

СОЛОМАЙКИН ЕВГЕНИЙ ИГОРЕВИЧ

**ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДАПТИВНЫХ
РЕАКЦИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ЗМЕЙ К УСЛОВИЯМ ЕСТЕСТВЕННЫХ
БИОТОПОВ И СЕРПЕНТАРИЯ**

1.5.15. Экология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород

2022

Работа выполнена на кафедре экологии Института биологии и биомедицины (ИББМ) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» (ННГУ).

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент, профессор
кафедры экологии Института биологии и
биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный
исследовательский Нижегородский
государственный университет им.
Н. И. Лобачевского»
Романова Елена Борисовна

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой биоразнообразия и
биоэкологии ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого
Президента России Б. Н. Ельцина»
(г. Екатеринбург)
Вершинин Владимир Леонидович

доктор биологических наук, доцент, директор ФГБУ
«Объединенная дирекция Мордовского
государственного природного заповедника имени
П. Г. Смидовича и национального парка
«Смольный» (г. Саранск)
Ручин Александр Борисович

Ведущая организация:

Саратовский филиал Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Института проблем экологии и эволюции им.
А. Н. Северцова Российской академии наук
(СФ ИПЭЭ РАН) (г. Саратов)

Защита диссертации состоится “_____” октября 2022 г. в _____ на заседании диссертационного совета 24.2.340.05 при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина 23, Институт биологии и биомедицины

E-mail: dis212.166.12@gmail.com

факс: (831) 462-30-85

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского по адресу: <https://diss.unn.ru/files/2022/1258/diss-Solomaykin-1258.pdf>

с авторефератом – в сети Интернет на сайте ВАК России по адресу: <http://vak.minobrnauki.gov.ru>

Автореферат разослан «_____» _____ 2022 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Д. Е. Гаврилко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Изучение закономерностей влияния экологических факторов на организмы и разработка теории формирования адаптации организмов на основе комплексных исследований экофизиологии не вызывают сомнений и являются одной из важнейших проблем экологии. В адаптации к комплексу факторов среды обитания непосредственным образом участвует система крови как одна из ключевых гомеостатических структур, играющая решающую роль в формировании адаптивных реакций, т.е. приспособлений организма к постоянно изменяющимся условиям среды. Лейкоцитарный профиль крови как надежный «инструмент», отражающий направленность и выраженность адаптивных реакций, успешно применяется в клинической и ветеринарной практике (Меньшиков и др., 1987; Лебедев, Понякина, 1990; Гаркави и др., 1998), а в последнее время нашел использование и в экологических исследованиях (Вершинин, 2004, 2018; Пескова, 2004, 2005; Davis et al., 2008). В настоящее время относительно хорошо изучены адаптивные стратегии млекопитающих, гораздо менее изучены в этом направлении другие позвоночные, в том числе змеи. Вместе с птицами и млекопитающими рептилии формируют группу амниот – первично-наземных позвоночных, не подвергающихся метаморфозу, с развитыми лимфоидными органами и тканями, что позволяет животным совершенствовать механизмы иммунной защиты и противостоять ксенобиотикам (Галактионов, 2004; Вершинин, 2016; Cooper, 1985; Eliman, 1997; Coico et al., 2003; Metin et al., 2006; Arican, Cicek, 2014). В процессе адаптации к среде обитания в разные сроки онтогенеза у змей изменяются показатели клеточной и гуморальной защиты, что отражается на морфологическом составе крови (Хамидов и др., 1978; Daszak, 2000; Coico et al., 2003; Kobolkuti, 2012). Вследствие этого особенно актуален поиск популяционных маркеров (интегральных лейкоцитарных индексов), позволяющих не только оценить физиологическое состояние организма, его адаптивный потенциал, но и получить характеристики популяционного гомеостаза, обеспечивающего выживание и существование змей как в условиях естественной среды, так и искусственного содержания (Хамидов, 1978; Соколина и др., 1997; Павлов, 1998; Дробот, 2005; Burger et al., 2005).

Возрастает интерес и к изучению систематически близких видов животных, обитающих синтопично, что связано со специфичностью межвидовых отношений (Segurado, Araujo, 2008), трофических связей и репродуктивного поведения (Jablonski et al., 2017; Hart et al., 2018), межвидовой гибридизацией (Asztalos et al., 2021). Синтопия заставляет виды приспосабливаться к комплексу специфических экологических условий, используя набор универсальных эффекторных клеток, взаимовлияние которых поддерживает гомеостаз организма. Тем не менее, изучение особенностей системы крови синтопических видов, в том числе уховых змей, не проводилось. В настоящее время большинство мест обитания змей находится в условиях повышенной антропогенной нагрузки, что ведет к сокращению численности вида и требует специальных мер их охраны (Бакиев и др., 2004, 2015; Табачишина и др., 2005; Котенко, Курячий, 2009). Несмотря на обилие литературных данных по экологии и особенностям жизненного цикла змей Волго-Уральского региона и Северного Прикаспия (Табачишин, Табачишина, 2002; Ручин, Рыжов, 2003, 2006; Табачишина, Табачишин, Завьялов, 2003; Ручин и др., 2005; Чугуевская, 2005; Шляхтин, Табачишин, Завьялов, 2005; Табачишин и др., 2007; Бакиев и др., 2009; Завьялов и др., 2009; Bakiev et al., 2011; Litvinov et al., 2011; Гордеев, 2012; Помазенко, Табачишин, 2014; Кленина, Бакиев, 2015; Кленина и др., 2015; Шляхтин, Табачишин, Ермохин, 2016), исследований по изучению системы крови змей при различных воздействиях недостаточно. Между тем, актуальность таких работ заключается в выявлении специфики иммунного реагирования разных видов рептилий в естественной среде, когда темпы антропогенных и климатических изменений требуют постоянной мобилизации адаптационных резервов организма. Эколого-физиологический подход к исследованию ядовитых животных органично интегрирует в себе специфику биологии и продуцируемых ядов, как химических веществ, участвующих в межвидовых (аллелохимических) взаимодействиях (Гелашвили и др., 2015). Логично полагать, что адаптивные стратегии ядовитых и неядовитых змей к постоянно изменяющимся условиям естественных биотопов и в неволе будут различаться.

В этой связи, актуальность и дальнейшие перспективы изучения адаптивных реакций системы крови организма змей не вызывают сомнений и необходимы как для теории, так и для решения практических природоохранных вопросов в области экофизиологии отдельных видов. В частности, мы считаем целесообразным исследовать модулирующее воздействие комплекса биотических и абиотических факторов среды на иммунные реакции рептилий в трех базовых моделях: токсинологической, пространственной и средового стресса.

С учетом вышеизложенного **целью работы** является сравнительный анализ направленности адаптивных реакций ядовитых (гадюковых рода *Vipera*) и неядовитых (ужовых сем. Colubridae) змей в разных биотопических условиях ареала и средового стресса в серпентарии, оцениваемых по показателям лейкоцитарного профиля крови особей.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Установить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови ядовитых змей рода *Vipera* из природных популяций (гадюка обыкновенная, гадюка восточная степная) Волжского бассейна.

2. Оценить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови неядовитых змей сем. Colubridae из природных популяций (уж водяной, уж обыкновенный, полоз узорчатый) Волго–Уральского бассейна и Прикаспия.

3. Провести сравнительный анализ адаптивных реакций и лейкоцитарных показателей крови ужей водяного и обыкновенного Северного Прикаспия в условиях синтопического обитания.

4. Определить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови сеголетков ядовитых змей рода *Vipera* (гадюка обыкновенная, гадюка Никольского), родившихся в неволе.

5. Оценить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови неядовитых змей сем. Colubridae, родившихся в неволе.

Научная новизна и теоретическая значимость исследования. В работе на трех базовых моделях (токсинологической, пространственной, средового стресса) впервые проведена сравнительная экофизиологическая оценка состояния иммунной системы ядовитых змей рода *Vipera* и неядовитых змей родов *Natrix* и *Elaphe*, обитающих в естественных условиях и в неволе, включающая определение лейкоцитарной формулы крови с расчетом связанных с ней лейкоцитарных индексов (сдвига лейкоцитов, соотношения лимфоцитов/эозинофилов, гетерофилов/эозинофилов, гетерофилов/лимфоцитов и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс). Впервые показаны адаптивные модификации иммунного гомеостаза сеголетков змей, заключающиеся в разнонаправленных изменениях количественного содержания гетерофильных гранулоцитов: повышении их доли в крови неядовитых уховых змей и снижении – в крови ядовитых гадюковых змей, содержащихся в условиях неволи. Выявлена онтогенетическая специфика адаптивных реакций организма неядовитых уховых змей, заключающаяся в смещение лейкоцитарного профиля крови у сеголетков в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых самцов и самок имеет место выраженный сдвиг в сторону повышения содержания лимфоцитов, определяющаяся спецификой абиотических условий разных локалитетов. Впервые показана общность экофизиологических реакций гидрофильных видов ужей (обыкновенного и водяного) в условиях синтопического обитания: межвидовые различия затрагивают моноклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявляются в повышенном содержании азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с ужом водяным.

Предложенные в работе популяционные маркеры (интегральные лейкоцитарные индексы) информативны и позволяют оценить адаптивный потенциал организма на разных уровнях иммунного ответа у половозрелых особей и сеголетков.

Практическая значимость работы. В работе получил дальнейшее развитие комплексный подход к аутоэкологической оценке иммунного статуса природных популяций герпетофауны (в пределах класса пресмыкающихся на трех базовых моделях: токсинологической, пространственной и средового стресса). Выявлено адаптивное значение

иммуногематологических показателей, проявляющееся в изменении соотношения гранулоцитарных и агранулоцитарных клеточных форм представителей ядовитых и неядовитых змей. Выявлены межполовые и межвидовые различия лейкоцитарного состава крови, связанные как с популяционно-генетическими особенностями, так и со спецификой среды обитания, накладывающей отпечаток на физиологическое состояние рептилий. Применение иммуногематологического подхода позволяет вплотную подойти к решению важнейших задач экофизиологии (факториальной экологии), связанных с выяснением механизмов адаптации живых организмов к антропогенно измененным условиям среды. Изменение динамики лейкоцитарных индексов позволяет выявить наличие патологических процессов при проведении мероприятий по сохранению и искусственному разведению редких и исчезающих видов рептилий.

Соответствие паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют шифру специальности 1.5.15. Экофизиология (факториальная экология).

Положения, выносимые на защиту:

1. Ответ системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) к комплексу факторов естественной среды обитания реализуется за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов, обеспечивающих сильные неспецифические (врожденные) и специфические адаптивные реакции.

2. У неядовитых уховых змей (сем. Colubridae) формирование общей адаптационной реакции обуславливается изменением баланса форменных элементов белой крови и определяется стадией онтогенеза змей: у сеголетков смещается в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых самцов и самок имеет выраженный сдвиг в сторону повышения содержания лимфоцитов.

3. В условиях синтопического обитания у гидрофильных видов ужей (обыкновенного и водяного) наблюдаются общие адаптивные реакции системы крови; при этом межвидовые различия затрагивают моноклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявляются в повышенном содержании азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с водяным ужом.

4. У сеголетков ядовитых и неядовитых змей, родившихся в серпентарии, неспецифические адаптивные реакции иммунной системы реализовались, в том числе, за счет разнонаправленных изменений в количественном содержании гетерофильных гранулоцитов: повышении их доли в крови неядовитых уховых змей и снижении – в крови ядовитых гадюковых змей.

Апробация результатов. Автор принимал личное участие в постановке задач исследования, сборе материала, проведении лабораторной и статистической обработки, а также обсуждении и теоретическом осмыслении полученных результатов. Доля личного участия автора в сборе материала, написании и подготовке публикаций составляет 60–95%.

Основные результаты работы были доложены и представлены на научно-практических конференциях: 19-й Международной Пущинской школе – конференции «Биология – наука XXI века» (Пущино, 20–24 апреля 2015 г.); 68-й областной научной конференции студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 28–29 апреля, 2015 г.); 69-й областной научной конференции студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 27–29 апреля, 2016 г.); 71-й Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 17–20 апреля 2018 г.), 22-й Международной Пущинской школе-конференции «Биология – наука XXI века» (Пущино, 23–27 апреля 2018 г.); 23-й сессии молодых ученых (Н. Новгород, 22–23 мая 2018 г.); 2-й международной конференции молодых ученых по биоразнообразию и экологическим проблемам сохранения дикой природы (Цахкадзор, Армения, 5–7 октября 2018 г.); 73-й Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 28–30 октября, 2020 г.); 74-й Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление»

(Н. Новгород, 20–23 апреля 2021 г.); 75-й Всероссийской с международным участием школьно-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 19–22 апреля 2022 г.).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 19 научных работ, из которых – 8, входящих в Перечень ВАК РФ и международные реферативные базы данных и системы цитирования, 10 – статей и тезисов в материалах международных, российских и региональных конференций; 1 – учебное пособие.

Структура и объём работы. Решение поставленных задач определило структуру диссертационной работы, состоящую из введения, 5 глав, заключения, выводов. Диссертация изложена на 170 страницах. Работа иллюстрирована 35 таблицами и 46 рисунками. Список использованной литературы включает 204 источника, в том числе 128 иностранных авторов.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность и благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Е.Б. Романовой за разработку темы исследования, поддержку и помощь, оказанную на всех этапах работы. Автор выражает большое уважение и сердечную благодарность: к.б.н., доценту А.Г. Бакиеву., к.б.н. Р.А. Горелову за помощь при сборе материала и ценные консультации. Автор признателен за внимание к работе и квалифицированные советы д.б.н., профессору Д.Б. Гелашвили, за консультации при математической обработке данных д.б.н. В.Н. Якимову. Автор выражает слова благодарности соавторам, коллегам, коллективу ИББМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского и Института экологии Волжского бассейна РАН за помощь и участие в выполнении работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. Обзор литературы. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОРГАНИЗАЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ РЕПТИЛИЙ

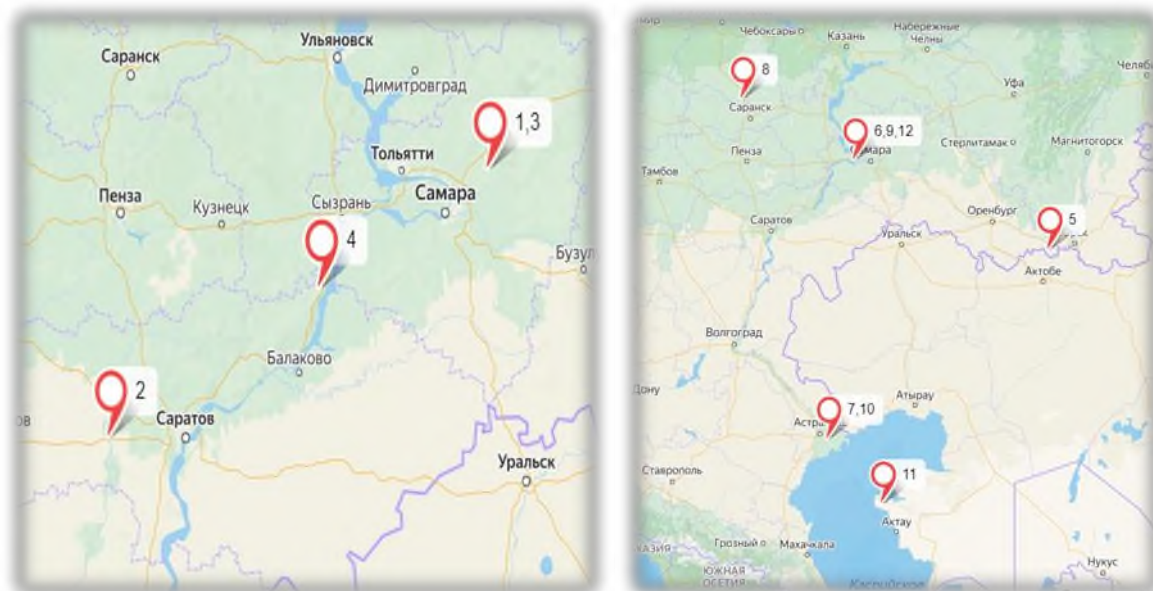
В обзоре литературы систематизированы эколого-физиологические аспекты формирования адаптивных механизмов иммунной защиты рептилий. Защита от ксенобиотиков обеспечивается неспецифическим (врождённым) и специфическим (адаптивным, приобретённым) иммунитетом. Мощная защита против инфекций представлена антимикробными пептидами: лизоцимами, дефензинами, системой комплемента, набором неспецифических лейкоцитов, формированием воспалительной реакции, набором цитокин-подобных компонентов. Механизмы адаптивного иммунитета реализуются действием клеточных и гуморальных факторов. Отличительной особенностью рептилий является ослабленная реакция отторжения чужеродного трансплантата. Показано, что направленность и механизмы адаптивных экофизиологических реакций системы крови определяются как онтогенетическими особенностями рептилий, так и путём поступления, величиной и длительностью воздействия антигенов, диапазоном внешних температур, сезонностью и др.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика районов и объектов исследования

Лабораторные и полевые исследования проводили в течение 2014–2020 гг. на территории Республики Мордовии, Самарской, Саратовской, Оренбургской и Астраханской областей Российской Федерации, Мангистауской области Республики Казахстан (рисунок 1).



А

Б

Рисунок 1. Места отлова ядовитых (А) и неядовитых (Б) змей

1 – *Vipera b. berus*, г. Самара, внутригородской Красноглинский район; 2 – *V. b. nikolskii*, Саратовская область, Лысогорский район; 3 – *V. renardi bashkirovi*, Самарская область, Сергиевский район; 4 – *V. r. renardi*; Саратовская область, Хвалынский район; 5 – *Elaphe dione*, Оренбургская область, Кувандыкский район; 6 – *E. dione*, Самарская область, Ставропольский район; 7 – *Natrix natrix*, Астраханская область, Красноярский и Харабалинский районы; 8 – *N. natrix*, Республика Мордовия, Темниковский район; 9 – *N. natrix*, Самарская область, Сызранский район; 10 – *N. tessellata*, Астраханская область, Красноярский и Харабалинский районы; 11 – *N. tessellata*, Казахстан, Мангистауская область, аул Кызылозен; 12 – *N. tessellata*, Самарская область, Сызранский район

Приведена краткая эколого-географическая характеристика местообитаний ядовитых и неядовитых змей с учетом природных зон, особенностей рельефа и климата, а также средняя температура и влажность воздуха в период отлова змей, согласно базы климатических данных (<https://www.meteonova.ru/klimat>) (таблица 1).

Таблица 1

Краткая эколого-географическая характеристика района исследования в месте отлова змей

№ на карте	Места отлова	Природная зона	Температура, °С	Влажность воздуха, %
1	Самарская область, г. Самара, внутригородской Красноглинский р-н	Лесостепная эколого-рекреационная зона. Умеренно- континентальный климат с холодной зимой и жарким, и влажным летом	21.2–24.3	57–60
2	Саратовская область, Лысогорский р-н	Лесостепная зона, южная часть правобережья Волги. Климат умеренно-континентальный, осадков выпадает около 450 мм/год	24.4	57
3	Самарская область, Сергиевский р-н	Лесостепи, с преобладанием в ландшафте элементов степи. Климат умеренно континентальный. Характерны холодная малоснежная зима, короткие весна и осень, жаркое сухое лето	26.1	61
4	Саратовская область, Хвалынский р-н	Лесостепная зоне, на правом берегу Волги. Рельеф района холмистый. Климат умеренно-континентальный. Характерны засушливость и большая изменчивость погоды	16.6–20.1	58-62

5	Оренбургская область, Кувандыкский р-н	Зона степи, климат резко континентальный, с большой амплитудой колебаний средних температур воздуха и недостаточной влажностью	24.7	48
6	Самарская область, Ставропольский р-н	Лесостепная зона. Умеренно-континентальный климат с холодной зимой, жарким, и влажным летом	22.6	63
7, 10	Астраханская область, Красноярский и Харабалинский р-ны	Зона полупустыни, территория в основном равнинная, безлесная, климат умеренно континентальный, засушливый, тёплый	27.3–28.6	39–40
8	Республика Мордовия, Темниковский р-н	Зона широколиственных лесов, умеренно континентальный влажный климат с тёплым летом	17	65
9, 12	Самарская область, Сызранский р-н	Лесостепная зона. Умеренно-континентальный климат с холодной зимой и влажным летом	22.6	63
11	Казахстан, Мангистауская область, Тупкараганский р-н, аул Кызылозен	Зона пустыни, резко континентальный климат с тёплым летом и очень холодной зимой	26	40

В работе использовано 532 экземпляра рептилий: ядовитых (136 особей, из них 58 самок, 41 самец, 37 сеголетков) и неядовитых (396 особей, из них 165 самок, 87 самцов, 144 сеголетков) змей. В том числе – рода *Vipera*: гадюка обыкновенная номинативного подвида *V. berus berus*, 75 особей: 36 самок, 26 самцов и 13 неполовозрелых особей; гадюка Никольского, лесостепной подвид гадюки обыкновенной *V. berus nikolskii* (Vedmederja, Grubant, Rudayeva, 1986), 28 особей: 4 самки и 24 неполовозрелых особи; гадюка восточная степная *V. renardi* (Cristoph, 1861), 29 особей: 14 самок и 15 самцов; гадюка Башкирова, гибридогенный таксон от *V. berus* и *V. renardi* – *V. r. bashkirovi* (Garanin, Pavlov, Bakiev, 2004), 4 особи; рода *Natrix*: уж водяной *N. tessellata* (Laurenti, 1768), 235 особей: 87 самок, 58 самцов, 90 сеголетков; уж обыкновенный *N. natrix* (Linnaeus, 1758), 96 особей: 70 самок, 19 самцов и 7 сеголетков. Рода *Elaphe*: узорчатый полоз *E. dione* (Pallas, 1773), 65 особей: 8 самок, 10 самцов и 47 сеголетков.

Все работы с животными проводились в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» (International Guiding..., 2012).

2.2. Метод определения лейкоцитарного состава крови рептилий

Для получения образцов крови животных обездвигивали путём захвата и делали пункцию верхнечелюстной вены иглой, смоченной в растворе гепарина, для взятия крови и приготовления мазков. Дифференцированный подсчёт лейкоцитов проводили с иммерсией ($\times 1500$) после фиксации и окрашивания мазков по Романовскому – Гимзе. С учетом морфологических особенностей определяли шесть типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (азурофилы, моноциты, лимфоциты) (Campbell, 2006; Хайрутдинов, Соколова, 2010). На основании лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы (отн. ед.): индекс сдвига лейкоцитов (*ИСЛ*); индекс соотношения лимфоцитов/эозинофилов (*ИСЛЭ*); индекс соотношения гетерофилов/эозинофилов (*ИСГЭ*); лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (*ИЛГ*); индекс соотношения гетерофилов /лимфоцитов (*ИСГЛ*).

Линейные размеры лейкоцитов измеряли с помощью окуляр-микрометра cross-line (0.1 mm) (микроскоп Meiji Techno с иммерсией, Япон). Площадь поверхности клеток S (в μm^2) рассчитывали по формуле эллипса: $S = \pi \cdot a \cdot b$, где $\pi = 3.14$; a – длина большой полуоси эллипса, μm ; b – длина меньшей полуоси эллипса, μm .

2.3. Статистический анализ экспериментальных данных

Критериями согласия оценивали нулевую гипотезу о соответствии анализируемых показателей нормальному распределению. Поскольку полученное значение p для данных

критериев оказалось меньше принятого критического уровня, то нуль-гипотеза была отклонена и принята альтернативная гипотеза – распределение показателей считать отличающимся от нормального. С учетом вида распределения центральные тенденции и рассеяние изученных показателей описывали медианой (Me) и межквартильным размахом (IQR , разность значений 75-го и 25-го перцентилей). Дальнейший анализ проводили методами непараметрической статистики с применением критериев: Краскела – Уоллиса (H) (при сравнении нескольких независимых групп по одному признаку); Данна (z) (множественный критерий при попарном сравнении групп), Манна – Уитни (u) при сравнении двух групп; Уилкоксона (w) (при анализе межгодовых различий), коэффициента ранговой корреляции Спирмена (ρ). Методами классификационного анализа (кластерный анализ, метод главных компонент) проводили группировку объектов исследования и визуализацию межгрупповых различий. За величину уровня статистической значимости принимали $\alpha=0.05$. При проведении множественных сравнений производилась коррекция критического уровня значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА 3. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ РОДА *VIPERA* ВОЛЖСКОГО БАССЕЙНА

3.1. Лейкоцитарный состав крови гадюки обыкновенной *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) из Самарской области

В настоящей главе диссертационного исследования изучены лейкоцитарные профили крови обыкновенной гадюки *Vipera berus* из Самарской области (г. Самара) и восточной степной гадюки *Vipera renardi* из Саратовской области (Хвалынский район) с целью выявления особенностей адаптивных реакций изученных видов ядовитых змей. Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав лейкограмм крови гадюки обыкновенной характеризовался преобладанием мононуклеарных клеток, составляющих 70–80% от всех лейкоцитов (рисунок 2).

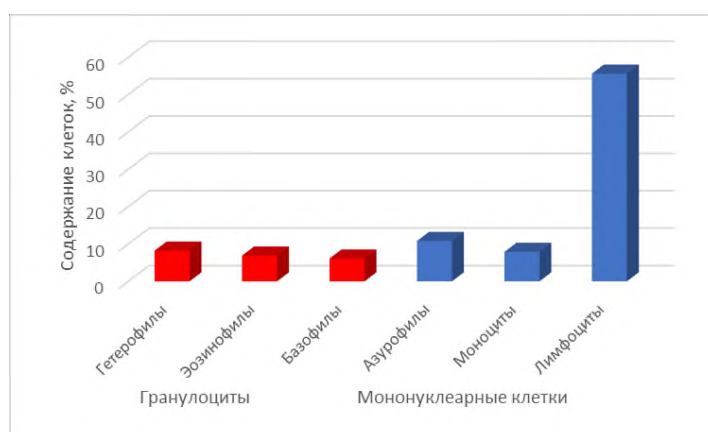


Рисунок 2. Лейкоцитарная формула крови гадюки обыкновенной:
по оси абсцисс – тип лейкоцитарных клеток; по оси ординат – содержание клеток, %

Установлены межгодовые различия лейкоцитарного профиля для обоих полов гадюки обыкновенной. Содержание азурофилов в крови самок за период наблюдений уменьшалось, что отразилось на общем снижении доли агранулоцитов, компенсируемом повышением числа клеток неспецифической защитной системы крови (гетерофилов, базофилов и эозинофилов) (рисунок 3).

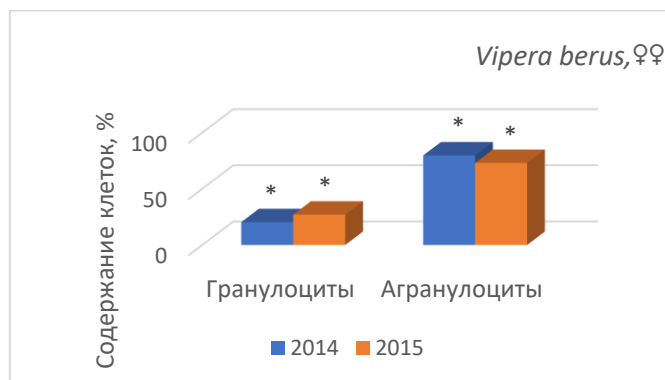


Рисунок 3. Изменение соотношения лейкоцитарных клеток в крови самок *Vipera b. berus* урбанизированной территории за период двухлетних наблюдений

* – статистически значимые различия

Суммарная доля агранулоцитов у самцов изменялась за счет перераспределения в крови мононуклеаров: количество лимфоцитов снижалась, а число моноцитов – возрастало (рисунок 4), что иллюстрировало снижение специфической реакции иммунной системы организма и возрастание функциональной активности моноцитов, обеспечивающих адаптивное функционирование организма гадюк в специфических условиях внешней среды.

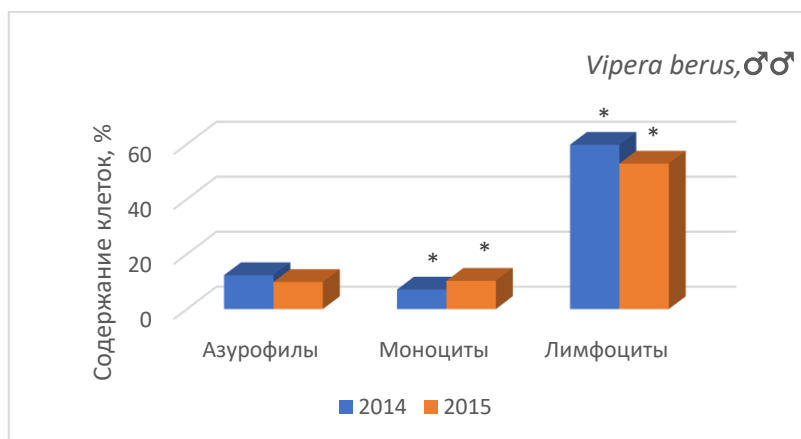


Рисунок 4. Изменение соотношения мононуклеарных клеток в крови самцов *Vipera b. berus* урбанизированной территории за период двухлетних наблюдений

* – статистически значимые различия

Отмечено возрастание индекса сдвига лейкоцитов, *ИСЛ*, в 2015г. по сравнению с 2014 г. ($w=2.86$, $p=0.004$), что свидетельствовало о преобладающей роли в иммунном ответе гранулоцитов при некотором отставании клеток лимфоидного ряда. Отставание в реагировании со стороны лимфоцитов приводит к их поздней активации как эффекторного звена иммунного ответа, которое компенсируется повышением неспецифической защитной системой крови (содержание гранулоцитов) и активностью моноцитов. Снижение индекса *ИЛГ* показывало возможность развития незавершенных иммунных реакций, особенно при относительной или абсолютной лимфопении. Индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), определяемый как «стрессовый» (Davis et al., 2008), в крови гадюки обыкновенной не изменялся, что свидетельствовало о достаточном ресурсе адаптационных механизмов и возможности активного ответа на сезонное изменение комплекса факторов среды обитания (рисунок 5).

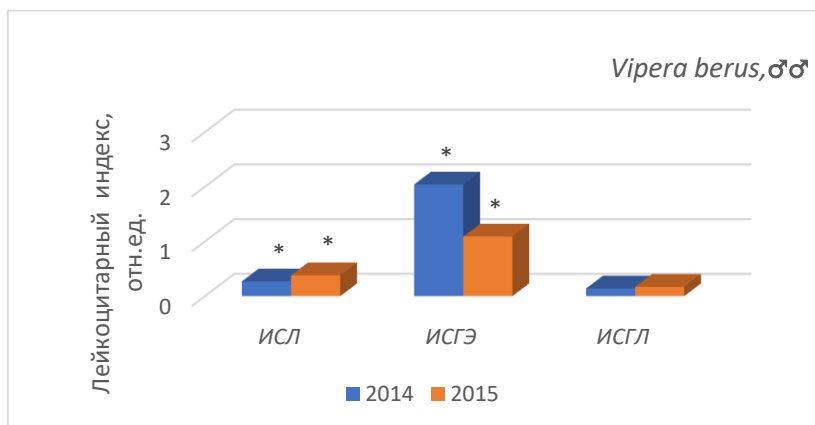


Рисунок 5. Изменение лейкоцитарных индексов в крови самцов *Vipera berus* урбанизированной территории за период двухлетних наблюдений
* – отмечены статистически значимые различия

3.2. Лейкоцитарный состав крови восточной степной гадюки *Vipera renardi* (Christoph, 1861) Саратовской области

Гендерных различий в количественных показателях лейкоцитарной формулы и содержания гранулоцитов и агранулоцитов в крови гадюки степной не выявлено, однако у самок гадюки степной более высоким оказался индекс соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), что свидетельствовало о негативном воздействии на особей (таблица 2).

Таблица 2

Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки степной

Показатель лейкограммы	Самцы (n=15)		Самки (n=14)		Критерий Манна – Уитни (u, p)
	Me	IQR	Me	IQR	
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы, %	7.00	3.50	9.00	5.00	1.93, 0.05
Эозинофилы, %	5.00	4.00	7.00	2.00	0.52, 0.59
Базофилы, %	8.50	3.00	7.50	3.00	0.91, 0.35
Азурофилы, %	10.00	2.00	11.00	3.00	1.82, 0.06
Моноциты, %	9.50	2.50	9.50	3.00	0.52, 0.59
Лимфоциты, %	58.50	6.00	56.00	3.00	1.79, 0.07
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ, отн. ед.	0.27	0.08	0.29	0.06	1.15, 0.24
ИСЛЭ, отн. ед.	11.00	2.89	8.35	3.72	0.50, 0.61
ИСГЭ, отн. ед.	1.13	0.77	1.42	1.25	1.60, 0.10
ИЛГ, отн. ед.	26.73	8.73	24.20	6.80	1.68, 0.09
ИСГЛ, отн. ед.	0.11	0.07	0.16	0.10	2.09, 0.03

Примечание: Me – медиана; IQR – интерквартильный размах. Жирным выделены статистически значимые различия.

Самки *V. renardi* отличались повышенным содержанием в крови базофилов ($z=4.10$, $p=0.002$) и моноцитов ($z=3.10$, $p=0.01$), а также более низким содержанием лимфоцитов ($z=2.80$, $p=0.02$) по сравнению с самками *V. berus* г. Самары, 2014. Более низкое значение лейкоцитарного индекса *ИЛГ*, обусловленное снижением доли лимфоцитов в крови, свидетельствовало о несбалансированности иммунных ответов у самок степной гадюки. Самцы *V. renardi* также, как и самки, имели более высокое содержание в крови базофилов ($z=4.23$, $p=0.0001$), моноцитов ($z=2.94$, $p=0.01$), а также пониженное содержание эозинофилов ($z=2.68$, $p=0.04$) по сравнению с самцами *V. berus* г. Самары, 2014. Самцы гадюки степной отличались перераспределением соотношения гранулоцитов и агранулоцитов, а именно, более низким суммарным содержанием гранулоцитов и более высокой долей мононуклеарных клеток по сравнению с самцами гадюки обыкновенной.

Поскольку именно лимфоциты являются ведущим звеном реакций адаптации, то снижение индекса *ИСЛ* ($z=2.83$, $p=0.02$) (рисунок 6) и возрастание индекса *ИЛГ* ($z=3.15$,

$p=0.009$) (рисунок 7) можно рассматривать как показатели активного и при этом адекватного и своевременного иммунного ответа организма гадюки степной по сравнению с гадюкой обыкновенной.

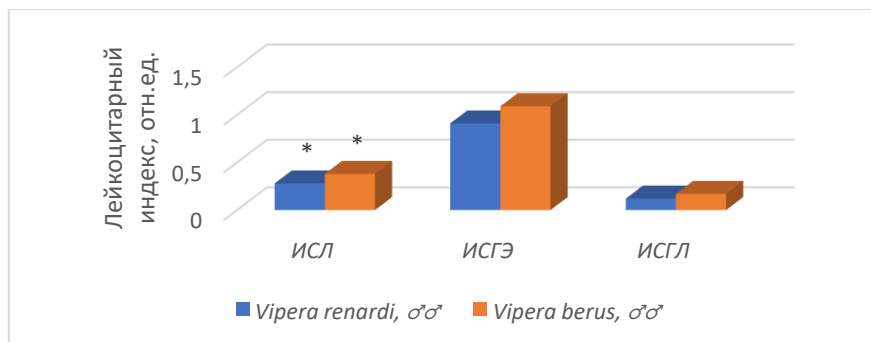


Рисунок 6. Сравнительный анализ лейкоцитарных индексов крови самцов гадюки степной и гадюки обыкновенной (2015): по оси абсцисс – величина индекса; * – статистически значимые различия

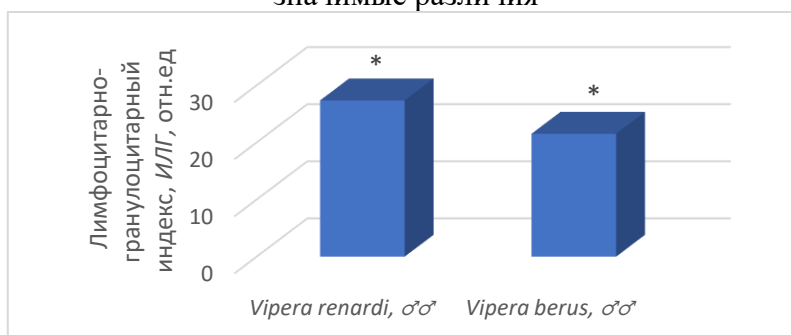


Рисунок 7. Значение лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ) крови самцов гадюки степной и гадюки обыкновенной (2015 г.): по оси абсцисс – величина индекса; * – статистически значимые различия

Таким образом, анализ лейкограмм гадюковых змей иллюстрирует более выраженные различия по биотопической приуроченности, чем по полу, что свидетельствует о влиянии комплекса абиотических факторов естественной среды обитания на формирование адаптивного ответа системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов, обеспечивающих сильные неспецифические (врожденные) и специфические адаптивные реакции.

ГЛАВА 4. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ СЕМЕЙСТВА COLUBRIDAE ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

В настоящей главе диссертации представлена сравнительная оценка адаптивных реакций крови неядовитых змей семейства Colubridae, обитающих в разных биотопических условиях ареала: узорчатого полоза *Elaphe diene* на охраняемой территории, заповедник «Оренбургский», ужа обыкновенного *Natrix natrix* и ужа водяного *Natrix tessellata* из популяций Северного и Восточного Прикаспия.

4.1. Лейкоцитарный состав крови узорчатого полоза *Elaphe diene* (Pallas, 1773) (Serpentes: Colubridae) заповедника «Оренбургский»

Лейкоцитарная формула крови узорчатого полоза отражала наиболее выраженную активацию иммунных процессов у самок по сравнению с самцами. У самок в крови выше доля гетерофилов и моноцитов, но ниже доля базофилов и эозинофилов. Гетерофилы, базофилы и эозинофилы характеризовались умеренной ассоциацией, а моноциты сильной ассоциацией ($\rho=0.82$, $R^2=0.67$, $p=0.001$) с качественным признаком (полом особи). Морфометрические показатели клеток гранулоцитарного ряда самцов превышали аналогичные показатели самок.

Отсутствие различий в интегральных показателях соотношения гетерофилов и лимфоцитов самцов и самок ($u=1.33$, $p=0.18$) свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме животных в особо охраняемых условиях среды обитания с крайне низким антропогенным воздействием.

4.2. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) (Serpentes: Colubridae) из разных популяций

В рамках пространственной модели на примере широко распространенного вида – ужа обыкновенного – выявлены различия лейкоцитарного профиля крови особей, что указывает на специфику адаптивных реакций вида к конкретным абиотическим условиям (особенностям рельефа и климата) географически удаленных локалитетов.

4.2.1. Оценка лейкоцитарного профиля крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) из Мордовского государственного природного заповедника им. П. Г. Смидовича (Россия)

Состав лейкограмм периферической крови ужа обыкновенного широколиственных лесов Мордовского заповедника характеризовался преобладанием агранулоцитов (69–73%). По усредненному показателю площади поверхности (мкм^2) лейкоцитарные клетки крови ужа обыкновенного расположились в следующем порядке: эозинофилы – моноциты – азурофилы, базофилы – гетерофилы – лимфоциты. Большинство лейкоцитарных интегральных индексов (ИСЛ, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИЛГ) выявили однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови ужа обыкновенного трех участков заповедника за исключением повышенного значения индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов (ИСГЛ) выборки пос. Пушта, свидетельствующее о дополнительном стрессовом воздействии.

4.2.2. Оценка лейкоцитарного профиля крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) Северного Прикаспия

Выборки ужа обыкновенного полупустынной зоны Северного Прикаспия характеризовали межполовые различия, проявляющиеся в разнонаправленных изменениях содержания в крови мононуклеарных клеток. Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля самок ужа обыкновенного выборок Северного Прикаспия и Мордовского заповедника выявил значимые различия по большинству показателей. В целом выборки ужа обыкновенного Северного Прикаспия характеризовались пониженным содержанием в крови гранулоцитов ($u=1.99$, $p=0.04$) и относительно повышенным содержанием агранулоцитов ($u=1.99$, $p=0.04$). Адаптация к условиям высоких температур и пониженной влажности Северного Прикаспия на уровне системы крови проявлялась в перестройке баланса мононуклеарных клеток: азурофилов ($u=4.72$, $p<0.001$) и моноцитов ($u=4.54$, $p<0.001$). Отмечено изменение соотношения и гранулоцитарных лейкоцитов: гетерофилов ($u=2.95$, $p=0.004$) и базофилов ($u=2.00$, $p=0.04$) (рисунок 8).

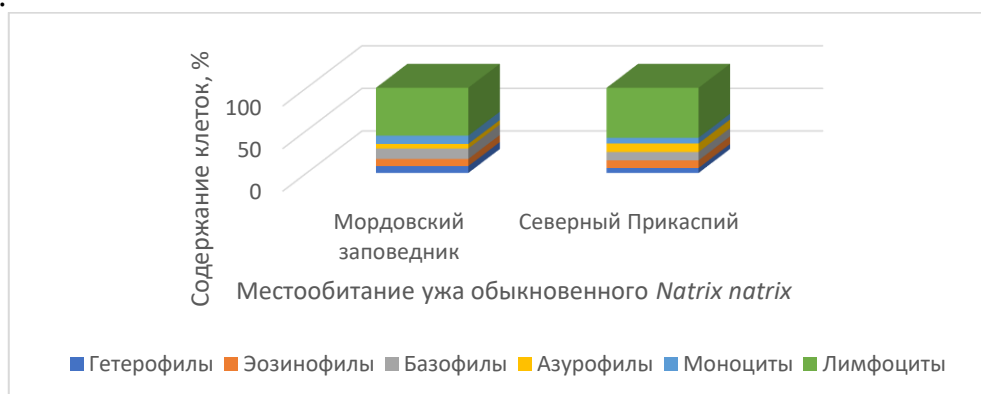


Рисунок 8. Перестройка баланса лейкоцитарных клеток в крови ужа обыкновенного, обитающего на охраняемой территории широколиственных лесов Мордовского заповедника и в полупустынной зоне Северного Прикаспия

4.3. Лейкоцитарный состав крови ужа водяного *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) (Serpentes: Colubridae) Северного и Восточного Прикаспия

В лейкограммах ужа водяного полупустынной зоны Северного Прикаспия выявлены межполовые и межгодовые различия. У самцов отметим повышение содержания моноцитов ($w=2.74$, $p=0.006$), на фоне отсутствия значимых различий по всем другим показателям лейкоцитарного профиля, включая интегральные индексы. Напротив, в крови самок отмечалось перераспределение содержания гранулоцитарных и мононуклеарных клеток за исключением содержания в крови лимфоцитов, доля которых оставалась невысокой, по сравнению с самцами.

Сравнительный анализ лимфоцитарно-гранулоцитарного состава крови ужа водяного из разных популяций выявил различия по содержанию гранулоцитов и мононуклеарных клеток, что отражалось на повышенном интегральном индексе соотношения гетерофилов к лимфоцитам (ИСГЛ) и гетерофилов к эозинофилам (ИСГЭ) у самцов и у самок ужа водяного Восточного Прикаспия по сравнению с особями Северного Прикаспия (рисунок 9). В иммуногематологических показателях крови особей, обитающих в пустынной зоне Восточного Прикаспия, преобладала неспецифическая защитная составляющая. Напротив, усредненная лейкограмма особей популяции ужей полупустынной зоны Северного Прикаспия имела ярко выраженный лимфоцитарный профиль, что свидетельствовало о возрастании специфической реактивности организма.

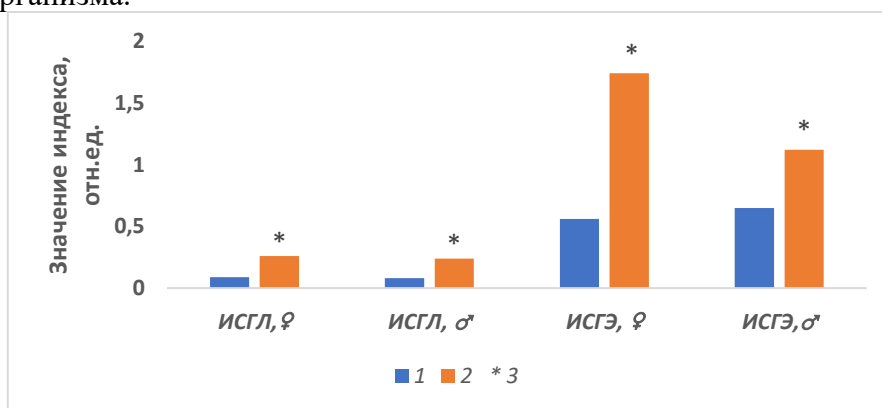


Рисунок 9. Значение индекса отношения гетерофилов к лимфоцитам (ИСГЛ) и эозинофилам (ИСГЭ) для самок и самцов ужа водяного Северного и Восточного Прикаспия
1 – Северный Прикаспий; 2 – Восточный Прикаспий; *3 – статистически значимые различия

Различия в параметрах лейкоцитарной системы крови ужа водяного, обуславливались, по-видимому, сезонной онтогенетической активностью змей и колебанием климатических показателей. Как известно, неспецифическая защитная система крови змей быстрее и эффективнее реагирует на широкий спектр стрессовых факторов среды обитания, по сравнению с адаптивными ответами, поэтому в период спаривания именно врожденная система защиты, характеризующаяся более высоким развитием у эктотермных животных, обеспечивала максимальную защиту и устойчивое функционирование организма.

4.4. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и ужа водяного *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) при синтопии

В условиях синтопического обитания у двух гидрофильных видов – ужа обыкновенного и ужа водяного – обнаружены схожие адаптивные реакции. При этом, кроме гендерных отличий внутри каждого вида, выявлены межвидовые различия. Обобщенная лейкограмма ужа обыкновенного (самцов и самок) отличалась от суммарной лейкограммы ужа водяного повышенным содержанием по содержанию незрелых мононуклеарных клеток (азурофилов) ($u=2.53$, $p=0.01$) (рисунок 10).

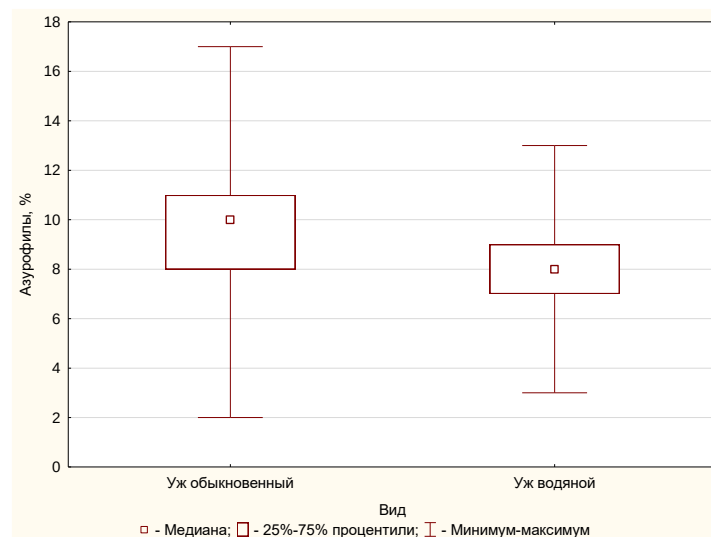


Рисунок 10. Различие в количественном содержании азурофилов (%) в крови двух синтопических видов ужей

Кластерный анализ показал, что в выборках самцы и самки змей сем. Colubridae объединялись в первую очередь, следовательно, половая изменчивость была менее выражена, чем биотопическая и межвидовая. На основании евклидова расстояния по показателям лейкограммы узорчатого полоза, ужа обыкновенного и ужа водяного выделено три кластера (рисунок 11), один из которых составляли ужи обыкновенный и водяной, обитающие в условиях синтопии в Астраханской области, что свидетельствовало о схожести адаптивных реакций системы крови этих гидрофильных видов к условиям среды.

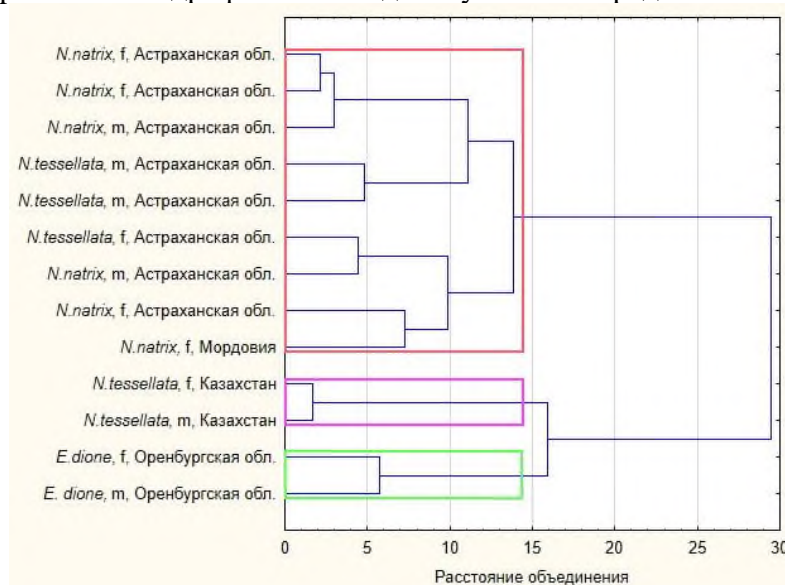


Рисунок 11. Дендрограмма иерархической кластеризации выборок неядовитых змей сем. Colubridae

В этот же кластер вошла выборка самок ужа обыкновенного Мордовского заповедника, характеризующаяся, как и самки ужа обыкновенного Северного Прикаспия, активацией специфической составляющей иммунитета особей в период подготовки к зимовке. Во втором кластере сгруппировались самцы и самки ужа водяного Восточного Прикаспия в период спаривания, когда неспецифическая защитная система крови змей эффективнее реагирует на широкий спектр антигенов среды обитания, по сравнению с адаптивными ответами. Ксерофитный вид неядовитых змей узорчатый полоз охраняемой территории образовывал самостоятельный кластер.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет заключить, что межвидовые различия, фаза онтогенеза и особенности биотопической приуроченности определяют уровень иммунологической реактивности и работу эффекторных механизмов иммунной системы неядовитых змей сем. Colubridae. В условиях синтопического обитания гидрофильные виды ужей (обыкновенный и водяной) характеризуются схожими адаптивными реакциями; межвидовые различия затрагивают незрелые клетки моноклеарного ряда.

ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ЯДОВИТЫХ И НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ В СЕРПЕНТАРИИ

В настоящей главе проведена оценка адаптивных реакций крови ядовитых гадюковых и неядовитых ужовых змей, отловленных на территории Волжского бассейна, и родившихся в условиях серпентария Института экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти. Гадюковые и ужовые размножаются в неволе, поэтому их можно использовать в качестве модельных видов в экофизиологии. Содержание в неволе диких животных, которые находятся в условиях, значительно отличающихся от привычной среды обитания, испытывая значительный стресс, позволило нам реализовать модель средового стресса, заключающуюся в определении направленности адаптивных реакций крови сеголетков по сравнению с особями природных популяций

5.1. Лейкоцитарный профиль крови ядовитых змей рода *Vipera* (*Vipera berus berus*, *V. b. nikolskii* и *V. renardi bashkirovi*)

Выявлены возрастные различия в лейкоцитарном профиле крови ядовитых змей. Лейкоцитарный профиль и интегральные показатели лейкограмм самок *V. b. berus* и *V. b. nikolskii*, содержащихся в условиях серпентария, статистически значимо не отличались, что свидетельствовало о формировании сходных адаптивных реакций в организме самок родственных подвигов змей. Картина крови сеголетков гадюки обыкновенной *V. berus* отличалась от родивших их самок пониженным содержанием гетерофилов ($u=2.40$, $p=0.01$), что свидетельствовало о более высокой функциональной активности неспецифической защитной системы крови взрослых особей. Статистически значимых различий по лейкоцитарным показателям крови между сеголетками *V. b. nikolskii* и *V. b. berus* не выявлено. График наблюдений в пространстве главных компонент визуализировал полученный результат (рисунок 12).

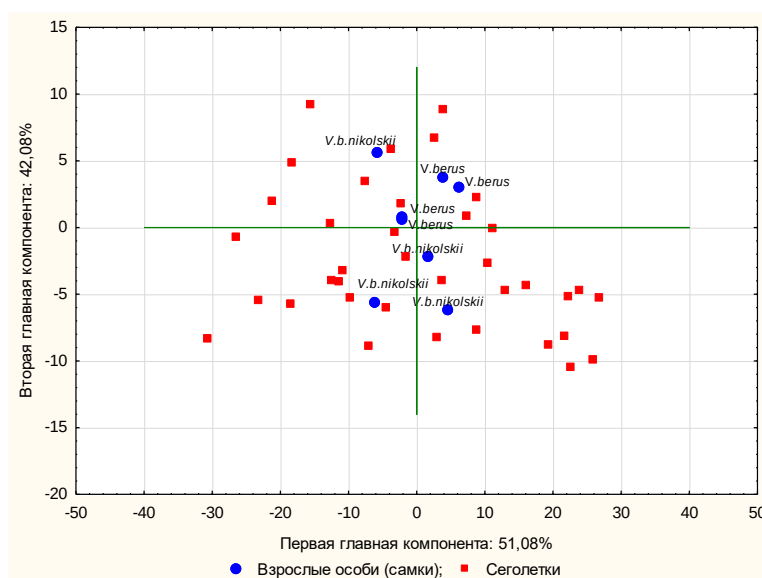


Рисунок 12. График рассеивания объектов исследования в пространстве главных компонент

Видно, что лейкоцитарные показатели крови самок из популяций *V. b. berus* и *V. b. nikolskii*, практически «перемешаны» друг с другом, а, следовательно, более близки друг к

другу по исследованным характеристикам, что подтверждало схожесть адаптивных реакций системы крови близкородственных видов. Сеголетки располагаются во всех квадрантах факторного пространства, что обусловлено значительными разбросами в показателях лейкоцитарного профиля и несбалансированностью гомеостатических механизмов организма молодых особей.

От самок из природных популяций *V. b. berus* сеголетки отличались пониженным содержанием гетерофилов и азурофилов, повышенным содержанием эозинофилов и базофилов; от самцов – пониженным содержанием гетерофилов, повышенным содержанием эозинофилов и базофилов. Таким образом, адаптивный ответ системы крови сеголетков гадюковых змей иллюстрировал более позднюю активацию лимфоцитов как эффекторного звена и несбалансированность иммунного ответа за счет недостаточности ресурса иммунокомпетентных клеток (агранулоцитов), по сравнению с показателями самцов и самок природных популяций.

5.2. Лейкоцитарный профиль крови сеголетков неядовитых ужовых змей сем. Colubridae (*Elaphe dione*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*)

Центральные тенденции и меры рассеяния количественных показателей лейкоцитарного профиля крови для сеголетков ужей: *N. natrix* и *N. tessellata* показали одинаковое соотношение в крови гранулоцитов и мононуклеарных клеток (1 : 3). В крови *E. dione* соотношение гранулоцитов к агранулоцитам оказалось приблизительно одинаковым. У сеголетков трех видов змей вклад отдельных лейкоцитарных клеток в общий лейкоцитарный профиль крови различен. Относительно низкое содержание гетерофилов отмечено у сеголетков ужа водяного ($Me = 7.00$, $IQR = 4.00$), доли гетерофилов в крови узорчатого полоза и обыкновенного ужа статистически значимо не различались ($z=0.64$, $p=1.00$). Процентное содержание эозинофилов и базофилов в крови узорчатого полоза значимо выше по сравнению с аналогичными показателями ужей водяного и обыкновенного (рисунок 13).

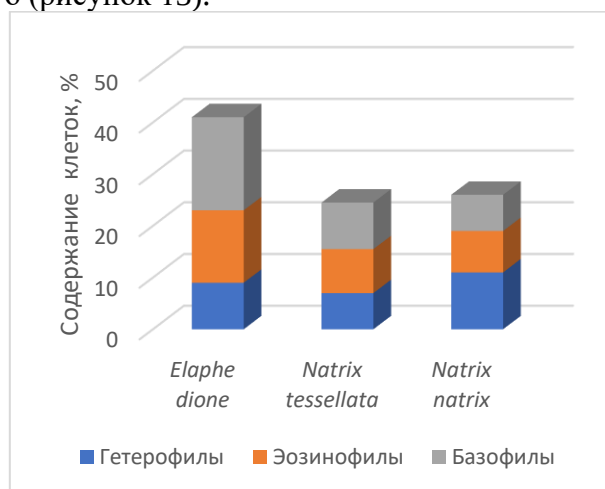


Рисунок 13. Содержание гранулоцитарных клеток в крови сеголетков неядовитых змей

Ужи различались по содержанию всех трех типов мононуклеарных клеток. При этом доля азурофилов ($Me = 9.50$, $IQR = 4.00$) и моноцитов ($Me = 13.00$, $IQR = 4.00$) была выше у ужа водяного, а доля лимфоцитов ($Me = 60.00$, $IQR = 2.50$) – у ужа обыкновенного (рисунок 14).

По содержанию лимфоцитов изученные виды неядовитых змей расположились в порядке убывания в следующем ряду: уж обыкновенный – уж водяной – узорчатый полоз. Отсутствие различий по всем интегральным лейкоцитарным индексам крови отражало сходную адаптивную реакцию особей ужа водяного и ужа обыкновенного в условиях серпентария. Повышенное значение *ИСЛ* у молодых особей узорчатого полоза свидетельствовало о преобладающей роли в иммунном ответе гранулоцитов при некотором отставании клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена. Понижение лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса, на фоне повышения индекса *ИСГЛ*, свидетельствовало о незавершенности иммунного ответа и развитии стресс-реакций в организме сеголетков узорчатого полоза.

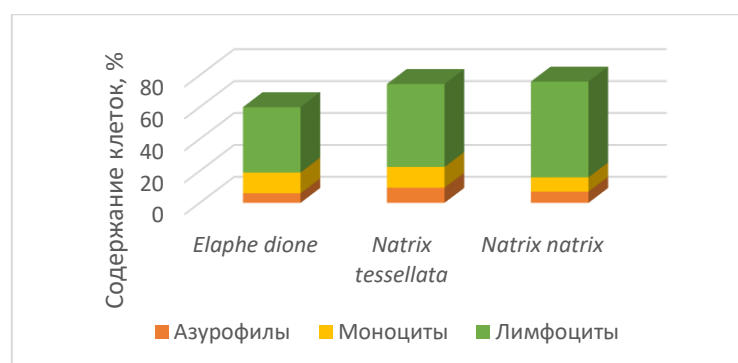


Рисунок 14. Содержание мононуклеарных клеток в крови сеголетков неядовитых змей

Таким образом, лейкоцитарные формулы крови трех видов неядовитых ужовых змей, содержащихся в условиях серпентария, не имели выраженного лимфоцитарного профиля, в иммунных реакциях организма преобладала неспецифическая составляющая, более выраженная в крови узорчатого полоза. По сравнению с самками и самцами природных популяций в крови неполовозрелых особей выявлено увеличение содержания гетерофилов и снижение числа лимфоцитов (таблица 3).

Таблица 3

Направленность отклонений лейкоцитарных показателей крови сеголетков сем. Colubridae по сравнению со взрослыми особями

Показатели лейкограммы	<i>Elaphe dione</i>		<i>Natrix natrix</i>		<i>Natrix tessellata</i>	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы	—	↑	↑	↑	↑	↑
Эозинофилы	↑	—	—	—	↑	—
Базофилы	↑	↑	↓	↓	—	↓
Азурофилы	↓	—	↓	—	—	↑
Моноциты	—	↑	—	↑	↑	↑
Лимфоциты	↓	↓	—	—	↓	↓
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
ИСЛ	↑	↑	—	—	—	—
ИСЛЭ	↓	—	—	—	—	—
ИСГЭ	↓	↑	↑	↑	↑	—
ИЛГ	↓	↓	—	—	—	↓
ИСГЛ	—	↑	↑	↑	↑	↑

Примечание: — отсутствие значимых различий; ↑ — повышение показателя; ↓ — снижение показателя.

Анализ полученных результатов показывает, что у неядовитых ужовых змей формирование общей адаптивной реакции обуславливается изменением баланса форменных элементов белой крови и определяется стадией онтогенеза змей: у сеголетков смещается в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых самцов и самок имеет выраженный сдвиг в сторону повышения содержания лимфоцитов. У сеголетков ядовитых и неядовитых змей, родившихся в серпентарии, неспецифические адаптационные реакции иммунной системы реализовались, в том числе, за счет разнонаправленных изменений в количественном содержании гетерофильных гранулоцитов: повышении их доли в крови неядовитых ужовых змей и снижении — в крови ядовитых гадюковых змей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог эколого-физиологической характеристике адаптивных реакций системы крови змей, реализованной на трех базовых моделях, отметим, что определение лейкоцитарной формулы крови с расчетом связанных с ней лейкоцитарных индексов, является плодотворным методологическим подходом, позволяющим оценить состояние иммунной системы рептилий и уровень общей реактивности организма, для выявления видоспецифической адаптивной реакции ядовитых и неядовитых змей к условиям естественных биотопов и серпентария. Неспецифические (врожденные) и специфические адаптивные реакции системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) к комплексу факторов естественной среды обитания реализуются за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов. Интегральные лейкоцитарные показатели иллюстрируют активацию специфических реакций иммунной системы и сбалансированность адаптационных механизмов степной гадюки (самцы и самки) по сравнению с гадюкой обыкновенной.

В рамках пространственной модели на примере широко распространенного вида – ужа обыкновенного – выявлены различия лейкоцитарного профиля крови особей, что указывает на адаптивные реакции вида к конкретным географическим условиям разных локалитетов, расположенных почти на 1000 км друг от друга. В механизмах формирования адаптивных реакций на популяционном уровне установлена биотопическая и межвидовая изменчивость. При общих адаптивных реакциях двух синтопических гидрофильных видов ужей (обыкновенного и водяного) межвидовые различия затрагивают моонуклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявляются повышенным содержанием азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с ужом водяным.

Реализация модели средового стресса (содержание змей в неволе) выявила повышение в крови сеголеток неядовитых ужовых змей гранулоцитов, что является характерным показателем развития стрессовых реакций активации и подтверждается высоким значением индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов. У сеголетков полоза узорчатого наблюдается более поздняя активация эффекторного звена иммунного ответа (лимфоцитов) по сравнению сеголетками ужа обыкновенного и ужа водяного. У неядовитых ужовых змей формирование общей адаптационной реакции определяется стадией онтогенетического развития: у сеголетков смещается в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых особей природных популяций обеспечивается за счет активации реакций адаптивного иммунитета. Адаптивный ответ системы крови сеголетков ядовитых змей иллюстрировал более позднюю активацию лимфоцитов как эффекторного звена и несбалансированность иммунного ответа за счет недостаточности ресурса иммунокомпетентных клеток (агранулоцитов), по сравнению с показателями взрослых особей из природных популяций. У сеголетков ядовитых и неядовитых змей неспецифические адаптационные реакции иммунной системы реализуются за счет разнонаправленного перераспределения ацидофилов (в первую очередь, гетерофилов): повышением в крови доли неядовитых ужовых змей и снижением – у ядовитых гадюковых змей, что обуславливает сохранение способности иммунной системы организма рептилий к развитию компенсаторных приспособлений как стереотипной реакции системы крови в условиях средового стресса.

Как известно, эколого-физиологический подход к исследованию ядовитых животных органично интегрирует в себе специфику биологии и продуцируемых ядов как химических веществ, участвующих в межвидовых (аллелохимических) взаимодействиях (Гелашвили и др., 2015) и, можно полагать, что адаптивные стратегии ядовитых змей рода *Vipera* на ранних стадиях онтогенеза, когда гранулоцитарная составляющая крови, реализующая сильные врожденные иммунные ответы менее активна, определяются, в том числе, и биологической спецификой действия их яда, имеющего более высокую токсичность у сеголетков по сравнению со взрослыми половозрелыми особями (Атяшева и др., 2016), что обеспечивает резистентность и успешное выживание молодых особей в условиях средового стресса. В этой связи нам представляется актуальным провести сравнительный анализ приспособительной изменчивости важнейшей физиологической системы организма ядовитых и неядовитых змей к условиям конкретных местообитаний естественных биотопов. Методом главных компонент были

выделены факторы, ответственные за классификацию выборок. При этом первая компонента, с собственным максимальным значением 34.59 имела максимальную дисперсию и на 76% исчерпывала информацию об изменчивости лейкоцитарного состава крови исследованных выборок; вторая главная компонента для значения 6.34 описывала 14.00% оставшейся общей информации и была менее информативна (рисунок 15).

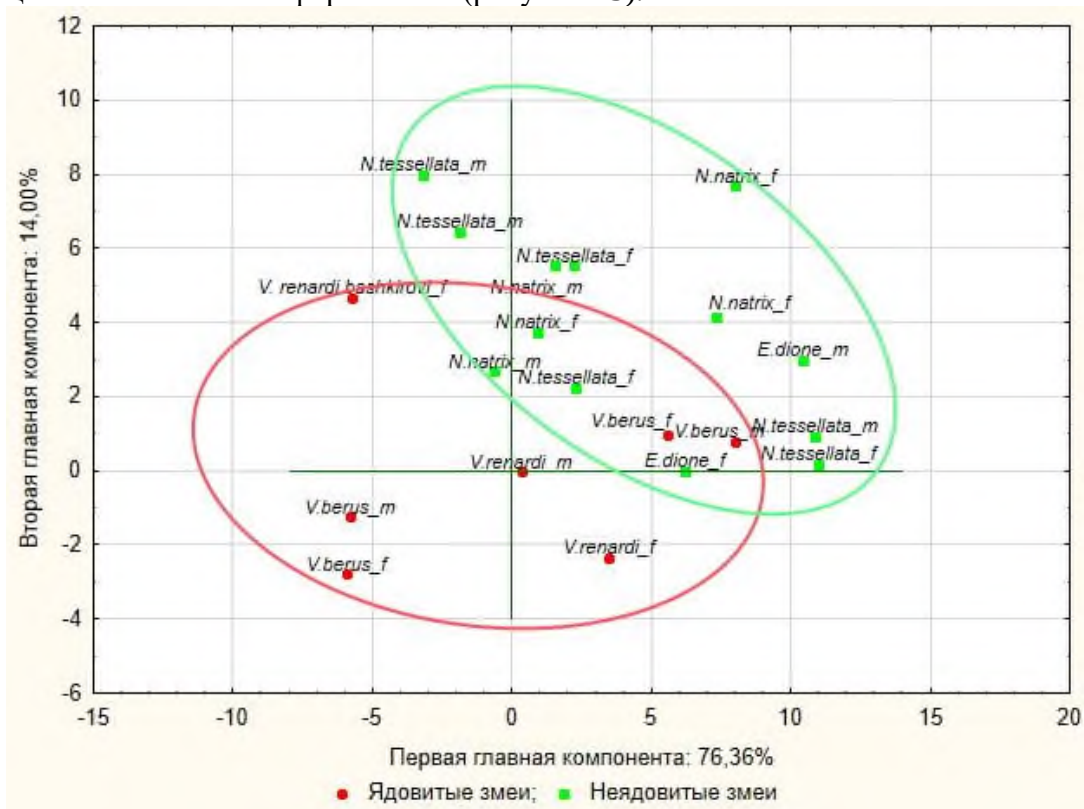


Рисунок 15. График рассеяния выборок ядовитых и неядовитых змей в пространстве двух первых главных компонент:
m – males, самцы; *f* – females, самки

В первую главную компоненту наибольший вклад вносили переменные лимфоциты (-0.95) и *ИЛГ* (-0.99) с сильными отрицательными корреляциями, а также базофилы (0.90), моноциты (0.85), *ИСЛ* (0.91), с сильными положительными корреляциями. Вторая факторная ось коррелировала с переменной: азурофилы (-0.91), гетерофилы (-0.70) и *ИСГЭ* (-0.83). График рассеяния выборок в пространстве двух первых главных компонент визуализировал отличия лейкоцитарного профиля ядовитых и неядовитых змей. Ядовитые змеи группировались в области расположения векторов, отражающих специфические и сбалансированные адаптивные реакции (вектора: лимфоциты, *ИЛГ*). Расположение трех видов неядовитых ужовых змей в первом и втором квадрантах факторного пространства обусловлено однонаправленными сдвигами в лейкоцитарной формуле крови за счет перераспределения доли гетерофилов и незрелых мононуклеарных клеток (азурофилов) с преобладанием в адаптивных реакциях организма неспецифической составляющей.

Результаты проведенного исследования, положения выносимые на защиты и выводы диссертации расширяют сложившиеся представления об особенностях и изменениях адаптивных реакций системы крови рептилий, а также обосновывают необходимость дальнейшего исследования модулирующего воздействия комплекса биотических и абиотических факторов среды на иммунные ответные реакции организма с целью изучения эволюционного становления адаптивного иммунитета и прогноза возможности выживания рептилий в условиях нарастающего воздействия глобальных экологических трендов (изменения климата, роста неблагоприятных гидрометеорологических процессов, потери биоразнообразия и др.), способных оказывать влияние на состояние и устойчивость биосферы.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены гендерные, межгодовые и межвидовые различия лейкоцитарного профиля ядовитых змей. В крови самок гадюки обыкновенной отмечается активация неспецифической защитной системы крови. У самцов выявлено перераспределения баланса мононуклеаров (снижение числа лимфоцитов, увеличение количества моноцитов), что иллюстрирует снижение реакций специфического иммунитета и возрастание активности моноцитов, обеспечивающих адаптивное функционирование организма. Самки степной гадюки отличались от самок гадюки обыкновенной пониженным содержанием лимфоцитов и более низким значением индекса *ИЛГ*. Лейкоцитарный профиль самцов гадюки степной от гадюки обыкновенной отличался повышенным содержанием лимфоцитов, снижением индекса *ИСЛ* и возрастанием индекса *ИЛГ*, что свидетельствовало о более активном и своевременном иммунном ответе. Адаптивный ответ системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) к комплексу факторов среды реализовался за счет изменения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов.

2. Установлен лейкоцитарный профиль крови ксерофитного вида узорчатого полоза в особо охраняемых условиях среды и активация иммунных процессов у самок по сравнению с самцами. Выявлены гендерные межгодовые и биотопические различия в лейкоцитарном составе крови ужа обыкновенного урбанизированной территории по сравнению с особями охраняемой территории, проявляющиеся пониженным содержанием: гетерофилов ($u=2.95$, $p=0.004$), базофилов ($u=2.00$, $p=0.04$) и повышенным: азурофилов ($u=4.72$, $p<0.001$), моноцитов ($u=4.54$, $p<0.001$). Установлено изменение соотношения гранулоцитов (гетерофилов) и мононуклеаров в крови ужа водяного из популяций разных биотопов Прикаспийской низменности.

3. Показана схожесть общих адаптивных реакций и лейкоцитарного профиля неядовитых гидрофильных видов ужей (обыкновенный и водяной) в условиях синтопического обитания; межвидовые различия затрагивали мононуклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявлялись повышенным содержанием азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с водяным ужом.

4. Выявлены возрастные различия лейкоцитарного состава крови сеголетков гадюковых змей (*Vipera b. berus*, *V. b. nikolskii*). Сеголетки *V. b. berus* отличались от родивших их самок пониженным содержанием гетерофилов ($u=2.40$, $p=0.01$); сеголетки *V. b. nikolskii* отличались от самок пониженным содержанием азурофилов ($u=2.50$, $p=0.01$). Адаптивный ответ системы крови сеголетков гадюковых змей иллюстрировал более позднюю активацию лимфоцитов как эффекторного звена и несбалансированность иммунного ответа за счет недостаточности ресурса иммунокомпетентных клеток (агранулоцитов), по сравнению с показателями самцов и самок природных популяций.

5. Установлено преобладание в крови сеголетков узорчатого полоза *E. dione* гранулоцитов (эозинофилов и базофилов) при некотором отставании в реализации адаптивных реакций клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена, что свидетельствует о более поздней активации эффекторного звена иммунного ответа полоза по сравнению с сеголетками ужей *N. natrix* и *N. tessellata*. По содержанию лимфоцитов изученные виды расположились в порядке убывания в следующем ряду: *N. natrix* ($Me - 60.00$, $IQR - 2.50$) $\rightarrow$ *N. tessellata* (52.00 , 6.00) $\rightarrow$ *E. dione* (40.00 , 5.00). Интегральные лейкоцитарные индексы как маркеры популяционного гомеостаза организма отражали несбалансированность адаптивного ответа системы крови у сеголетков, содержавшихся в неволе, по отношению к взрослым самцам и самкам из природных популяций.

СПИСОК ТРУДОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, входящих в Перечень ВАК и международные реферативные базы данных и системы цитирования

1. Романова, Е.Б. Оценка лейкоцитарного состава крови гадюки обыкновенной *Vipera berus* из Самарской области / Е.Б. Романова, В.Ю. Николаев, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // Принципы экологии. – 2016. – Т. 5, № 5. – С. 55–74.
2. Романова, Е.Б. Иммуногематологические показатели ядовитых и неядовитых змей на территориях Волжского бассейна с разной антропогенной трансформацией / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов, А.А. Клена // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2017. – Т. 19, № 2. – С. 54–61.
3. Романова, Е.Б. Сравнительные данные о лейкоцитарном составе крови гадюки обыкновенной и гадюки восточной степной / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // Современная герпетология. – 2017. – Т. 17, вып. 1/2. – С. 51–55.
4. Романова, Е.Б. Параметры лейкоцитарной системы крови гадюк *Vipera berus berus*, *V. b. nikolskii* и *V. renardi bashkirovi* в серпентарии / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, А.Л. Маленёв, Р.А. Горелов // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2018. – Т. 20, № 2. – С. 61–66.
5. Романова, Е.Б. Лейкоцитарный состав крови *Elaphe dione* (Serpentes: Colubridae) заповедника «Оренбургский» (Россия) / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // Nature Conservation Research. Заповедная наука. – 2018. – 3 (Suppl. 1). – С. 28–35. DOI: 10.24189/ncr.2018.033
6. Романова, Е.Б. Экологические аспекты организации иммунной системы рептилий / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин** // Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 3. – С. 15–22. DOI: 10.25750/1995-4301-2020-3-015-022. <https://elibrary.ru/item.asp?id=44271527>
7. Романова, Е.Б. Показатели лейкоцитарной системы крови ужа водяного *Natrix tessellata* Северного и Восточного Прикаспия / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов, А.А. Клена // Принципы экологии. – 2021. – № 1. – С. 52–62. DOI: 10.15393/j1/art/2021.11102/ <https://ecopri.ru/journal/article.php?id=11102>
8. Романова, Е.Б. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного (Serpentes: Colubridae) Мордовского государственного заповедника (Россия) *Natrix natrix* / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин**, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // Современная герпетология. – 2021. – Т. 21. – № 1/2. – С. 18–29. DOI: 10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29

Статьи, материалы, труды, тезисы международных и региональных конференций

9. **Соломайкин, Е.И.** Гематологические аспекты адаптации рептилий урбанизированных территорий / **Е.И. Соломайкин**, Е.Б. Романова, В.Ю. Николаев // Биология – наука XXI века: 19-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых (Пущино, 20–24 апреля 2015 г.). Сборник тезисов. – Пущино, 2015. – С. 371.
10. **Соломайкин, Е.И.** Оценка лейкоцитарной формулы гадюки обыкновенной (*Vipera berus* Linnaeus, 1758) Самарской области / **Е.И. Соломайкин** // 68-я областная научная конференция студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление»: Нижний Новгород, 28–29 апреля 2015 г. – Н. Новгород, 2015. – С. 57.
11. Бакиев, А. Г. Змеи из красной книги Самарской области: новые места находок / А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов, А.А. Клена, М.К. Рыжов, **Е.И. Соломайкин** // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 129–130.
12. Николаев, В.Ю. Сравнительная характеристика иммуногематологических показателей змей Волжского бассейна / В.Ю. Николаев, **Соломайкин, Е.И.** // 69-я областная научная конференция студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление»: Нижний Новгород, 27–29 апреля 2016 г. – Н. Новгород, 2016. – С. 101.
13. **Соломайкин, Е.И.** Сравнительный анализ адаптивных реакций ядовитых и неядовитых змей Волго-Уральского бассейна / **Е.И. Соломайкин**, Е.Б. Романова // 71-я

Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление»: Нижний Новгород, 17 – 20 апреля, 2018. – С. 215.

14. Романова, Е.Б. Изменение параметров лейкоцитарной системы ядовитых змей рода *Vipera* Среднего Поволжья / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин** // Биология – наука XXI века. Сборник тезисов 22-й Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых, 23–27 апреля 2018 г., Пущино. – Пущино, 2018. – С. 402–403.

15. Романова, Е.Б. Оценка иммуногематологических показателей популяций ядовитых и неядовитых змей Волго-Уральского бассейна / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин** // XXIII Нижегородская сессия молодых ученых (технические, естественные, математические науки), (22–23 мая 2018 г.): Материалы докладов. – Н. Новгород: Нижегородский науч.-информ. Центр, 2018. С. 158–159.

16. **Соломайкин, Е.И.** Оценка лейкоцитарных показателей крови ужа водяного *Natrix tessellata* Прикаспия / **Е.И. Соломайкин**, Е.Б. Романова, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // Биосистемы: организация, поведение, управление: Тезисы докладов 73-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 28–30 октября 2020 г.). – Н. Новгород: Университет Лобачевского, 2020. – С. 194.

17. **Соломайкин, Е.И.** Популяционные маркеры иммунного статуса змей Волжского бассейна / **Е.И. Соломайкин**, Е.Б. Романова // Биосистемы: организация, поведение, управление: Тезисы докладов 74-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых, посвященной памяти проф. А.П. Веселова (Н. Новгород, 20–23 апреля 2021 г.). – Н. Новгород: Университет Лобачевского, 2021. – С. 208.

18. **Соломайкин, Е.И.** Эколого-физиологический анализ лейкоцитарного профиля крови уховых змей / **Е.И. Соломайкин**, Е.Б. Романова, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // «Биосистемы: организация, поведение, управление»: 75-я Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых. Нижний Новгород, 19–22 апреля, 2022 г. – Н. Новгород, 2022. – С. 215.

Учебное пособие

19. Романова, Е.Б. Количественный и качественные методы оценки лейкоцитарного состава крови рептилий (ядовитых и неядовитых змей) в экологических исследованиях / Е.Б. Романова, **Е.И. Соломайкин** // Экологический мониторинг. Часть 10. Глава 2: учебное пособие, под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Нижний Новгород: Нижегородский университет, 2019. – С. 21–35.