

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ЛЕЙКОЦИТАРНОМ СОСТАВЕ КРОВИ ЧЕРЕПАХ С ПОЛУВОДНЫМ ОБРАЗОМ ЖИЗНИ ИЗ САМАРСКОГО ЗООПАРКА

© 2024

Романова Е.Б.¹, Столярова И.А.¹, Бакиев А.Г.², Горелов Р.А.²

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
(г. Нижний Новгород, Российская Федерация)

²Институт экологии Волжского бассейна РАН – филиал Самарского федерального исследовательского центра РАН
(г. Тольятти, Самарская область, Российская Федерация)

Аннотация. Определены лейкоцитарные формулы крови 16 видов пяти семейств черепах, ведущих полуводный образ жизни, из Самарского зоопарка. При сравнении лейкограмм представителей двух родов семейства Emydidae выявлены пониженная доля гетерофилов и повышенная доля базофилов у *Graptemys* (*G. pseudogeographica*, *G. nigrinoda*) по сравнению с *Terrapene* (*T. triunguis*, *T. ornata*). Лейкоцитарный профиль *Cuora mouhotii* (Geoemydidae) отличался повышенным содержанием гетерофилов, что показывало более высокую активацию врожденных иммунных реакций. Наиболее сходны по лейкоцитарному составу виды семейства Kinosternidae из трех родов: *Kinosternon*, *Sternotherus* и *Staurotypus*. Инфраотряд Trionychia (Trionychidae) отличался от инфраотряда Durocryptodira (Emydidae, Geoemydidae и Kinosternidae) повышенным количеством гетерофилов и моноцитов, невысоким содержанием эозинофилов. Подотряд Pleurodira (Chelidae) отличался от подотряда Cryptodira (Emydidae, Geoemydidae, Kinosternidae, Trionychidae) повышенным содержанием агранулоцитов. Выявлены отражающие усиление роли неспецифической резистентности организма черепах в ходе онтогенеза положительные значимые корреляции длины карапакса с содержанием гетерофилов и значениями лейкоцитарных индексов (соотношения лимфоцитов и эозинофилов, гетерофилов и эозинофилов, гетерофилов и лимфоцитов), отрицательные значимые корреляции с содержанием эозинофилов. Соотношение гетерофилов и лимфоцитов, являющееся показателем физиологического стресса, имело минимальное среди исследованных видов значение у *Sternotherus odoratus* (Kinosternidae), максимальное значение – у *C. mouhotii* (Geoemydidae).

Ключевые слова: клетки крови; лейкоцитарная формула крови; лейкоцитарные индексы; Emydidae; Geoemydidae; Kinosternidae; Trionychidae; Chelidae.

COMPARATIVE DATA ON THE BLOOD LEUKOCYTE COMPOSITION OF SEMI-AQUATIC TURTLES FROM THE SAMARA ZOO

© 2024

Romanova E.B.¹, Stolyarova I.A.¹, Bakiev A.G.², Gorelov R.A.²

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (Nizhny Novgorod, Russian Federation)

²Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences – Branch of the Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (Togliatti, Samara Region, Russian Federation)

Abstract. The leukocyte blood count of 16 species of five families of semi-aquatic turtles from the Samara Zoo was determined. A comparison of the leukogram of representatives of two genera of the family Emydidae revealed a reduced proportion of heterophils and an increased proportion of basophils in *Graptemys* (*G. pseudogeographica*, *G. nigrinoda*) compared with *Terrapene* (*T. triunguis*, *T. ornata*). The leukocyte profile of *Cuora mouhotii* (Geoemydidae) was characterized by an increased content of heterophils, which showed a higher activation of innate immune responses. The most similar in leukocyte composition are the species of the Kinosternidae family of three genera: *Kinosternon*, *Sternotherus* and *Staurotypus*. The clade Trionychia (Trionychidae) differed from the clade Durocryptodira (Emydidae, Geoemydidae and Kinosternidae) by an increased number of heterophils and monocytes, and a low content of eosinophils. The Pleurodira suborder (Chelidae) differed from the Cryptodira suborder (Emydidae, Geoemydidae, Kinosternidae, Trionychidae) by an increased content of agranulocytes. Positive significant correlations of the length of the carapace with the content of heterophils and the values of leukocyte indices (index of the eosinophils and lymphocytes ratio, index of the heterophils and eosinophils ratio, index of the heterophils and lymphocytes ratio) reflecting the increased role of nonspecific resistance of the turtle organism during ontogenesis and negative significant correlations with the content of eosinophils were revealed. The index of the heterophils and lymphocytes ratio, which is an indicator of physiological stress, had the minimum value among the studied species in *Sternotherus odoratus* (Kinosternidae), the maximum value in *C. mouhotii* (Geoemydidae).

Keywords: blood cells; WBC (white blood cells) leukocyte blood formula; integral leukocyte indices; Emydidae; Geoemydidae; Kinosternidae; Trionychidae; Chelidae.

Введение

Черепахи (Testudines) – один из четырех сохранившихся отрядов класса Пресмыкающиеся (Reptilia) –

представляет собой с макроэволюционной точки зрения эволюционно уникальную и морфологически самобытную кладу позвоночных животных [1–5]. Эко-

логически представителей данного отряда подразделяют на морских и наземных (сухопутные и пресноводные), большинство черепах ведет полуводный образ жизни [6]. По сведениям на 06.02.2024 «Базы данных рептилий» [7], отряд включает 370 современных видов, группируемых в 14 семейств и 2 подотряда.

Изучение видового разнообразия иммунного статуса является одной из важнейшей задач интенсивно развивающейся области – сравнительной иммуноэкологии, поскольку эколого-физиологические особенности и значительные различия в физиологических нормах иммунной защиты определяют специфику жизненной стратегии видов, позволяя им получать конкурентные предпочтения при выживании в условиях нарастающего воздействия глобальных экологических трендов. К важным трендам для черепах, которые ведут полуводный образ жизни, можно отнести, в частности, изменение климата, потерю важнейших мест размножения, вторжение морской воды в пресноводные местообитания [8].

Сравнение узконаправленных внутрисемейных или внутриродовых параметров с отбором образцов на уровне видов целесообразно проводить в унифицированных условиях, что исключает влияние географических и временных факторов.

Цель настоящей работы – сравнительный анализ направленности адаптивных реакций 16 видов черепах, содержащихся в Самарском зоопарке, относящихся с экологической точки зрения к наземным и ведущим полуводный образ жизни видам.

Материал и методы

Объекты исследования – 15 особей четырнадцати видов из подотряда Скрытошейные черепахи Cryptodira (у двух особей из семейства Trionychidae таксономическая принадлежность определена с уверенностью только до рода) и 2 особи двух видов из подотряда Бокошейные черепахи Pleurodira. Пол черепах определяли по внешним морфологическим признакам. Измерение длины карапакса (*L. car.*, мм) проводили по его средней линии штангенциркулем.

Подотряд Cryptodira – Скрытошейные черепахи

Инфраотряд Durocryptodira – Твердопанцирные черепахи

Семейство Emydidae – Американские пресноводные черепахи

Род *Graptemys* – Горбатые черепахи

G. pseudogeographica – Миссисипская черепаха (самка, 181 мм)

G. nigrinoda – Горбатая шишковатая черепаха (самец, 82 мм)

Род *Terrapene* – Коробчатые черепахи

T. triunguis – Каролинская коробчатая черепаха (самец, 106 мм)

T. ornata – Украшенная коробчатая черепаха (самец, 104 мм)

Семейство Geoemydidae – Азиатские пресноводные черепахи

Род *Cuora* – Шарнирные черепахи

C. mouhotii – Килевая коробчатая черепаха (самец, 169 мм)

Семейство Kinosternidae – Иловые черепахи

Род *Kinosternon* – Замыкающиеся черепахи

K. subrubrum – Пенсильванская замыкающаяся черепаха (самка, 110 мм; самка 95 мм)

K. leucostomum – Белогубая замыкающаяся черепаха (самец, 149 мм)

K. acutum – Табасская черепаха (самка, 97 мм)

Род *Sternotherus* – Мускусные черепахи

S. carinatus – Мускусная килеватая черепаха (самец, 125 мм)

S. odoratus – Обыкновенная мускусная черепаха (самка, 107 мм)

Род *Staurotypus* – Крестогрудые черепахи

S. triporcatus – Большая крестогрудая черепаха (самец, 244 мм)

Инфраотряд Trionychia – Мягкотелые черепахи

Семейство Trionychidae – Трехкоготные черепахи

Род *Pelodiscus* – Дальневосточные черепахи

P. sp.: либо *P. sinensis* – Китайский трионикс, либо *P. maackii* – Дальневосточная мягкотелая черепаха (самка, 250 мм)

Род *Trionyx* – Триониксы

T. sp. – Трионикс неопределенного вида (самка, 255 мм)

Род *Apalone* – Апалоны

A. ferox – Злой трионикс (самец, 255 мм)

Подотряд Pleurodira – Бокошейные черепахи

Семейство Chelidae – Змеиношее черепахи

Род *Chelodina* – Австралийские змеиношее черепахи

C. siebenrocki – Змеиношья черепаха Зибенрока (самка, 219 мм)

Род *Elseya* – Элсея

E. novaeguineae – Новогвинейская элсея (самец, 303 мм).

Экспериментальную работу проводили в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» [9]. Кровь для приготовления мазков (по два от каждой особи) получали из шейной вены черепах. Окраску по Романовскому проводили в течение 20 минут. Дифференцированный подсчет лейкоцитов осуществляли на микроскопе Meiji Techno (Japan, серия MT 4000) с иммерсией (ув. $\times 1500$). Выделяли следующие типы лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (моноциты, лимфоциты) [10–12]. Цифровые изображения клеток выполняли камерой Vision CAM для тринокулярного микроскопа.

На основании лейкоцитарной формулы крови рассчитали интегральные лейкоцитарные индексы в относительных единицах (обозначения: *L* – лимфоциты; *Э* – эозинофилы; *Г* – гетерофилы; *Б* – базофилы): индекс сдвига лейкоцитов, $ИСЛ = \Sigma \text{гранулоцитов} / \Sigma \text{агранулоцитов}$; индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов, $ИСЛЭ = L / Э$; индекс соотношения гетерофилов и эозинофилов, $ИСГЭ = Г / Э$; лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс, $ИЛГ = L \times 10 / Э + Г + Б$; индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов, $ИСГЛ = Г / L$.

Полученные данные проверяли критериями согласия на соответствие нормальному распределению. Центральные тенденции и рассеяние показателей описывали медианой (*Me*) и интерквартильным размахом (*IQR*). В пакете прикладных программ «RStudio» использовали критерии: Краскела–Уоллиса (*H*) (при множественном сравнении независимых групп по одному признаку), Данна (*D*) (при попарном сравнении

групп), Манна–Уитни (u) (при сравнении двух групп), коэффициент ранговой корреляции Спирмана (ρ). Классификацию исследованных видов проводили методом главных компонент. За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Согласно принятой нами в настоящее время систематике [7], изученные виды черепах Самарского зоопарка относятся к пяти семействам: Emydidae, Geoemydidae, Kinosternidae, Trionychidae и Chelidae. Лейкоцитарные клетки крови черепах морфологически различались как в пределах одного семейства (рис. 1), так и между семействами (рис. 2).

Количественное определение профиля лейкоцитов, представляющее собой относительную пропорцию пяти типов лейкоцитов (гетерофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов и лимфоцитов), является надежным показателем иммунной функции организма. Гетерофилы и лимфоциты – два наиболее распространенных типа лейкоцитов, составляющие вместе до 80–90% всех клеток [13, р. 761] и обладающие разными функциями в адаптивной и врожденной иммунной защите организма [14, р. 555]. Лимфоциты играют важную роль в клеточном адаптивном иммунитете (Т-клетки) и гуморальном адаптивном иммунитете (В-клетки), так как они производят иммуноглобулины, специфически распознающие антигены. Напротив, гетерофилы – фагоцитирующие клетки врожденной иммунной системы, образующие первую линию иммунной защиты от бактериальных патогенов при воспалительных поражениях, распознают эволюционно консервативные молекулярные структуры микробов через мембранно-связующие рецепторы [15, р. 799].

Начнем с подотряда Cryptodira и обратимся к табл. 1. Сравнительный анализ лейкограмм представителей двух родов из семейства Emydidae – горбчатых *Graptemys* (*G. pseudogeographica*, *G. nigrinoda*) и коробчатых *Terrapene* (*T. triunguis*, *T. ornata*) черепах – показал пониженное содержание гетерофилов и повышенное базофилов в крови горбчатых по сравнению с коробчатыми черепахами. Повышенное значение *ИСГЛ* у видов рода *Terrapene* показывает активацию врожденного иммунитета и готовность организма справиться с инфекцией через гетерофилы, но не за счет лимфоцитов. Лейкоцитарный профиль *S. mouhotii* – представителя семейства Geoemydidae – отличался от лейкоцитарного профиля представителей горбчатых и коробчатых черепах низким содержанием лимфоцитов и значительным повышением гетерофилов, что иллюстрирует более высокую активацию врожденных иммунных реакций.

Сравнение адаптивных реакций системы крови семейства Иловые черепахи Kinosternidae провели на представителях трех родов: замыкающиеся черепахи *Kinosternon*, Мускусные черепахи *Sternotherus* и Крестогрудые черепахи *Staurotypus*. Лейкоцитарный профиль замыкающихся черепах отличался от мускусных и крестогрудых черепах повышенным содержанием базофилов. Снижение неспецифической защитной системы крови мускусных черепах (содержание гранулоцитов) компенсировалось повышением специфической реакции иммунной системы (содержа-

ние лимфоцитов), что отражало адаптивный ответ и, по всей видимости, обеспечивало устойчивое функционирование организма. Различия по интегральным лейкоцитарным индексам внутри семейства выражены слабо и затрагивали только два показателя: индекс сдвига лейкоцитов – *ИСЛ*, значение которого было выше у замыкающихся черепах по сравнению с мускусными, и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс – *ИЛГ*, значение которого ниже (табл. 2).

Инфраотряд Мягкотелые черепахи Trionychia, представленный видами *Pelodiscus* sp., *Trionyx* sp. и *Apalone ferox* (семейство Trionychidae), отличался по лейкоцитарному составу крови от инфраотряда Твердопанцирные черепахи Durocryptodira (семейства Emydidae, Geoemydidae и Kinosternidae) повышенным количеством гетерофилов и моноцитов, а также пониженным содержанием эозинофилов. Лейкоцитарные интегральные индексы *ИСЛЭ*, *ИСГЭ* и *ИСГЛ* мягкотелых черепах были выше аналогичных показателей твердопанцирных черепах, что иллюстрировало возрастание неспецифической реактивности организма в унифицированных условиях зоопарка (табл. 3).

Перейдем к подотряду Pleurodira. Представляющие семейство Chelidae два вида – *Chelodina siebenrocki* и *Eseya novaeguineae* – значительно различались между собой по лейкоцитарному профилю крови (табл. 4). Соотношение индексов *ИСЛ*, *ИЛГ* и *ИСГЛ* свидетельствовало о возрастании неспецифической реактивности организма и физиологического стресса у *E. novaeguineae* в условиях зоопарка.

Сравнительный анализ усредненных показателей белой крови видов подотрядов Скрытошейные черепахи Cryptodira и Бокошейные черепахи Pleurodira выявил повышенное содержание лимфоцитов, агранулоцитов и, соответственно, значимое возрастание *ИЛГ* и снижение *ИСЛ* в крови Pleurodira (табл. 5).

Ранговым коэффициентом корреляции Спирмена (ρ) установлены взаимосвязи изменения лейкоцитарных показателей крови с размерами черепах. Выявлены: положительные значимые корреляции – с содержанием гетерофилов и значениями лейкоцитарных индексов (*ИСЛЭ*, *ИСГЭ*, *ИСГЛ*); отрицательные значимые корреляции – с содержанием эозинофилов в крови черепах (табл. 6), что отражает усиление роли неспецифической резистентности организма черепах в ходе онтогенеза.

Иммунный ответ организма эволюционно связан с темпом и продолжительностью жизни, долгоживущие виды должны развивать более сильные и качественные иммунные реакции, приспосабливаясь к специфическому комплексу экологических факторов среды [16, р. 577]. Черепахи, имеющие дополнительно к лимфо-миелоидному комплексу (гомологичному лимфоидной системе позвоночных животных), надежный физический механизм защиты от хищников в виде прочного панциря, стареют медленнее и живут дольше, чем их незащищенные родственники [17, р. 1464].

Врожденная и адаптивная иммунные системы позвоночных не являются независимыми друг от друга, между ними существуют сложные связи [18, р. 972], однако гетерофилы и лимфоциты традиционно классифицируются как первичные составляющие врожденной и адаптивной защиты, соответственно [19, р. 1010], и их соотношение используется в качестве

меры физиологического стресса в экофизиологических исследованиях [13, р. 768]. На уровне видов черепах выявлена высокая вариабельность показателя ИСГЛ, при этом минимальное значение данного индекса (0,07) отмечено у *S. odoratus* из семейства Kinosternidae, а максимальное (1,38) у *C. mouhotii* из семейства Geomydidae (рис. 3). Значительно повышенное значение ИСГЛ показывает активацию врожденного иммунитета *C. mouhotii* (Geomydidae) в условиях повышенного физиологического стресса. Сравнительный анализ ИСГЛ подтверждает наличие разных исходных уровней гетерофилов и лимфоцитов у разных видов черепах (табл. 7).

Значительные различия в соотношении гетерофилов и лимфоцитов в крови черепах выявлены и на уровне семейств. Так, у черепах семейств Emydidae,

Chelidae и Kinosternidae значение индекса ИСГЛ было ниже, чем черепах семейства Geomydidae (рис. 4).

По результатам лейкоцитарного профиля черепах проведен анализ методом главных компонент. Первая главная компонента (собственное значение 444,36) описывала приблизительно 72,82% общей дисперсии и значительно превосходила по информационной насыщенности другие компоненты. Вторая главная компонента (собственное значение 117,81) объясняла 19,31% дисперсии. Первая факторная ось обладала наиболее сильной положительной корреляцией с переменными: лимфоциты (0,96) и ИЛГ (0,91), отрицательной корреляцией – с переменными: гетерофилы (-0,93), ИСГЛ (-0,97) и ИСЛ (-0,95). Вторая главная компонента имела сильную положительную корреляцию с переменной базофилов (0,97) (рис. 5).

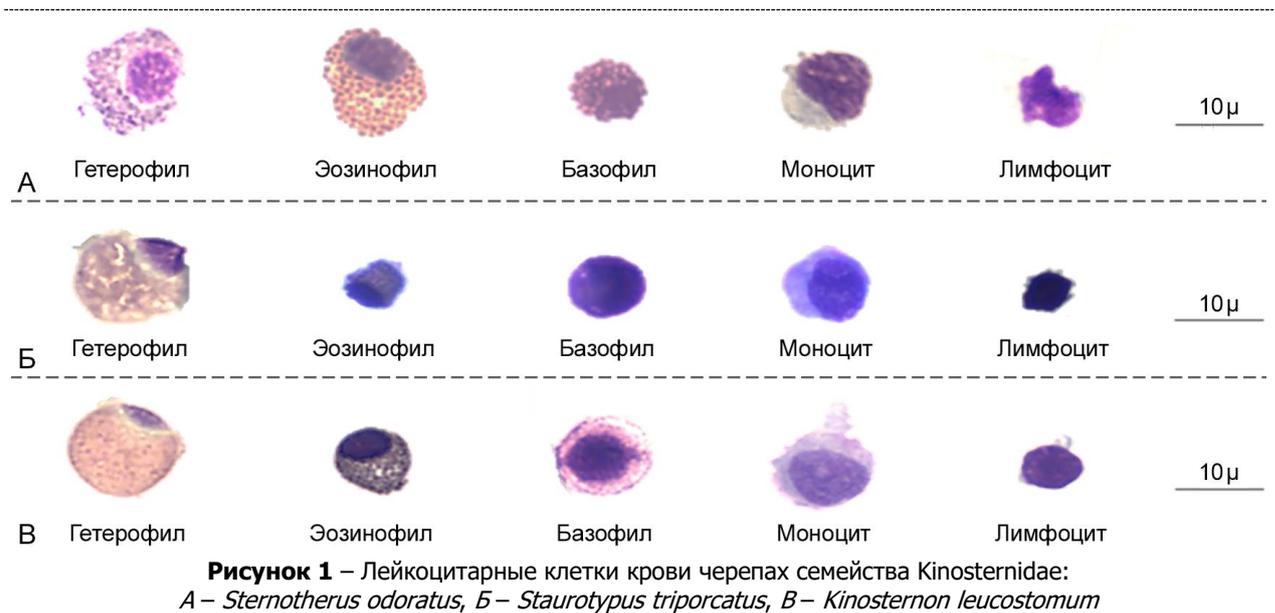


Таблица 1 – Лейкоцитарный состав периферической крови черепах семейств Emydidae и Geoemydidae

Показатель лейкограммы	Emydidae				3. Geoemydidae		Статистические показатели	
	1. Род <i>Graptemys</i>		2. Род <i>Terrapene</i>		<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>D, H</i>	<i>p</i>
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>				
Гетерофилы, %	8,00	2,50	19,50	5,00	48,5	9,50	<i>D</i>₁₋₂ = 2,66	0,02
Эозинофилы, %	6,00	9,00	14,50	24,00	5,00	3,00	<i>D</i>₁₋₃ = 3,84	0,0003
Базофилы, %	31,50	8,50	11,50	11,50	8,00	3,00	<i>H</i> = 1,08	0,60
Моноциты, %	4,00	1,00	2,00	4,50	1,00	0,50	<i>D</i>₁₋₂ = 2,97	0,008
Лимфоциты, %	49,50	6,00	50,00	6,00	36,50	11,00	<i>D</i>₂₋₃ = 3,07	0,006
Гранулоциты, %	47,00	6,50	48,00	10,50	62,50	10,50	<i>D</i>₁₋₃ = 2,58	0,02
Агранулоциты, %	53,00	6,50	52,00	10,50	37,50	10,50	<i>D</i>₁₋₂ = 2,39	0,04
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0,88	0,23	0,92	0,38	1,70	0,72	<i>D</i>₂₋₃ = 3,07	0,03
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	9,31	13,54	7,54	13,40	8,26	4,48	<i>D</i>₁₋₂ = 2,65	0,02
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	1,45	2,52	2,67	6,02	10,25	6,89	<i>D</i>₁₋₃ = 2,60	0,02
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	10,53	2,66	10,63	3,37	5,92	2,83	<i>D</i>₁₋₂ = 2,65	0,02
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0,16	0,06	0,37	0,09	1,38	0,65	<i>D</i>₁₋₃ = 2,60	0,02
							<i>D</i>₁₋₂ = 2,65	0,02
							<i>D</i>₁₋₃ = 2,60	0,02
							<i>D</i>₂₋₃ = 2,60	0,02
							<i>D</i>₁₋₂ = 2,65	0,02
							<i>D</i>₁₋₃ = 2,60	0,02
							<i>D</i>₁₋₂ = 2,65	0,02
							<i>D</i>₁₋₃ = 2,60	0,02
							<i>D</i>₂₋₃ = 2,60	0,02
							<i>D</i>₁₋₂ = 2,53	0,03
							<i>D</i>₁₋₃ = 3,79	0,0004
							<i>D</i>₂₋₃ = 2,53	0,03

Примечание. *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *D* – критерий Данна; *H* – критерий Краскела–Уоллиса; *p* – уровень значимости; статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

Таблица 2 – Лейкоцитарный состав периферической крови черепах семейства Kinosternidae

Показатель лейкограммы	1. Род <i>Kinosternon</i>		2. Род <i>Sternotherus</i>		3. Род <i>Staurotypus</i>		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>D, H</i>	<i>p</i>
Гетерофилы, %	21,00	6,00	7,00	22,00	21,50	8,00	<i>H</i> = 1,35	0,50
Эозинофилы, %	18,50	7,00	21,00	20,00	26,00	3,00	<i>H</i> = 5,45	0,06
Базофилы, %	8,00	3,50	4,00	3,00	4,00	1,00	<i>D</i>₁₋₂ = 3,15	0,004
Моноциты, %	5,50	2,50	6,00	3,00	2,00	2,50	<i>D</i>₁₋₃ = 2,73	0,01
Лимфоциты, %	47,00	12,00	57,00	6,00	44,00	7,50	<i>H</i> = 3,71	0,15
Гранулоциты, %	48,50	16,00	38,00	3,00	51,50	10,00	<i>D</i>₁₋₂ = 3,20	0,004
Агранулоциты, %	51,50	16,00	62,00	3,00	48,50	10,00	<i>D</i>₁₋₂ = 2,93	0,01
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0,95	0,63	0,61	0,07	1,06	0,44	<i>D</i>₁₋₂ = 2,93	0,01
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	2,56	1,90	3,00	4,75	1,76	0,45	<i>H</i> = 5,72	0,05
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	1,35	0,33	0,25	3,32	0,82	0,21	<i>H</i> = 4,27	0,11
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	9,70	5,55	14,73	2,71	8,56	3,13	<i>D</i>₁₋₂ = 3,12	0,005
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0,43	0,25	0,12	0,42	0,48	0,25	<i>H</i> = 4,01	0,13

Примечание. *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *D* – критерий Данна; *H* – критерий Краскела–Уоллиса; *p* – уровень значимости; статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

Таблица 3 – Лейкоцитарный состав периферической крови черепах инфраотрядов Trionychia и Durocryptodira

Показатель лейкограммы	Trionychia		Durocryptodira		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>u</i>	<i>p</i>
Гетерофилы, %	29,50	10,50	19,00	14,00	2,74	0,006
Эозинофилы, %	7,50	5,50	13,00	19,00	2,51	0,011
Базофилы, %	7,00	11,50	8,00	11,00	1,18	0,237
Моноциты, %	11,00	15,50	4,00	4,00	2,44	0,014
Лимфоциты, %	45,50	10,50	49,00	11,00	1,02	0,303
Гранулоциты, %	41,00	19,50	47,00	15,00	1,14	0,253
Агранулоциты, %	59,00	19,50	53,00	15,00	1,14	0,253
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0,69	0,65	0,88	0,55	1,14	0,253
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	6,77	6,82	3,57	7,50	2,39	0,016
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	3,62	4,83	1,33	3,24	2,94	0,003
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	10,65	6,04	10,20	4,56	0,40	0,683
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0,67	0,36	0,38	0,30	2,44	0,014

Примечание. *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *u* – критерий Манна–Уитни; *p* – уровень значимости; статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

Таблица 4 – Лейкоцитарный состав периферической крови черепах семейства Chelidae

Показатель лейкограммы	<i>Chelodina siebenrocki</i>		<i>Elseya novaeguineae</i>		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>u</i>	<i>p</i>
Гетерофилы, %	12,000	0,750	24,000	4,750	2,16	0,03
Эозинофилы, %	14,000	2,000	12,500	2,000	0,14	0,88
Базофилы, %	4,500	2,250	8,000	1,750	1,15	0,24
Моноциты, %	10,500	1,750	2,500	1,250	2,16	0,03
Лимфоциты, %	61,000	1,750	52,500	8,250	1,87	0,06
Гранулоциты, %	30,000	3,000	44,000	9,000	2,16	0,03
Агранулоциты, %	70,000	3,000	56,000	9,000	2,16	0,03
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0,429	0,061	0,788	0,362	2,16	0,03
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	4,212	1,450	4,212	1,227	0,43	0,68
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0,929	0,300	2,007	0,214	2,16	0,03
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	20,356	2,591	11,972	3,721	2,16	0,03
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0,197	0,019	0,449	0,215	2,16	0,03

Примечание. *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *u* – критерий Манна–Уитни; *p* – уровень значимости; статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

Таблица 5 – Лейкоцитарный состав периферической крови черепах подотрядов Cryptodira и Pleurodira

Показатель лейкограммы	Cryptodira		Pleurodira		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>u</i>	<i>p</i>
Гетерофилы, %	20,00	16,00	18,00	12,00	0,48	0,627
Эозинофилы, %	10,00	17,00	13,50	3,00	0,59	0,549
Базофилы, %	8,00	13,00	6,50	4,00	1,12	0,260
Моноциты, %	4,00	5,00	6,00	8,00	0,69	0,489
Лимфоциты, %	48,00	11,00	57,00	8,50	2,58	0,009
Гранулоциты, %	47,00	15,00	36,00	14,00	2,08	0,037
Агранулоциты, %	53,00	15,00	64,00	14,00	2,08	0,037
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0,88	0,55	0,56	0,35	2,08	0,037
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	4,33	7,42	4,21	1,00	0,05	0,958
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	1,71	3,63	1,70	1,07	0,72	0,469
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	10,20	5,25	15,89	8,38	2,38	0,017
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0,43	0,36	0,32	0,25	0,90	0,363

Примечание. *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *u* – критерий Манна–Уитни; *p* – уровень значимости; статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

Таблица 6 – Корреляционная взаимосвязь длины карапакса с показателями лейкоцитарного профиля черепах

Показатель лейкограммы	ρ	<i>p</i>
Гетерофилы, %	0,41	0,002
Эозинофилы, %	–0,39	0,003
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	0,36	0,005
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0,49	0,0001
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0,37	0,005

Примечание. ρ – ранговый коэффициент корреляции Спирмена; *p* – уровень значимости; в таблице приведены только значимые различия.

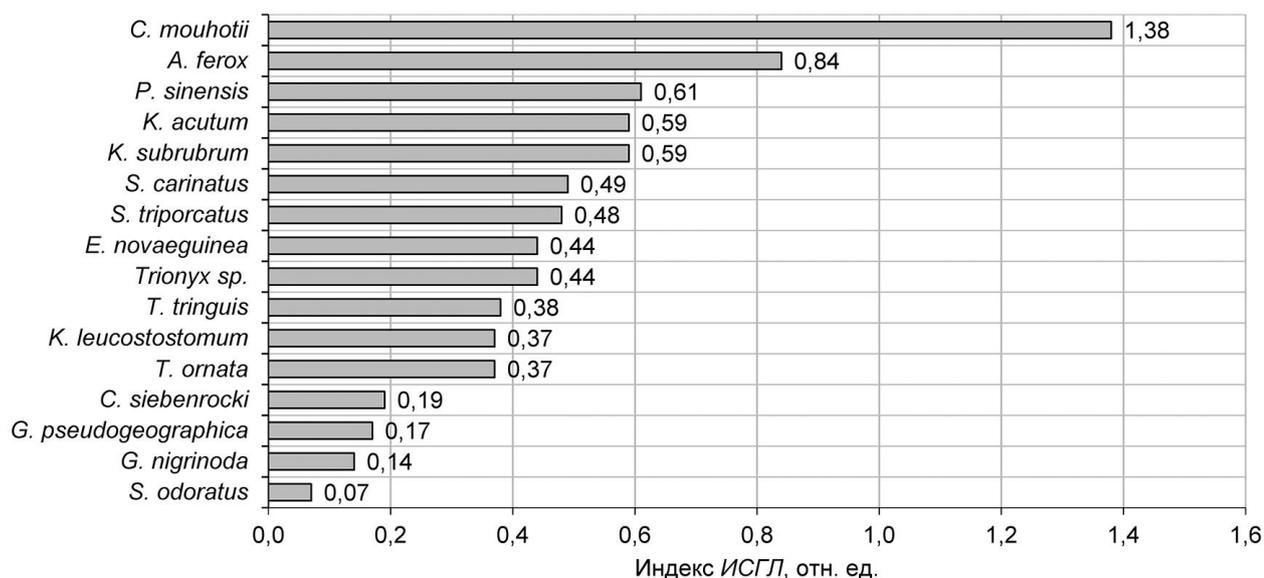


Рисунок 3 – Распределение видов черепах в порядке возрастания значений индекса ИСЛГ

Таблица 7 – Сравнительный анализ показателя ИСЛГ черепах

Сравниваемые пары видов		<i>D</i>	<i>p</i> *
<i>Graptemys pseudogeographica</i>	<i>Cuora mouhotii</i>	3,84	0,010
<i>Graptemys nigrinoda</i>	<i>Cuora mouhotii</i>	4,04	0,006
<i>Graptemys nigrinoda</i>	<i>Apalone ferox</i>	3,69	0,020
<i>Cuora mouhotii</i>	<i>Sternotherus odoratus</i>	4,50	0,0008
<i>Cuora mouhotii</i>	<i>Chelodina siebenrocki</i>	3,73	0,027
<i>Sternotherus odoratus</i>	<i>Apalone ferox</i>	4,15	0,003

Примечание. *D* – критерий Данна; *p** – уровень значимости с учетом поправки Бонферрони; в таблице приведены только значимые различия.

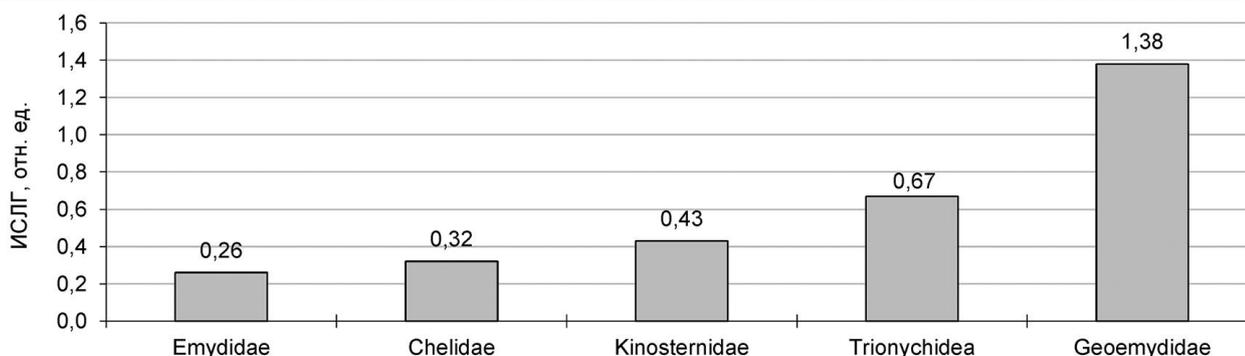


Рисунок 4 – Усредненные значения соотношения гетерофилов и лимфоцитов семейств черепах.

Значимые различия: Emydidae – Trionychidae ($D = 3,56$; $p = 0,003$);
 Emydidae – Geoemydidae ($D = 4,07$; $p = 0,0004$); Chelidae – Geoemydidae ($D = 3,09$; $p = 0,02$);
 Kinosternidae – Geoemydidae ($D = 3,00$; $p = 0,02$)

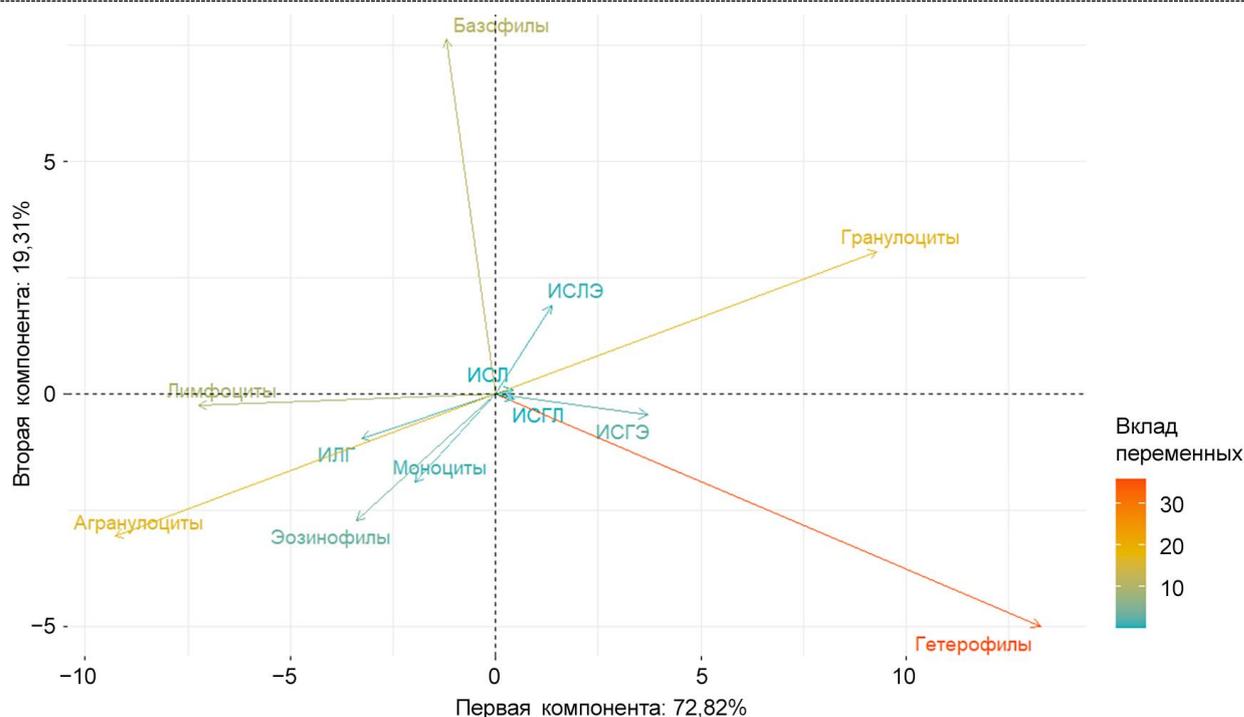


Рисунок 5 – График факторных координат, построенный на основе лейкоцитарного профиля черепах

Черепахи изученных семейств по усредненным показателям лейкоцитарного профиля крови оказались разбросанными по факторному пространству выделенных главных компонент (рис. 6). По первой компоненте представители семейств были близки друг к другу, за исключением семейства *Geoemydidae*, располагающегося в четвертом квадранте удаленно от остальных семейств черепах, что обуславливалось относительно высоким содержанием в крови гетерофильных лейкоцитарных клеток. В то же время семейства *Chelidae*, *Kinosternidae* и *Trionychidae*, занимающие третий квадрант, по совокупности лейкоцитарных показателей были ближе между собой по второй главной компоненте, которая, как уже отмечалось, дает объяснение втрое меньшей дисперсии (19,31%), чем первая главная компонента. Показатели интегральных лейкоцитарных индексов, конкретизирующие точки приложения факторов на разных уровнях иммунного ответа, выявили сходные эколого-физиологические механизмы адаптации видов черепах трех семейств за счет относительно невысокой изменчивости параметров адаптивного и врожденного иммунитета. Удаленно от них, во втором квадранте, располагались черепахи семейства *Emydidae*, в лейкоцитарном профиле которых значительную долю составляли базофилы, обладающие регуляторной, гомеостатической и защитной функций, благодаря выделению биологически активных веществ, накапливающихся в гранулах или синтезируемых при активации клетки.

Таким образом, различия по исследованным лейкоцитарным показателям между семействами *Emydidae* и *Geoemydidae* гораздо значительнее, чем между *Chelidae*, *Kinosternidae* и *Trionychidae*.

Возможность проведения анализа лейкоцитарных профилей в представленном филогенетическом контексте (16 видов черепах пяти семейств) выявляет

разные исходные уровни гетерофилов и лимфоцитов, позволяя рассматривать соотношение гетерофилов и лимфоцитов как важный экофизиологический показатель адаптации организма черепах к унифицированным условиям террариумного содержания. Установленная положительная корреляция количества гетерофилов с размерами тела черепах показывает, что виды больше полагаются на неспецифическую и воспалительную иммунную защиту, которая сильнее выражена у представителей семейства *Geoemydidae*, испытывающих, по-видимому, в условиях зоопарка больший стресс по сравнению с представителями других семейств.

Выводы

1. Сравнение лейкограмм черепах двух родов – *Graptemys* и *Terrapene* семейства *Emydidae* – выявило пониженную долю гетерофилов и повышенную базофилов у первых (*G. pseudogeographica*, *G. nigrinoda*) по сравнению со вторыми (*T. triunguis*, *T. ornata*).

2. В лейкоцитарном профиле *Cuora mouhotii* (*Geoemydidae*) выявлено высокое содержание гетерофилов, показывающее высокую активацию врожденных иммунных реакций.

3. Более близкими по лейкоцитарному составу крови оказались виды черепах семейства *Kinosternidae*, принадлежащие трем родам – *Kinosternon* (*K. subrubrum*, *K. leucostomum*, *K. acutum*), *Sternotherus* (*S. carinatus*, *S. odoratus*) и *Staurotypus* (*S. triporcatus*), отличающиеся относительно небольшой изменчивостью интегральных лейкоцитарных индексов.

4. По лейкоцитарному составу крови инфраотряд *Trionychia*, представленный видами *Pelodiscus* sp., *Trionyx* sp. и *Apalone ferox* (*Trionychidae*), отличался от инфраотряда *Durocryptodira* (*Emydidae*, *Geoemydidae* и *Kinosternidae*) повышенным количеством гетерофилов и моноцитов, невысоким содержанием эозинофилов.

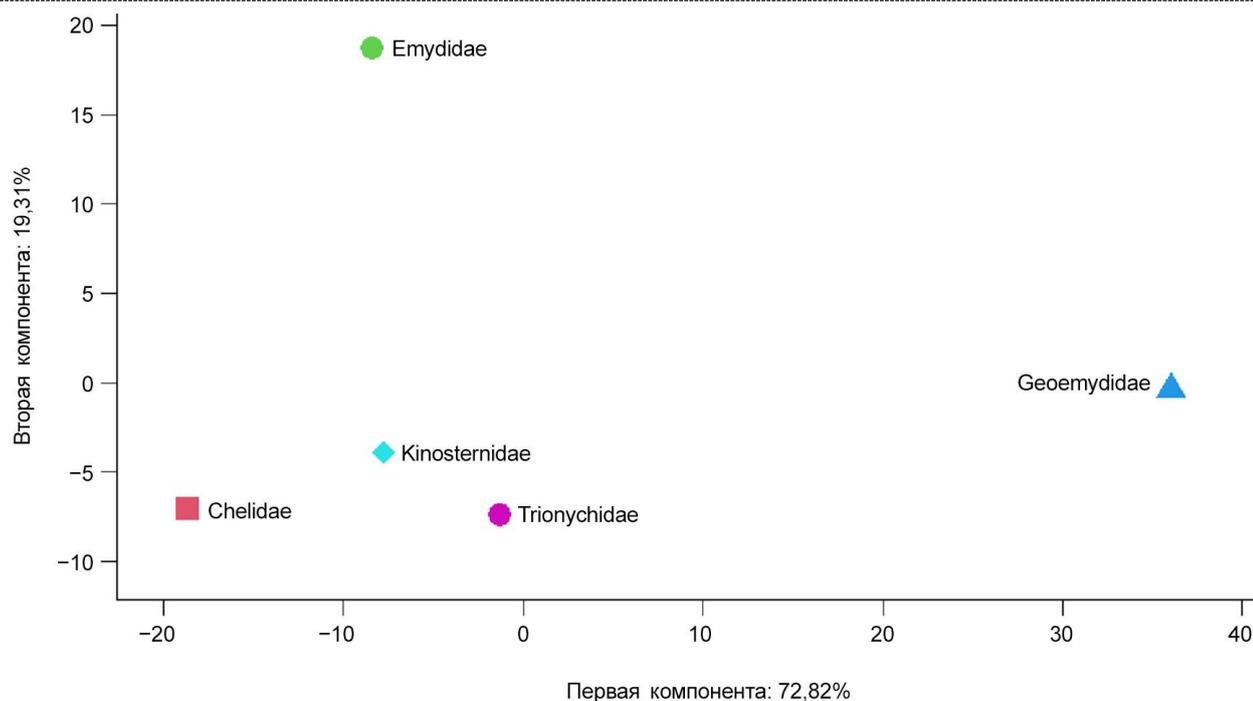


Рисунок 6 – Ординационная диаграмма в пространстве главных компонент, построенная по лейкоцитарному профилю черепах

5. У представителей подотряда Pleurodira (Chelidae) отмечено повышенное содержание агранулоцитов, в том числе лимфоцитов, по сравнению с видами подотряда Cryptodira (Emydidae, Geoemydidae, Kinosternidae, Trionychidae).

6. Выявлена взаимосвязь изменения показателей лейкоцитарного профиля показателей (гетерофилов, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИСГЛ) крови от размеров тела черепах, показывающая усиление роли неспецифической резистентности организма в ходе онтогенеза.

7. Отмечена высокая вариабельность соотношения гетерофилов и лимфоцитов как показателя физиологического стресса разных видов черепах: минимальное значение индекса зарегистрировано у *Sternotherus odoratus* (Kinosternidae), а максимальное – у *Cuora mouhotii* (Geoemydidae).

Благодарности

Авторы выражают признательность сотрудникам Самарского зоопарка А.М. Балтушко, Н.А. Березину, Д.А. Казандаеву, А.Е. Кузовенко и А.А. Маряшину за организацию условий для забора крови у рептилий.

Список литературы:

1. Krenz J.G., Naylor G.J.P., Shaffer H.B., Janzen F.J. Molecular phylogenetics and evolution of turtles // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2005. Vol. 37, iss. 1. P. 178–191. DOI: 10.1016/j.ympev.2005.04.027.
2. Barley A.J., Spinks P.Q., Thomson R.C., Shaffer H.B. Fourteen nuclear genes provide phylogenetic resolution for difficult nodes in the turtle tree of life // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2010. Vol. 55, iss. 3. P. 1189–1194. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.11.005.
3. Crawford N.G., Parham J.F., Sellas A.B., Faircloth B.C., Glenn T.C., Papenfuss T.J., Henderson J.B., Hansen M.H., Simison W.B. A phylogenomic analysis of turtles // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2015. Vol. 83. P. 250–257. DOI: 10.1016/j.ympev.2014.10.021.
4. Shaffer H.B., McCartney-Melstad E., Near T.J., Mount G.G., Spinks P.Q. Phylogenomic analyses of 539 highly

informative loci dates a fully resolved time tree for the major clades of living turtles (Testudines) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2017. Vol. 115. P. 7–15. DOI: 10.1016/j.ympev.2017.07.006.

5. Lyson T.R., Bever G.S. Origin and evolution of the turtle body plan // *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2020. Vol. 51. P. 143–166. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-110218-024746.

6. Черепахи // *Биологический энциклопедический словарь*. М.: Советская энциклопедия, 1986. С. 713–714.

7. The Reptile Database / eds. P. Uetz, P. Freed, R. Aguilar, F. Reyes, J. Kudera, J. Hošek. 2024 [Internet]. <http://www.reptile-database.org>.

8. Agha M., Ennen J.R., Bower D.S., Nowakowski A.J., Sweat S.C., Todd B.D. Salinity tolerances and use of saline environments by freshwater turtles: Implications of sea level rise // *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 2018. Vol. 93. P. 1634–1648. DOI: 10.1111/brv.12410.

9. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. 2012 [Internet]. https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf.

10. Alleman A.R., Jacobson E.R., Raskin R.E. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) // *American Journal of Veterinary Research*. 1992. Vol. 53, iss. 9. P. 1645–1651.

11. Соколина Ф.М., Павлов А.В., Юсупов Р.Х. Гематология пресмыкающихся: метод. пособие по курсу герпетология, большому практикуму и спецсеминарам. Казань: Казанский государственный университет, 1997. 31 с.

12. Хайрутдинов И.З., Соколина Ф.М. Характеристика крови рептилий и ее связь с условиями обитания: учеб.-метод. пособие к курсу «Герпетология». Казань: Казанский университет, 2010. 44 с.

13. Davis A.K., Maney D.L., Maerz J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists // *Functional Ecology*. 2008. Vol. 22, iss. 5. P. 760–772. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x.

14. Minias P. Evolution of heterophil/lymphocyte ratios in response to ecological and life-history traits: A compara-

tive analysis across the avian tree of life // *Journal of Animal Ecology*. 2019. Vol. 88, iss. 4. P. 554–565. DOI: 10.1111/1365-2656.12941.

15. Kogut M.H., Iqbal M., He H., Philbin V., Kaiser P., Smith A. Expression and function of Toll-like receptors in chicken heterophils // *Developmental & Comparative Immunology*. 2005. Vol. 29, iss. 9. P. 791–807. DOI: 10.1016/j.dci.2005.02.002.

16. Hasselquist D. Comparative immunoeology in birds: hypotheses and tests // *Journal of Ornithology*. 2007. Vol. 148. P. 571–582. DOI: 10.1007/s10336-007-0201-x.

17. Reinke B.A., Cayuela H., Janzen F.J. et al. Diverse aging rates in ectothermic tetrapods provide insights for the evolution of aging and longevity // *Science*. 2022. Vol. 376, iss. 6600. P. 1459–1466. DOI: 10.1126/science.abm0151.

18. Hoebe K., Janssen E., Beutler B. The interface between innate and adaptive immunity // *Nature Immunology*. 2004. Vol. 5. P. 971–974. DOI: 10.1038/ni1004-971.

19. Lee K.A. Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species // *Integrative and Comparative Biology*. 2006. Vol. 46, iss. 6. P. 1000–1015. DOI: 10.1093/icb/icl049.

Информация об авторе(-ах):	Information about the author(-s):
<p>Романова Елена Борисовна, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии; Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (г. Нижний Новгород, Российская Федерация). E-mail: romanova@ibbm.unn.ru.</p> <p>Столярова Ирина Александровна, магистрант кафедры экологии; Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (г. Нижний Новгород, Российская Федерация). E-mail: irinaisto75@gmail.com.</p> <p>Бакиев Андрей Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоразнообразия; Институт экологии Волжского бассейна РАН – филиал Самарского федерального исследовательского центра РАН (г. Тольятти, Самарская область, Российская Федерация). E-mail: herpetology@list.ru.</p> <p>Горелов Роман Андреевич, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биоразнообразия; Институт экологии Волжского бассейна РАН – филиал Самарского федерального исследовательского центра РАН (г. Тольятти, Самарская область, Российская Федерация). E-mail: gorelov.roman@mail.ru.</p>	<p>Romanova Elena Borisovna, doctor of biological sciences, professor of Ecology Department; National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (Nizhny Novgorod, Russian Federation). E-mail: romanova@ibbm.unn.ru.</p> <p>Stolyarova Irina Aleksandrovna, master student of Ecology Department; National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (Nizhny Novgorod, Russian Federation). E-mail: irinaisto75@gmail.com.</p> <p>Bakiev Andrey Gennadievich, candidate of biological sciences, senior researcher of Biodiversity Laboratory; Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences – Branch of the Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (Togliatti, Samara Region, Russian Federation). E-mail: herpetology@list.ru.</p> <p>Gorelov Roman Andreevich, candidate of biological sciences, junior researcher of Biodiversity Laboratory; Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences – Branch of the Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (Togliatti, Samara Region, Russian Federation). E-mail: gorelov.roman@mail.ru.</p>

Для цитирования:

Романова Е.Б., Столярова И.А., Бакиев А.Г., Горелов Р.А. Сравнительные данные о лейкоцитарном составе крови черепах с полуводным образом жизни из Самарского зоопарка // Самарский научный вестник. 2024. Т. 13, № 1. С. 44–53. DOI: 10.55355/snv2024131106.