor's degree*. Univer. Kuopio, 1997. 138 p.

4. Sequiera T., Tavares D., Arala-Shaves M. Evidence for circulation hemocyte proliferation in the shrimp *Penaeus japonicus*. *J. Develop. and Comp. Immunol.*, 1996, vol. 20, no. 2, pp. 97–104. [https://doi.org/10.1016/0145-305x\(96\)00001-8](https://doi.org/10.1016/0145-305x(96)00001-8).

5. Lorenz S., Francese M., Smith V. J., Ferrero E. A. Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon elegans*. *Fish Shellfish Immunol.*, 2001, vol. 11, no. 6, pp. 459–472. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0321>.

6. Cheng W., Chen Jiann-Chu. Effects of environmental factors on the immune responses of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and other decapod crustaceans. *J. Fish. Soc. Taiwan.*, 2002, vol. 29, pp. 1–19.

7. Romano N., Zeng C. Toxic Effects of Ammonia, Nitrite, and Nitrate to *Decapod Crustaceans*: A Review on Factors Influencing their Toxicity, Physiological Consequences, and Coping Mechanisms. *Reviews in Fisheries Science*, 2013, vol. 21, no. 1, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1080/10641262.2012.753404>.

8. Liu Y.-T., Chang C.-I., Hseu J.-R., Liu K.-F., Tsai J.-M. Immune responses of prophenoloxidase and cytosolic manganese superoxide dismutase in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* against a virus and bacterium. *Molecular Immunology*, 2013, vol. 56, no. 1–2, pp. 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2013.03.023>.

9. Truscott R., White K. N. The Influence of Metal and Temperature Stress on the Immune System of Crabs. *Functional Ecology*, 1990, vol. 4, no. 3, pp. 455–461. <https://doi.org/10.2307/2389609>.

10. Ivanova N. T. *Atlas kletok krovi ryb (sravnitel'naia morfologiya i klassifikatsiya formennykh elementov krovi ryb)* [Atlas of fish blood cells (comparative morphology and classification of blood cells in fish)]. Moscow, Legkaia promyshlennost' Publ., 1982. 184 p.

11. Aleksandrova E. N., Pronina G. I., Koriagina N. Iu. O chisle gemotsitov i nekotorykh drugikh svoistvakh gemolimfy rechnykh rakov (*Decapoda, Astacinae*) [On number of hemocytes and other properties of hemolymph of crayfish (*Decapoda, Astacinae*)]. *Akvakultura i integrirovannye tekhnologii: problemy i vozmozhnosti: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posviashchennoi 60-letiiu Moskovskoi rybovodno-meliorativnoi opytnoi stantsii i 25-letiiu ee reorganizatsii v GNU VNIIR (Moskva, 11–13 aprilia 2005 g.): sbornik nauchnykh trudov*. Moscow, Izd-vo VNIIR Rossel'khozakademii, 2005. Pp. 365–375.

12. Ivanov A. A., Pronina G. I., Koriagina N. Iu. *Fiziologiya gidrobiontov* [Physiology of hydrobionts]. Saint-Petersburg, Lan' Publ., 2021. 480 p.

13. Lagutkina L. Iu., Kuz'mina E. G., Akhmedzhanova A. B., Taranina A. A., Iasinskii V. S., Ponomarev R. A. Faktologicheskoe obespechenie praktik povysheniia effektivnosti vyrashchivaniia tropicheskikh presnovodnykh vidov [Factual support of practices for increasing efficiency of growing tropical freshwater species]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khoziaistvo*, 2020, no. 2, pp. 94–105. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2021-2-134-143>.

14. Pronina G. I., Koriagina N. Iu. Referensnye znachenii fiziologo-immunologicheskikh pokazatelei gidrobiontov raznykh vidov [Reference values of physiological and immunological parameters of hydrobionts of different species]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khoziaistvo*, 2015, no. 4, pp. 103–108.

15. Adzhiev D. D., Pronina G. I., Ivanov A. A., Koriagina N. Iu. Funktsionalnye pokazateli poikilotermykh gidrobiontov iz prirodnykh i iskusstvennykh vodnykh biotsenozov [Functional indicators of poikilothermic hydrobionts from natural and

artificial aquatic biocenoses]. *Sel'skokhoziaistvennaia biologiya*, 2018, vol. 53, no. 2, pp. 337-347. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.2.337rus>.

16. Mauro M., Arizza V., Arculeo M., Attanzio A., Pinto P., Chirco P., Badalamenti G., Tesoriere L., Vazzana M. Haemolymphatic Parameters in Two Aquaculture Crustacean Species *Cherax destructor* (Clark, 1836) and *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868). *Animals*, 2022, no. 12, p. 543. <https://doi.org/10.3390/ani12050543>.

17. Bone J. W. P., Renshaw G. M. C., Furse J. M., Wild C. H. Using biochemical markers to assess the effects of imposed temperature stress on freshwater decapod crustaceans: *Cherax*

*quadricarinatus* as a test case. *Journal of Comparative Physiology B*, 2014, vol. 185, no. 3, pp. 291-301. <https://doi.org/10.1007/s00360-014-0883-3>.

18. Kovacheva N. P., Aleksandrova E. N. *Gematologicheskie pokazateli kak indikatory fiziologicheskogo sostoyaniia dekapod: kamchatskogo kraba Paralithodes camtschaticus i rechnykh rakov rodov Astacus i Pontastacus* [Hematological parameters as indicators of physiological state of decapods: king crab *Paralithodes camtschaticus* and crayfish *Astacus* and *Pontastacus*]. Moscow, Izd-vo VNIRO, 2010. 91 p.

Статья поступила в редакцию 15.08.2022; одобрена после рецензирования 18.01.2023; принята к публикации 22.03.2023  
The article is submitted 15.08.2022; approved after reviewing 18.01.2023; accepted for publication 22.03.2023

### Информация об авторах / Information about the authors

**Денис Николаевич Скафарь** – младший специалист, Азово-Черноморский филиал «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»; лаборант-исследователь; ООО НПЦ «АКВАТЕХБИОТОП»; студент направления «Водные биоресурсы и аквакультура»; Кубанский государственный университет; Skafden@mail.ru

**Дмитрий Валентинович Шумейко** – генеральный директор; ООО НПЦ «АКВАТЕХБИОТОП»; заведующий лабораторией водных биоресурсов; Международный Таразский инновационный институт им. Ш. Муртазы; dima-shum-92@mail.ru

**Denis N. Skafar** – Junior Specialist; Azov-Black Sea branch of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography; Laboratory Researcher; LLC SPC "AQUATECHBIOTOPE"; Student of the direction "Aquatic Bioresources and Aquaculture"; Kuban State University; Skafden@mail.ru

**Dmitry V. Shumeyko** – General Director LLC SPC "AQUATECHBIOTOPE"; Head of the Laboratory of Aquatic Bioresources; International Taraz Innovative Institute named after Sh. Murtaza; dima-shum-92@mail.ru

