

Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр
Российской академии наук»

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 7, 2023

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2023

Главный редактор

А. Ф. ТИТОВ, член-корр. РАН, д. б. н., проф.

Редакционный совет

А. М. АСХАБОВ, академик РАН, д. г.-м. н., проф.; О. Н. БАХМЕТ (зам. главного редактора), член-корр. РАН, д. б. н.; А. В. ВОРОНИН, д. т. н., проф.; И. В. ДРОБЫШЕВ, доктор биологии (Швеция – Канада); Э. В. ИВАНТЕР, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; Х. ЙООСТЕН, доктор биологии, проф. (Германия); А. М. КРЫШЕНЬ, д. б. н.; Е. В. КУДРЯШОВА, д. флс. н., проф.; О. Л. КУЗНЕЦОВ, д. б. н.; Н. В. ЛУКИНА, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; В. В. МАЗАЛОВ, д. ф.-м. н., проф.; Н. Н. НЕМОВА, академик РАН, д. б. н., проф.; О. ОВАСКАЙНЕН, доктор математики, проф. (Финляндия); О. Н. ПУГАЧЕВ, академик РАН, д. б. н.; С. А. СУББОТИН, доктор биологии (США); Д. А. СУБЕТТО, д. г. н.; Н. Н. ФИЛАТОВ, член-корр. РАН, д. г. н., проф.; Т. Э. ХАНГ, доктор географии (Эстония); П. ХЕЛЬТТЯ, доктор геологии, проф. (Финляндия); К. ШАЕВСКИЙ, доктор математики, проф. (Польша); В. В. ЩИПЦОВ, д. г.-м. н., проф.

Редакционная коллегия серии «Экспериментальная биология»

А. М. АНДРЕЕВА, д. б. н.; Т. О. ВОЛКОВА, д. б. н.; А. С. ГОРЮНОВ, к. ф.-м. н., доцент; В. А. ИЛЮХА (отв. редактор), д. б. н., доцент; Н. М. КАЛИНКИНА, д. б. н.; О. Н. ЛЕБЕДЕВА, к. б. н., доцент; Е. М. МАТВЕЕВА, к. б. н.; А. Ю. МЕЙГАЛ, д. м. н., проф.; Н. Н. НЕМОВА (зам. отв. редактора), академик РАН, д. б. н., проф.; Л. П. СМИРНОВ, д. б. н.; Л. В. ТОПЧИЕВА (отв. секретарь), к. б. н.; Н. П. ШАРОВА, д. б. н.

Издается с января 2009 г.

Адрес редакции: 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

Тел. (8142)762018; факс (8142)769600

E-mail: trudy@krc.karelia.ru

Электронная полнотекстовая версия: <http://transactions.krc.karelia.ru>; <http://journals.krc.karelia.ru>

© ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 2023

© Институт биологии КарНЦ РАН, 2023

© Институт леса КарНЦ РАН, 2023

Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences

TRANSACTIONS

**of the KARELIAN RESEARCH CENTRE
of the RUSSIAN ACADEMY of SCIENCES**

No. 7, 2023

EXPERIMENTAL BIOLOGY

Petrozavodsk
2023

Editor-in-Chief

A. F. TITOV, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.

Editorial Council

A. M. ASKHABOV, RAS Academician, DSc (Geol.-Miner.), Prof.; O. N. BAKHMET (Deputy Editor-in-Chief), RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.); I. V. DROBYSHEV, PhD (Biol.) (Sweden – Canada); N. N. FILATOV, RAS Corr. Fellow, DSc (Geog.), Prof.; T. E. HANG, PhD (Geog.) (Estonia); P. HÖLTTÄ, PhD (Geol.), Prof. (Finland); E. V. IVANTER, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; H. JOOSTEN, Dr. (Biol.), Prof. (Germany); A. M. KRYSHEN', DSc (Biol.); E. V. KUDRYASHOVA, DSc (Phil.), Prof.; O. L. KUZNETSOV, DSc (Biol.); N. V. LUKINA, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; V. V. MAZALOV, DSc (Phys.-Math.), Prof.; N. N. NEMOVA, RAS Academician, DSc (Biol.), Prof.; O. OVASKAINEN, PhD (Math.), Prof. (Finland); O. N. PUGACHYOV, RAS Academician, DSc (Biol.); V. V. SHCHIPTSOV, DSc (Geol.-Miner.), Prof.; S. A. SUBBOTIN, PhD (Biol.) (USA); D. A. SUBETTO, DSc (Geog.); K. SZAJEWSKI, PhD (Math.), Prof. (Poland); A. V. VORONIN, DSc (Tech.), Prof.

Editorial Board of the Experimental Biology Series

A. M. ANDREEVA, DSc (Biol.); A. S. GORYUNOV, PhD (Phys.-Math.), Assistant Prof.; V. A. ILYUKHA (Editor-in-Charge), DSc (Biol.), Prof.; N. M. KALINKINA, DSc (Biol.); O. N. LEBEDEVA, PhD (Biol.), Assistant Prof.; E. M. MATVEEVA, PhD (Biol.); Assistant Prof.; A. Yu. MEIGAL, DSc (Med.), Prof.; N. N. NEMOVA (Deputy Editor-in-Charge), RAS Academician, DSc (Biol.); N. P. SHAROVA, DSc (Biol.); L. P. SMIRNOV, DSc (Biol.); L. V. TOPCHIEVA (Executive Secretary), PhD (Biol.); T. O. VOLKOVA, DSc (Biol.).

Published since January 2009

8 issues a year

Editorial Office address: 11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
Tel. (8142)762018; fax (8142)769600
E-mail: trudy@krc.karelia.ru
Full-text electronic version: <http://transactions.krc.karelia.ru>; <http://journals.krc.karelia.ru>

© Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, 2023
© Institute of Biology, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 2023
© Forest Research Institute, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 2023

УДК 591 525

АНАЛИЗ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ИХ ДИНАМИКИ НА ПРОТЯЖЕНИИ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА РЫЖЕЙ ПОЛЕВКИ *MYODES (CLETHRIONOMYS) GLAREOLUS* SCHR. СООБЩЕНИЕ I. МАССА ТЕЛА, ИНДЕКСЫ СЕРДЦА И ПЕЧЕНИ

Э. В. Ивантер

Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910)

Анализируется динамика морфофизиологических признаков на протяжении жизненного цикла рыжей полевки *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. в условиях северной периферии ареала. По полученным данным, принадлежащие к весенне-летним поколениям прибылые этого вида характеризуются исключительно высоким темпом генеративного развития и роста и соответствующим увеличением основных интерьерных показателей. Особям же поздних поколений свойственно медленное нарастание массы внутренних органов к осени, небольшой его спад в зимний период, а затем, уже весной, быстрое созревание и рост, сопровождающийся резким увеличением морфофизиологических индексов. Степень изменчивости интерьерных показателей, как правило, чрезвычайно высока, причем наибольшей вариабельностью отличается величина селезенки, за ней в порядке убывания следуют размеры тимуса, надпочечников, печени, сердца, почек и длины кишечника. Из-за мелких размеров тела и большой относительной величины поверхности теплоотдачи у животных изученного вида наблюдается очень высокий уровень метаболизма и сердечной деятельности. Большие энергетические потребности и связанный с ними постоянный термический дефицит они компенсируют исключительной лабильностью адаптивных реакций, проявляющейся в закономерной сезонно-возрастной динамике основных морфофизиологических (интерьерных) показателей. Установлено, в частности, что в основе приспособительных реакций, направленных на успешную перезимовку, лежит минимизация обменных процессов, снижение энергозатрат и общее торможение процессов жизнедеятельности.

Ключевые слова: динамика морфофизиологических индексов; интерьерные показатели; зимняя депрессия; возрастные поколения; степень изменчивости

Для цитирования: Ивантер Э. В. Анализ морфофизиологических показателей и их динамики на протяжении жизненного цикла рыжей полевки *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. Сообщение I. Масса тела, индексы сердца и печени // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 5–21. doi: 10.17076/eb1737

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (ОКНИ КарНЦ РАН).

E. V. Ivanter. ANALYSIS OF MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND THEIR DYNAMICS DURING THE LIFE CYCLE OF THE BANK VOLE *MYODES (CLETHRIONOMYS) GLAREOLUS* SCHR. NOTE I. BODY WEIGHT, HEART AND LIVER INDICES

Department for Multidisciplinary Scientific Research, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

The paper analyzes the dynamics of morphophysiological parameters during the life cycle of the bank vole *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. in the northern periphery of the species' range. The study has shown that individuals of the spring and summer generations are characterized by an exceptionally high rate of development and growth, and a corresponding increase in the main internal parameters. The pattern in later-born individuals is a slow weight gain of internal organs until autumn and its slight decrease during the winter, which in spring however is succeeded by rapid maturation and growth accompanied by a sharp increase in morphophysiological indices. The level of variability of the internal features is usually very high, being the highest for spleen size, followed in descending order by the size of thymus, adrenal glands, liver, heart, kidneys, and length of intestine. Because of the small size of the body and the large relative size of the heat transfer surface, animals of this species have very high metabolic and cardiac activity levels. Small mammals offset the high energy demand and the related constant thermal deficit by the exceptional lability of adaptive reactions, which is manifested in the regular seasonal and age-related dynamics of the main morphophysiological (internal) indices. It has been established that the adaptive reactions aimed at successful overwintering are based on minimization of metabolic processes, reduction of energy expenditure, and a general inhibition of vital processes.

Keywords: dynamics of morphophysiological indices; internal indicators; winter depression; age generations; variability

For citation: Ivanter E. V. Analysis of morphophysiological parameters and their dynamics during the life cycle of the bank vole *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. Note I. Body weight, heart and liver indices. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 5–21. doi: 10.17076/eb1737

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS (DMSR KarRC RAS).

Введение

Разработанный академиком С. С. Шварцем [1953, 1956, 1958, 1960] метод морфофизиологических индикаторов нашел достаточно широкое применение в практике полевой и экспериментальной экологии. Не забыт он и сегодня [Малахов, 2007; Ивантер, 2018], хотя долгая и достаточно противоречивая история его становления многое расставила по своим местам и помогла избавиться от присущего ему когда-то излишнего наукообразия и псевдомодернистской привлекательности для молодежи. Вместе с тем его использование по-прежнему связано с рядом серьезных трудностей, главная из которых – адекватная экологическая интерпретация полученных данных. При этом единственным реальным путем преодоления этих трудностей продолжает оставаться дальнейшее углубленное исследование интерьерных показателей различных видов животных,

накопление большого и достоверного фактического материала, особенно по видам, экологическая изученность которых по-прежнему оставляет желать много лучшего. Все это в полной мере относится к традиционному для популяционной экологии предмету исследований – мелким млекопитающим, и в частности, к самому, пожалуй, широко распространенному и многочисленному их представителю в Палеарктике – рыжей полевке.

В настоящей работе сделана попытка расширить и углубить сведения о морфофизиологических особенностях этого вида, существующего в Восточной Фенноскандии в условиях северной периферии ареала. Подобный подход предполагает широкое экологическое освещение интерьерных показателей и соответствующий анализ морфофизиологических механизмов адаптаций животных разного пола, возраста и принадлежности к определенным внутривидовым группировкам к сезон-

ным и непериодическим изменениям внешних условий, а также рассмотрение этих процессов в развитии на протяжении полного жизненного цикла животного и в связи с закономерными колебаниями массы тела.

Материалы и методы

Материал собирался в основном на территории Восточной Фенноскандии, куда, помимо Карелии и Восточной Финляндии, входит южная часть Кольского полуострова и Карельский перешеек Ленинградской области, в течение 1967–2010 гг. За это время методом морфофизиологических индикаторов исследовано 1210 экз. рыжих полевков. Животных отлавливали круглогодично давилками (капканчиками Геро), линии которых равномерно распределялись по всем обследуемым биотопам. Техника обработки добытых зверьков соответствовала рекомендациям С. С. Шварца с соавторами [1968]. Массу тела определяли на технических, а позднее и электронных весах с точностью до 0,1 г, а размеры внутренних органов (сердца, тимуса, почек, надпочечников, печени, селезенки, центрального жирового включения) – на торсионных с точностью до 0,001 г. Парные органы (почки, надпочечники, жировое включение) взвешивались вместе. Анализировали абсолютный и относительный размер (массу) органов. Индекс (относительный размер, вес (или массу)) вычисляли в промилле (‰), т. е. как отношение массы органа (мг) к массе тела (г). Индекс кишечника (%) определяли путем деления его длины (измеренной в расправленном, но не растянутом состоянии) на длину тела зверька. Методы статистической обработки общепринятые [Ивантер, 1979; Ивантер, Коросов, 1992, 2014].

Результаты и обсуждение

Масса тела представляет собой экологически чрезвычайно емкий и при этом наиболее показательный морфофизиологический параметр мелких млекопитающих. Как и индексы органов, он испытывает весьма характерные сезонно-возрастные изменения, которые у рыжей полевки приобретают закономерный характер и зависят от времени рождения зверьков (рис. 1; табл. 1). Полевки майских и июньских выводков (ранние генерации) растут очень быстро, особенно в первые три месяца жизни. Животные летне-осеннего рождения, напротив, отличаются низким темпом весового роста. К концу осени они приобретают минимальные размеры, перезимовывают в таком

состоянии и лишь весной следующего года, образуя группу зимовавших, резко увеличивают скорость роста («весенний скачок»).

Связь полового созревания молодых полевок разного времени рождения со скоростью их роста помимо рисунка иллюстрируют следующие цифры. По многолетним данным, средние размеры (масса) тела у сеголеток ранних выводков в первый месяц их появления в уловах (в июне) составили 13,2 г, а у прибылых поздних выводков (в июле) – 13,0 г. Следовательно, скорость роста в гнезде у них приблизительно одинаковая. Однако в дальнейшем они все более различаются. На втором месяце жизни (в июле) прибылые раннего рождения имеют среднюю массу тела 19,3 г, тогда как сеголетки поздних выводков в том же календарном возрасте (в августе) – только 14,4 г. На третьем месяце жизни у прибылых ранних выводков она составляет 22,2 г, тогда как у поздних – 15,3 г. Если самцы и самки ранних генераций в первый месяц самостоятельной жизни по отношению к сходным показателям прибавляют 6,3 г (46,2 %), то прибылые ранних выводков – только 1,4 г (10,7 %). Привес за второй месяц у ранних прибылых равен 2,9 г (15 %), у поздних – 1,1 г (7,6 %). К третьему месяцу жизни масса тела прибылых ранних выводков составила по отношению к размерам при выходе из гнезда 168 % (прирост 9 г), а у прибылых позднего рождения – 116 % (2,3 г).

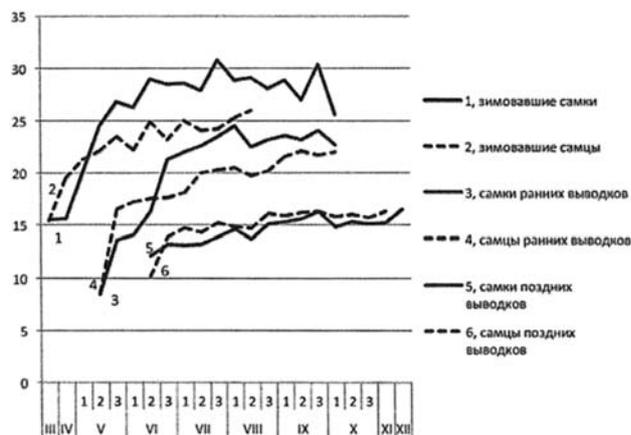


Рис. 1. Весовой рост зимовавших и прибылых рыжих полевок разного времени рождения.

По оси абсцисс – месяцы; по оси ординат – масса тела, г

Fig. 1. Weight growth of overwintered and young bank voles of different birth time:

1, 2 – wintered males and females; 3, 4 – females and males of early broods; 5, 6 – females and males of late broods. X-axis – months, Y-axis – bodyweight, g

Непосредственной причиной показанных в табл. 1 различий в темпах роста и развития зверьков разных генераций может быть прямое воздействие среды [Ивантер, 1975, 1978]. У полевок, родившихся весной, период роста падает на наиболее благоприятное время, отсюда и высокая скорость их роста и созревания. Полевки же из поздних выводков развиваются на фоне менее благоприятных условий (низкие температуры, ненастье, дефицит кормов), поэтому рост их замедлен. Косвенным подтверждением этого служит тот факт, что при изменении экологических условий (например, в ситуациях высокой и низкой численности) интенсивность роста и развития сеголеток меняется. В годы депрессии численности она минимальна, а в годы пика – максимальна. К тому же и упитанность (а не только темпы роста и развития) оказывается у зверьков осенней генерации заметно ниже, чем у зимовавших и прибылых ранних выводков. С другой стороны, нельзя совершенно исключить роль генетических факторов, поскольку ранние и поздние генерации

имеют разное происхождение и неодинаковый генофонд.

В 1950–1970-е годы в зоологической литературе появилось достаточно много сообщений о наличии у мелких лесных грызунов явления зимней регрессии массы тела [Chitty, 1952; Wasilewski, 1952, 1956a, b; Крыльцов, 1957; Reichstein, 1962, 1964; Покровский, 1963, 1966; Ильенко, Зубчанинова, 1963; Оленев, 1964; Haitlinger, 1965; Покровский, Большаков, 1969, 1979; Овчинникова, 1970; Бойкова, Бойков, 1972; Kaikusalo, 1972; Sawicka-Kapusta, 1974; Fedyk, 1977; Пантелеев, Терехина, 1980; Пантелеев, 1983]. Однако в отличие от знаменитого эффекта Денеля, описанного у землероек [Ивантер и др., 1972], у грызунов зимняя регрессия затрагивает лишь общие размеры (массу) тела и к тому же проявляется не так отчетливо, как у бурозубок.

Изучение сезонных колебаний массы тела у рыжих полевок Карелии (рис. 1) позволяет выявить два сезонных минимума, соответствующих критическим периодам в жизни прибылых

Таблица 1. Сезонно-возрастные изменения веса тела рыжей полевки (г)

Table 1. Seasonal and age-related changes in the body weight of the bank vole (g)

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	Количество Number	lim	M ± m	σ	С _p	
Самцы Males							
Прибылые Young	Ранние Early	Лето Summer	249	8,5–35,1	18,6 ± 0,2	3,6	19,2
		Осень Autumn	4	12,6–17,7	15,9 ± 1,1	2,3	14,5
	Поздние Late	Лето Summer	227	6,4–24,1	15,6 ± 0,2	3,0	19,0
		Осень Autumn	118	10,0–23,9	15,9 ± 0,2	2,3	14,2
		Зима Winter	5	14,4–16,3	15,3 ± 0,2	0,5	3,3
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	12	13,8–27,3	21,9 ± 0,8	2,9	13,2	
	Лето Summer	135	18,6–33,7	24,9 ± 0,3	3,1	12,3	
	Осень Autumn	3	21,5–23,3	22,9		–	
Самки Females							
Прибылые Young	Ранние Early	Лето Summer	153	9,0–39,0	20,7 ± 0,4	5,5	26,8
		Осень Autumn	26	11,1–26,4	20,8 ± 0,8	4,1	19,7
	Поздние Late	Лето Summer	118	8,6–26,9	14,8 ± 0,3	3,1	21,1
		Осень Autumn	71	11,1–24,3	16,1 ± 0,3	2,5	15,6
		Зима Winter	10	13,6–18,5	15,6 ± 0,2	0,8	5,1

зверьков. Первый – осенний (вторая половина октября), когда снежный покров еще не установился, плохо защищает животных и энергетические траты их вследствие холодной погоды возрастают, и второй – среднезимний (в декабре-январе), связанный с наступлением сильных и длительных холодов, но менее выраженный, очевидно, из-за надежной снежной защиты и завершения перестройки терморегуляции зверьков на зимний вариант.

Как известно, наиболее распространенным объяснением предзимнего и зимнего снижения массы тела у мелких млекопитающих является «энергетическая гипотеза». По В. А. Межжерину [1968], «уменьшение размеров тела к зиме и зимой, которое отмечается у ряда видов птиц и млекопитающих, можно рассматривать как движение системы к ее энергетическому оптимуму, что в условиях недостатка пищи и низких температур следует признать целесообразным» (с. 109). С этой точки зрения мелкие размеры и связанная с ними незрелость, очевидно, способствуют более успешной перезимовке зверьков, так как потребности у них меньше, а устойчивость к неблагоприятным воздействиям выше.

На адаптивный характер явления зимней регрессии массы тела указывают, в частности, закономерные географические изменения ее величины и выраженности. По данным Я. Зейды [Zejda, 1971], в Центральной Европе рыжие полевки наиболее приспособлены к перенесению неблагоприятных условий зимы при массе 20 г, в Польше – 18 г, в Швеции – 16 г. Если присовокупить к этому наши данные по Карелии (15–16 г) и В. Г. Оленева [1964] по Уралу (14–17 г), то вырисовывается достаточно четкая географическая закономерность, согласно которой вес тела, благоприятный для зимовки, постепенно снижается. Аналогичный феномен мы обнаружили и у землероек [Ивантер и др., 1972; Ивантер, 1974]: выраженность и амплитуда предзимнего и зимнего падения массы, сокращения длины тела и уплощения черепной коробки, т. е. всего, что составляет явление Денеля, также заметно возрастает и проявляется более отчетливо при продвижении с юга на север.

На нашем материале прослеживается достаточно четкая связь размеров тела полевок с фазами популяционного цикла. В периоды спада численности и депрессии (1967-1968, 1971-1972, 1974-1975, 1987-1988, 1991-1992, 2002, 2007-2008, 2010-2012 гг.) средняя масса тела грызунов была достоверно ниже, чем при нарастании плотности максимальной численности (1966, 1969-1970, 1973, 1989, 2003,

2013-2014). Это прослеживается по всем возрастным и половым группам, но в разной степени. У зимовавших и особенно прибылых ранних генераций увеличение темпов весового роста в годы подъема численности полевок и соответствующее снижение весовых показателей в фазе депрессии проявляется наиболее четко. В то же время у полевок позднего рождения эта связь выражена слабее.

Коэффициенты вариации массы тела рыжей полевки свидетельствуют о наличии годовой, сезонно-возрастной и половой индивидуальной изменчивости данного показателя. Наиболее вариабельна масса тела в годы подъема численности зверьков. У самцов диапазон индивидуальной изменчивости ниже, чем у самок (коэффициенты вариации в среднем по всем возрастным группам составляют 16,5 и 21,8 %), а у зимовавших – ниже, чем у молодых (14,9 против 19,2 %). В общем изменчивость размеров тела колеблется у рыжей полевки от 4–6 % (у поздних прибылых зимой) до 21–27 % (сеголетки ранних выводков летом). Это говорит о сравнительно небольшом диапазоне индивидуальной изменчивости рыжих полевок по массе тела и противоречит традиционным представлениям о крайней вариабельности этого показателя, препятствующей его использованию в качестве одного из показательных морфофизиологических индикаторов.

Сердце. Согласно многочисленным исследованиям [Hesse, 1921; Rensch, 1948; Шварц, 1958, 1960; Большаков, 1970], размеры сердца млекопитающих находятся в основном под контролем двух факторов: общей величины тела (обуславливающей интенсивность обмена веществ) и моторной активности животного (определяющей энергетические затраты при движении). С этих позиций по относительной величине сердца, колеблющейся от 5,9 до 7,8 % (табл. 2), рыжая полевка по праву занимает промежуточное положение между более подвижными землеройками (у которых индекс сердца находится в пределах 10–13 ‰) и отличающимися сравнительно небольшой двигательной активностью серыми полемками (около 5 ‰). Это соответствует и «правилу величины» Гессе: при расположении мелких млекопитающих по массе тела и индексу сердца место рыжей полевки в последовательных рядах видов в обоих случаях неизменно сохраняется в центре. Таким образом, показатели величины сердца характеризуют рыжую полевку как вид со средней скоростью передвижения и относительно невысокой интенсивностью обмена веществ. Известно, что у большинства млекопитающих рост сопровождается уменьшением

относительной массы (индекса) сердца, что может быть истолковано как следствие падения интенсивности обмена веществ с возрастом [Шварц, 1958, 1960; Шварц и др., 1968; Шварц, Башенина, 1969, 1977]. Однако, как показывают наши данные по рыжим полевкам (табл. 2; рис. 2), указанная закономерность у этого вида часто нарушается из-за периодического отставания весового роста органа от роста всего тела. Кроме того, конкретный ход развития сердечного индекса не тождествен у зверьков разных генераций. У прибылых полевок весенне-летнего рождения относительные размеры органа изменяются асинхронно с абсолютными (табл. 2; рис. 2).

Если последние, изменяясь пропорционально массе тела, сначала демонстрируют быстрое увеличение показателей (на 18,1 % у самцов и 68,6 % у самок), а затем, после кратковременной стабилизации, небольшое их снижение (на 1,5–8,7 %), то индекс сердца почти не изменяется, демонстрируя тенденцию к снижению лишь в самые последние месяцы жизни.

Иначе, и при этом параллельно по абсолютным и относительным показателям, изменяются размеры сердца у прибылых поздних выводков. С июля по сентябрь, при почти неизменной массе тела, величина органа постоянно увеличивается (на 6,0–12,8 % абсолютная масса и на 10,4–16,2 % относительная), в октябре падает (возможно, это реакция на резкое изменение температурных условий), а затем, начиная с ноября, снова возрастает, достигая максимума в середине зимы. В дальнейшем (в группе зимовавших полевок) абсолютные и относительные размеры сердца сначала снижаются, а потом наблюдается отчетливый весенне-летний подъем и наконец последнее осеннее снижение. Масштабы этих изменений не столь значительны, как у землероек, однако не менее закономерны и имеют, очевидно, аналогичную природу. Зимнее увеличение размеров сердца (по абсолютным показателям – 10,0–20,0 %, а по индексу – 11,1–19,7 % от осенних цифр), вероятнее всего, объясняется метаболической акклимацией к сезонным условиям [Слоним, 1961, 1962; Оленев, 1964; Sakai, 1976; Оленев и др., 1979, 1980] и отчасти увеличением динамической нагрузки в связи с возрастанием моторной активности [Becker, 1954; Velten, 1954; Ивантер и др., 1985]. Таким образом, по рассматриваемому признаку различия между зверьками разных возрастных групп проявляются довольно отчетливо, что, безусловно, связано как с особенностями весового роста, так и со спецификой образа жизни полевок разного

времени рождения. Аналогичную картину, как мы увидим ниже, демонстрируют и другие интерьерные показатели.

Половые отличия по размерам сердца носят у рассматриваемого вида несколько противоречивый характер. У взрослых зверьков во все месяцы, кроме апреля и августа, самцы имеют в общем несколько большую относительную величину органа, однако по абсолютным показателям в ряде случаев (например, в июле)

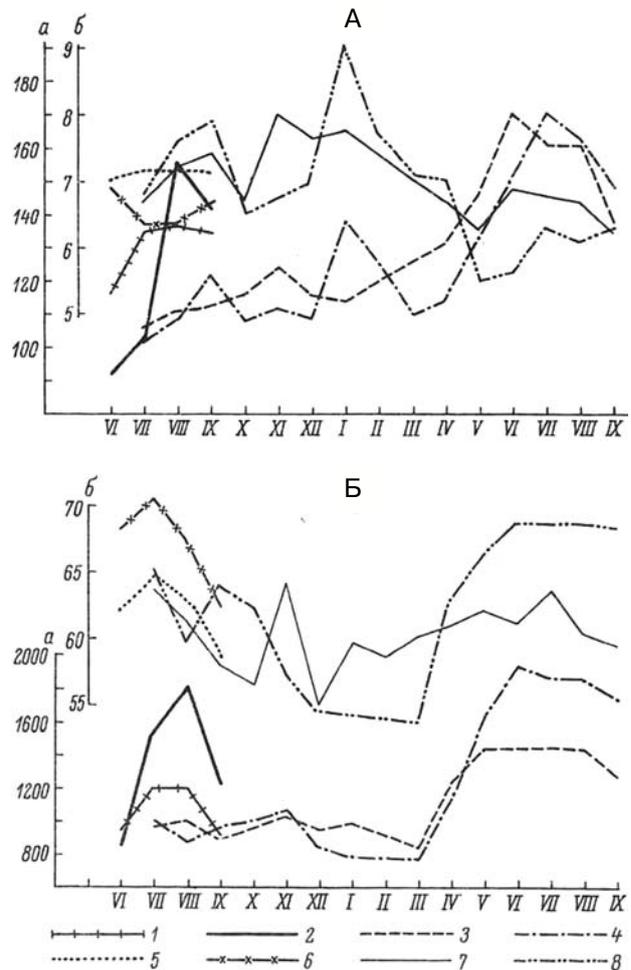


Рис. 2. Сезонно-возрастные изменения массы сердца (А) и печени (Б) рыжих полевок разного времени рождения.

Абсолютные показатели: 1, 2 – самцы и самки ранних выводков; 3, 4 – самцы и самки поздних выводков; относительные показатели (индексы): 5, 6 – самцы и самки ранних выводков, 7, 8 – поздних выводков. По оси абсцисс – месяцы; по оси ординат: а – масса органа, мг; б – индекс, %

Fig. 2. Seasonal and age-related changes in the mass of the heart (A) and liver (B) of bank voles of different birth time.

Absolute indicators: 1, 2 – males and females of early broods; 3, 4 – males and females of late broods; relative indicators (indices): 5, 6 – males and females of early broods, 7, 8 – late broods. X-axis – months; Y-axis: a – organ mass, mg; б – index, %

Таблица 2. Сезонно-возрастные изменения абсолютных и относительных размеров сердца и печени у рыжей полевки Карелии

Table 2. Seasonal and age-related changes in the absolute and relative sizes of the heart and liver of the bank vole in Karelia

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	n	Абсолютный показатель, мг Absolute indicator, mg				Индекс, ‰ Index, ‰			
			lim	M ± m	σ	C _v	lim	M ± m	σ	C _v
Сердце Heart										
Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	130	78–302	134,0 ± 2,8	31,9	23,8	4,3–11,9	7,1 ± 0,1	1,1	15,7
	Осень Autumn	2	127; 143	135,0	–	–	7,0; 7,2	7,1	–	–
Поздние Late	Лето Summer	90	62–189	108,0 ± 2,0	20,5	19,0	5,1–12,3	6,9 ± 0,1	1,1	16,5
	Осень Autumn	59	85–170	115,2 ± 1,9	14,6	12,7	5,5–11,1	7,0 ± 0,1	1,0	14,8
	Зима Winter	4	102–153	117,2 ± 13,1	22,3	19,0	6,6–9,4	7,6 ± 0,5	1,0	13,1
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	24	100–257	144,3 ± 6,2	30,2	20,9	5,1–10,8	6,4 ± 0,2	1,2	18,7
	Лето Summer	70	99–248	162,6 ± 3,6	29,9	18,4	5,1–12,8	6,8 ± 0,2	1,4	20,3
	Осень Autumn	2	131; 145	138,0	–	–	6,0; 6,4	6,2	–	–
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	56	59–205	132,4 ± 3,5	26,3	13,9	4,2–8,9	6,4 ± 0,2	1,2	18,5
	Осень Autumn	4	126–171	142,5 ± 7,0	21,1	14,8	6,0–6,9	6,7 ± 0,1	0,3	3,7
Поздние Late	Лето Summer	78	75–157	105,3 ± 2,1	18,8	17,9	4,3–10,5	7,1 ± 0,1	1,3	18,1
	Осень Autumn	38	84–152	110,9 ± 2,7	16,6	15,0	5,3–10,5	6,8 ± 0,1	0,9	13,5
	Зима Winter	8	100–160	119,1 ± 4,9	13,9	11,6	6,0–11,8	7,8 ± 0,5	1,5	19,2
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	14	9,7–164	127,4 ± 4,5	16,8	13,2	4,2–9,5	5,9 ± 0,3	1,1	19,5
	Лето Summer	55	100–297	164,0 ± 6,2	46,0	27,6	3,4–12,6	6,2 ± 0,2	2,7	27,4
	Осень Autumn	3	120–176	148,3 ± 20,0	28,0	18,8	6,3–6,6	6,4 ± 0,2	0,2	3,1
Печень Liver										
Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	131	440–2100	1176 ± 25	284	24,1	27,4–93,3	63,6 ± 1,0	11,4	18,0
Поздние Late	Лето Summer	83	395–1700	993 ± 31	281	28,3	20,6–89,4	62,3 ± 1,2	10,8	17,4
	Осень Autumn	55	657–1640	963 ± 14	106	11,0	40,5–76,5	57,8 ± 0,6	4,8	8,3
	Зима Winter	3	650–1300	1050 ± 248	350	33,3	44,0–81,7	66,4 ± 14,1	19,9	30,0

Окончание табл. 2
Table 2 (continued)

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	n	Абсолютный показатель, мг Absolute indicator, mg				Индекс, ‰ Index, ‰			
			lim	M ± m	σ	C _v	lim	M ± m	σ	C _v
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	23	750–1900	1416 ± 42	203	14,4	45,2–73,7	61,7 ± 1,5	7,1	11,6
	Лето Summer	75	908–2000	1449 ± 31	269	18,6	38,7–80,5	62,1 ± 1,0	8,8	14,1
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	53	700–3500	1525 ± 35	256	16,8	41,6–106,0	71,4 ± 1,8	12,8	17,9
	Осень Autumn	4	1000–1500	1237 ± 124	214	17,3	51,0–66,0	15,7 ± 3,6	6,2	10,8
Поздние Late	Лето Summer	77	520–2050	953 ± 30	26,0	27,3	31,4–80,6	62,6 ± 0,9	8,0	12,8
	Осень Autumn	36	740–1800	996 ± 30	181	18,1	48,9–114,9	62,9 ± 2,2	13,3	21,2
	Зима Winter	8	820–1100	860 ± 57	162	18,8	49,0–59,5	55,9 ± 2,8	7,8	13,9
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	15	800–2050	1504 ± 72	279	18,6	53,9–77,7	65,1 ± 1,7	6,7	10,3
	Лето Summer	54	960–2700	1889 ± 59	434	22,9	42,9–95,0	68,4 ± 1,5	10,8	15,8
	Осень Autumn	3	1289–1870	1666 ± 232	328	19,7	67,6–77,2	72,1 ± 2,8	4,8	6,7

наблюдаются обратные соотношения. У прибылых ранних выводков и по абсолютной массе, и по индексу сердца лидируют самцы, а у поздних – в одни месяцы самцы, в другие – самки.

Еще неопределеннее биотопические различия. Они не только статистически недостоверны (что можно было бы отнести на счет небольших масштабов и относительно небольшого объема материала), но и не совпадают у полевок разного возраста. Так, если у зимовавших зверьков наибольшим индексом сердца характеризуются особи из лиственных и сосновых лесов, а наименьшим – из ельников, то в группе прибылых, напротив, на первом месте по величине индекса стоят полевки из ельников и культурных участков, а на последнем – зверьки из лиственных и сосновых лесов.

Годовые изменения относительных размеров сердца более существенны и закономерны, причем как у молодых, так и у взрослых полевок, однако, судя по тому, что они демонстрируют четкую обратную связь с годовыми изменениями массы тела, зависимость их от экологических условий отдельных лет вряд ли имеет место. Так, наименьшим индексом сердца отличались полевки, добытые в 1966, 1969–1971, 1973, 1989, 2003 и 2013–2014 гг., отличавшиеся

самым высоким уровнем численности зверьков и максимальными показателями их массы тела, тогда как наибольшие значения индексов получены в 1967–1968, 1972, 1987–1988, 1991–1992, 2007–2008 гг. при стойкой депрессии численности животных и соответствующем снижении показателей их массы тела.

Отрицательная корреляция относительной массы сердца с размерами тела прослеживается и при внутригрупповом сравнении. При этом, как и у обыкновенной бурозубки [Ивантер, 1974; Ивантер и др., 1985], наиболее тесная связь рассматриваемых показателей наблюдается в период приостановки или завершения весового роста животных – у молодых осенью и зимой, а у зимовавших – летом. Величина коэффициента корреляции составила для этих групп соответственно $0,58 \pm 0,10$, $-0,46 \pm 0,13$ и $-0,51 \pm 0,1$. В то же время в отдельные периоды в связи с неравномерностью весового роста тела и органа, а также из-за вмешательства различных экологических, в том числе и внутривидовых факторов корреляция нарушается: у молодых летом $r = -0,11 \pm 0,07$, у зимовавших весной $r = -0,20 \pm 0,06$.

Индивидуальная изменчивость абсолютных и относительных размеров сердца сравни-

тельно невелика (табл. 3): коэффициент вариации этих показателей по всем возрастным и половым группам находится в пределах от 3,1–3,7 % (сентябрьские серии размножающихся самок) до 21,3–30,0 % (половозрелые самцы и самки в июле). Хотя в большинстве случаев изменчивость относительных размеров органов несколько больше, чем абсолютных, имеются и обратные соотношения (например, в группах поздних прибылых в сентябре, зимовавших самок в июне и августе, молодых самок в августе и сентябре и зимовавших самок в течение всего сезона). Четких возрастных и половых отличий по уровню изменчивости величины сердца не выявлено. Тем не менее у зимовавших полевков коэффициент вариации во всех случаях выше, чем у прибылых ранних и поздних выводков (в среднем по летним сериям 23,3 % против 15,2 и 17,3 %), а у самцов ниже, чем у самок (соответственно 17,1 и 20,5 %). В общем изменчивость абсолютной величины сердца колеблется у рыжей полевки от 12,7 % (у поздних прибылых осенью) до 20,9 и 23,8 % (зимовавшие весной и ранние прибылые летом), а относительной – от 13,1–14,8 до 18,7–20,3 %. Таким образом, в целом наши материалы, причем по изменчивости размеров сердца как рыжей полевки, так и обыкновенной бурозубки [Ивантер, 1974], противоречат представлению о том, что изменчивость относительного размера

сердца во всех случаях несколько ниже изменчивости абсолютных [Яблоков, 1966].

Корреляция между относительными размерами сердца и массой тела довольно отчетлива и устойчива в большинстве половых и сезонно-возрастных групп. Вместе с тем вычисленные коэффициенты корреляции и регрессии, а также уравнения регрессии и построенные по ним линии показывают непрямолинейность и неоднородность этой связи на протяжении жизненного цикла животного. Знаменитое «правило рядов», согласно которому относительные размеры внутренних органов, в том числе и сердца млекопитающих, достигают у мелких видов большего развития [Rensch, Rensch, 1956], хотя и проявляется здесь, но более или менее затушевывается зависимостью интерьерных признаков от экологических особенностей животных и специфики вида.

Сопоставление данных из разных пунктов видового ареала (табл. 4) подтверждает установленную рядом авторов [Rensch, Rensch, 1956; Morrison, 1964; Большаков, 1965; Башенина, 1969, 1977; Варшавский, 1980] тенденцию к повышению индекса сердца в направлении с юга на север и северо-восток. Аналогичная закономерность прослеживается и при сравнении равнинных и горных популяций рыжих полевков: по мере продвижения в горы (с возрастанием высот) относительные размеры

Таблица 3. Изменчивость (C_v) абсолютных и относительных морфофизиологических показателей рыжей полевки

Table 3. Variability (C_v) of absolute and relative morphophysiological parameters of the bank vole

Исследованная группа Studied group	n	Масса тела Body mass	Сердце Heart	Печень Liver	Почки Kidneys	Селезенка Spleen	Надпочечники Adrenal glands	Тимус Thymus	Кишечник Intestines
Ранние прибылые Young (Early)									
Самцы Males	249	17,6	14,2	19,7	10,8	107,8	39,1	50,1	11,4
Самки Females	153	26,4	16,2	16,4	18,2	91,4	71,8	55,1	12,4
Поздние прибылые Young (Late)									
Самцы Males	290	18,1	17,1	16,8	13,2	127,6	31,5	38,7	14,9
Самки Females	118	21,1	17,6	12,9	19,4	95,0	86,8	32,4	14,7
Зимовавшие Overwintered									
Самцы Males	135	11,5	22,0	14,1	14,2	127,0	46,5	80,4	15,2
Самки Females	66	18,3	26,6	16,2	21,7	83,9	34,6	74,6	26,1

Таблица 4. Относительные размеры внутренних органов (весовой индекс, ‰) рыжей полевки в разных пунктах ареала (сравниваются взрослые самцы)

Table 4. Relative sizes of internal organs (weight index, ‰) of the bank vole at different points of the range (adult males are compared)

Место исследований Place of research	Масса тела, г Body weight, g	n	Сердце Heart	Печень Liver	Почки Kidneys	Источник Source
Карелия / Karelia	24,9	94	6,7 ± 0,1	62,2 ± 0,9	8,2 ± 0,1	Наши данные Author's data
Эстония / Estonia	25,3	26	7,9 ± 0,3	72,1 ± 0,9	9,8 ± 0,4	Башенина и др., 1981 Bashenina et al., 1981
Латвия / Latvia	24,6	42	6,3 ± 0,5	60,6 ± 1,2	7,6 ± 0,2	
Брестская обл. Белоруссии Brest Region of Belarus	23,8	47	7,1 ± 0,1	64,9 ± 0,7	7,7 ± 0,1	
Московская обл. Moscow Region	20,9	46	6,9 ± 0,1	55,5 ± 1,5	6,9 ± 0,2	
Приокско-Тerrasный заповедник Prioksko-Terrasny Reserve	22,5	15	6,6 ± 0,2	58,6 ± 3,8	6,8 ± 0,2	
Чувашия / Chuvashia	28,2	14	7,0 ± 1,6	57,2 ± 3,2	6,8 ± 0,3	
Кузнецкий Алатау Kuznetsk Alatau	21,8	80	7,6 ± 0,2	78,3 ± 1,5	8,9 ± 0,2	
Томская обл. Tomsk Region	22,8	9	7,2 ± 0,2	82,9 ± 5,2	7,7 ± 0,4	
Горная Шория Gornaya Shoria	23,9	54	7,4 ± 0,1	77,7 ± 0,4	6,7 ± 0,2	
Коми АССР / Komi AССР	-	17	6,3 ± 0,1	65,8 ± 1,4	8,2 ± 0,2	
Тюменская обл. Tyumen Region	-	5	6,4 ± 0,2	63,7 ± 2,2	7,4 ± 0,4	
Свердловская обл. Sverdlovsk Region	17,6	-	6,8 ± 0,2	61,2 ± 1,4	7,2 ± 0,2	Маринина, 1976 Marinina, 1976
северная часть northern part	-	9	6,9 ± 0,2	60,4 ± 2,2	7,0 ± 0,3	Большаков, 1965 Bol'shakov, 1965
южная часть southern part	-	15	5,0 ± 0,1	69,2 ± 1,7	7,0 ± 0,2	
Урал Ural	23,4	81	6,7 ± 0,3	50,8 ± 2,3	7,1 ± 0,2	Яскин, Лобанова, 1979 Yaskin, Lobanova, 1979
Башкирия / Bashkiria	-	14	5,5 ± 0,1	69,1 ± 2,8	6,6 ± 0,4	Большаков, 1965 Bol'shakov, 1965
	-	28	5,4 ± 0,1	66,5 ± 1,1	7,0 ± 0,2	
Оренбургская обл. Orenburg Region	20,3	121	7,2 ± 0,2	69,2 ± 1,1	-	Большаков, Васильев, 1975 Bol'shakov, Vasil'ev, 1975
Челябинская обл. Chelyabinsk Region	-	3	5,6 ± 0,5	73,4 ± 2,3	6,9 ± 0,4	Большаков, 1965 Bol'shakov, 1965
Пермская обл. Perm Region	24,9	22	7,0 ± 0,3	61,6 ± 2,7	7,6 ± 0,3	Башенина и др., 1981 Bashenina et al., 1981
Южный Урал Southern Urals	24,4	22	5,9 ± 0,1	63,6 ± 1,6	7,0 ± 0,2	Садыков, 1980 Sadykov, 1980
Удмуртия / Udmurtia	25,6	21	8,3 ± 0,2	70,5 ± 3,0	9,9 ± 0,3	Евдокимов, 1979 Evdokimov, 1979
Саратовская обл. Saratov Region						
Правобережье Right bank	21,0	44	7,2 ± 0,2	60,3 ± 0,3	-	Голикова, 1970 Golikova, 1970
Левобережье Left bank	25,6	51	7,8 ± 0,2	67,4 ± 0,2	-	
Чехия / Czech Republic						
Высокие Татры High Tatra	30,8	-	7,7 ± 0,2	65,0 ± 2,0	9,0 ± 0,2	Башенина и др., 1981 Bashenina et al., 1981
Южная Моравия South Moravia	24,9	-	6,8 ± 0,2	67,5 ± 3,2	8,7 ± 0,2	

сердца и некоторых других внутренних органов достоверно увеличиваются [Hesse, 1921, 1924; Мошковцев, 1935; Большаков, 1965, 1967, 1970; Башенина, 1981]. Тот факт, что увеличение индекса сердца с подъемом в горы соответствует его возрастанию при продвижении на север, говорит о связи рассматриваемого показателя с энергетической напряженностью организма, зависящей от теплопродуктивности. Интенсификация обмена веществ, одинаково необходимая и в более суровых горных, и в северных условиях, ведет к усилению нагрузки на сердце, нарастанию сердечной мышцы и увеличению весового индекса органа.

Итак, как показывают наши исследования, относительные размеры сердца являются довольно хорошим морфофизиологическим индикатором, четко улавливающим половые, возрастные, годовые и географические отличия в двигательной активности и связанной с нею и температурой среды способности к интенсификации обменных процессов. Тем не менее экологическая интерпретация его сезонных изменений представляет немалые трудности и требует осторожного подхода. Поскольку рост животного должен, очевидно, сопровождаться значительной энергетической напряженностью, можно полагать, что размеры сердца в первую очередь характеризуют зависящую от теплопродуктивности организма степень напряженности энергетического баланса в ответ на изменения температуры среды. Сезонные изменения относительной массы сердца можно, следовательно, объяснить реакцией на изменение температурных условий и особенностями роста полевок. Большое значение имеет, кроме того, изменение моторной активности животных, зависящей от условий среды и генеративного состояния [Оленев, 1964; Межжерин, Мельникова, 1966]. С этой позиции становится понятным увеличение размеров сердца соответственно снижению месячных температур. Последнее обстоятельство, как считает С. С. Шварц [1960], свидетельствует о том, что зимой у зверьков отмечается повышение двигательной активности, сопряженное с обеднением кормовой базы, и связанное с этим резкое усиление обменных процессов (затрат на движение и т. д.).

Печень. Как было показано нами ранее [Ивантер, 1976, 1978], для рыжих полевок Карелии характерны довольно крупные размеры печени, что обусловлено как разнообразием питания этого вида, так и повышенной способностью депонировать запасные питательные вещества перед размножением и на случай нарушения нормальных условий кормления

при резких изменениях погоды и доступности пищи. Ход сезонно-возрастных изменений абсолютной и относительной величины печени подтверждает этот вывод (табл. 2; рис. 1, Б). У прибылых полевок поздних выводков, не принимающих участие в размножении, изменения индекса можно объяснить только влиянием внешних факторов и процессами роста. У этой группы животных в течение всего лета и осени наблюдается равномерное снижение величины индекса печени с 63–65 ‰ в июле до 53–57 ‰ в декабре-январе (на 13–15 % от исходных цифр). Летнее падение относительной массы печени объясняется бурным ростом молодых животных, обгоняющих темпы увеличения размеров органа (абсолютные показатели с июля по ноябрь держатся на постоянном уровне). Лишь в конце осени происходит истинное снижение размеров печени, что влечет за собой падение индекса, несколько смягченное одновременным уменьшением массы тела. Это обусловлено ухудшением экологической обстановки (падение температуры воздуха, холодные дожди, заморозки на почве), вследствие чего нарушается нормальный ритм питания, повышается теплопродукция и усиливаются обменные процессы, связанные с перестройкой физиологических механизмов на зимний вариант. Все это вызывает увеличение расхода запасных питательных веществ, в том числе гликогена печени, и приводит к снижению размеров органа, достигающих минимума в середине зимы.

Весенне-летнее увеличение абсолютной и относительной массы печени у зимовавших и прибылых полевок ранних выводков связано с повышенной способностью создавать резервы питательных веществ в наиболее быстро мобилизуемой форме для обеспечения предстоящих больших энергетических затрат на размножение. В дальнейшем же, в связи с быстрым расходом запасенного в печени энергетического «топлива», величина органа у весенних размножающихся поколений резко снижается, и в сентябре-октябре они по этому показателю уже не отличаются от поздних прибылых.

Половые различия наиболее существенны в группе размножающихся зверьков, причем во всех случаях и абсолютные, и относительные показатели выше у самок (табл. 1). У прибылых ранних выводков в июне различия между полами по индексу печени (%) достигают 5,9, в июле – 8,0, в августе – 8,3, а у зимовавших – 6,1 (март-апрель), 3,8 (май), 8,7 (июнь), 5,3 (июль) и 8,1 (август). В то же время у прибылых поздних выводков четких половых отличий не обнаружено: в одни месяцы (например,

в августе, ноябре и декабре-январе) более высокий индекс наблюдается у самцов, в другие (июль, сентябрь-октябрь) – у самок. Значительное увеличение размеров печени у размножающихся самок по сравнению с самцами и неполовозрелыми особями объясняется способностью беременных самок создавать в печени запас гликогена даже при отрицательном энергетическом балансе, нередко в ущерб собственному организму [Шварц, 1959].

Различия по индексу печени между животными, добытыми в разных биотопах, статистически недостоверны и к тому же проявляются несогласованно у зверьков разного возраста. Годовые изменения более отчетливы, но они, как уже говорилось выше, объясняются в основном соответствующим варьированием веса тела. Однако наименьшие значения индекса печени совпадают с годами интенсивной репродукции полевок (1966, 1970, 1973, 1978, 1990, 2003, 2006), тогда как наиболее высокие индексы найдены в периоды слабой репродуктивной активности (1968, 1972, 1991, 1992, 2002, 2004, 2007). Возможно, это связано с вынужденным повышением энергетических затрат в первом случае.

Индивидуальная изменчивость относительных размеров печени на нашем материале более значительна у самцов, чем у самок, и выше у размножающихся зверьков по сравнению с неполовозрелыми (табл. 4). Так, в июне-августе коэффициент вариации индекса печени (%) у молодых ранних выводков составил 19,7, а у самок – 16,1; в группе прибылых поздних выводков разница столь же существенна – 16,8 и 12,9, сохраняется она и у зимовавших – 14,2 и 12,8. При этом изменчивость абсолютных показателей массы печени характеризуется такими же половыми и возрастными особенностями, но общий размах варьирования значительно шире: в среднем по всем сериям 22,4 % против 15,0 у индекса.

Выявление географических различий массы печени у рыжих полевок (табл. 4) представляет достаточно сложную задачу из-за крайней лабильности этого показателя и отсутствия у большинства авторов четких указаний на время сбора материала, возраст, пол и репродуктивное состояние изученных животных. И все же удается подметить некоторое увеличение размеров печени в северных популяциях вида по сравнению с южными, что объясняется филогенетически закрепленным свойством повышенного накопления гликогена в связи с изменчивостью северных экологических условий, приводящей к нарушению нормального режима кормления [Шварц, 1960; Большаков,

1965, 1970]. Наши данные по Карелии в целом подтверждают это правило: индекс печени у добытых здесь полевок (в среднем по всему материалу 65,4 ‰) оказался достоверно выше соответствующих показателей для более южных популяций и близким к данным, полученным в других среднетаежных регионах (табл. 3). Тем не менее, по справедливому замечанию Н. В. Башениной [1969], размеры печени, в отличие от некоторых других интерьерных показателей (например, индекса сердца), изменяются незакономерно как в пределах одного региона, так и в разных пунктах ареала. Сказанное подтверждает сделанные этим автором предположения о преобладающем влиянии кормовых условий. Последние затушевают географические различия, в том числе обусловленные изменениями общих размеров тела и связанной с ними интенсивности метаболизма, и приводят к нарушению «правила величины» в его географической модификации. Об отсутствии прямой связи относительных размеров печени с общей интенсивностью обмена веществ свидетельствуют также низкие значения коэффициента корреляции между индексом печени и массой тела (ни в одной из групп достоверной связи не обнаружено). Таким образом, и при внутривидовом сопоставлении по массе печени мы получаем исключение из «правила рядов» Гессе, свидетельствующее о накоплении углеводного «топлива» и энергетических тратах, обусловленных не величиной поверхности тела, а характером питания, потребностью в корме и обеспеченностью им в данных экологических условиях.

Особенно тесно связаны размеры печени с характером питания зверьков. Причем наиболее четко эта связь прослеживается в своеобразных сезонно-возрастных изменениях относительной величины органа, отражающих динамику накопления запасных питательных веществ на случай нарушения нормального режима питания. У неполовозрелых прибылых полевок на протяжении всего лета и осени происходит непрерывное снижение индекса печени (см. рис. 2), что указывает на значительный расход резервного гликогена в связи с процессами интенсивного роста, ухудшением экологических условий, повышением теплопродукции и перестройкой терморегуляции на зимний вариант. Весной начинается бурное увеличение размеров печени, обусловленное накоплением питательных веществ для обеспечения предстоящего размножения, а летом – новое падение индекса в связи с быстрым расходом резерва.

Заключение

Таким образом, сопоставление на популяционном уровне размеров тела и индексов сердца и печени рыжей полевки показывает, что все изученные интерьерные показатели имеют экологическую специфичность и в той или иной мере подчиняются «правилу величины» Гессе, то есть закономерно увеличиваются с уменьшением общих размеров полевки. Тем самым подтверждается известное положение о зависимости уровня основного обмена от теплоотдающей поверхности животного, находящейся в обратных соотношениях с массой тела. В то же время следует еще раз подчеркнуть, что прямая связь между интенсивностью метаболизма и величиной индексов, как правило, непропорциональна и неабсолютна. Более того, изученные внутренние органы демонстрируют разную степень, а нередко и разный характер такой связи. Например, если индекс сердца отражает в основном степень энергетических затрат на движение и поэтому в большей степени связан с моторной активностью и сложностью движений животных, то относительные размеры печени характеризуют ведущую роль этого органа в накоплении запасных питательных веществ и, следовательно, лишь косвенно связаны с общей интенсивностью обменных процессов [Ивантер и др., 1985].

Кроме того, как уже указывалось, сопряженность интерьерных показателей с уровнем основного обмена и теплопродукцией в значительной степени затушевывается в условиях Севера влиянием внешних и внутривидовых факторов. Тем не менее это ни в коей мере не обесценивает использованный нами метод морфофизиологических индикаторов, а напротив, расширяет сферу его применения, включая в нее экологический анализ подобных отклонений для выявления специфических реакций видов на разнообразные воздействия.

Литература

Башенина Н. В. Интерьерные показатели мелких грызунов и их связь с уровнем энергетического обмена // Уч. зап. Пермск. пед. ин-та. 1969. Т. 79. С. 75–116.

Башенина Н. В. Пути адаптации мышевидных грызунов. М.: Наука, 1977. 355 с.

Башенина Н. В. Внутренние органы и их пропорции // Европейская рыжая полевка. М.: Наука, 1981. С. 98–117.

Бойкова Ф. И., Бойков В. Н. Динамика изменений веса тела и основных морфофизиологических показателей у красной полевки в осенне-зимний период в Субарктике // Экология. 1972. № 2. С. 44–51.

Большаков В. Н. Материалы по сравнительному изучению близких видов полевки // Материалы по сравнительному изучению географической изменчивости интерьерных признаков. Тр. Ин-та биологии УФ АН СССР. Свердловск, 1965. Вып. 38. С. 53–60.

Большаков В. Н. О путях приспособления мелких млекопитающих к горным условиям // Бюл. МОИП. Отдел. биол. 1967. Т. 22, вып. 5. С. 151–157.

Большаков В. Н. Экологическая обусловленность некоторых интерьерных признаков мелких млекопитающих гор в связи с характером питания // Экология. 1970. № 6. С. 70–79.

Большаков В. Н., Васильев А. Г. Пространственная структура и изменчивость популяций рыжей полевки на южной границе ареала // Популяционная изменчивость животных. Свердловск: УНЦ СССР, 1975. С. 3–31.

Варшавский А. А. К изучению географической изменчивости интерьерных признаков грызунов // Грызуны: Матер. V Всесоюзн. совещ. М., 1980. С. 52–53.

Голикова В. Л. Популяционная изменчивость рыжей полевки в степном и лесостепном Поволжье // Вопросы физиологической и популяционной экологии. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1970. Вып. 1. С. 112–115.

Евдокимов Н. Г. Исследования механизмов восстановления численности искусственно разреженной популяции грызунов лесного биоценоза // Популяционная экология и изменчивость животных. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1979. С. 84–95.

Ивантер Э. В. Морфофизиологические особенности обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus* L.) в свете ее сезонной и возрастной экологии // Вопросы экологии животных. Петрозаводск: Карел. кн. изд-во, 1974. С. 36–94.

Ивантер Э. В. Популяционная экология мелких млекопитающих таежного Северо-Запада СССР. Л.: Наука, 1975. 247 с.

Ивантер Э. В. Питание и некоторые морфофизиологические особенности мышевидных грызунов Карелии // Экология птиц и млекопитающих Северо-Запада СССР. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1976. С. 68–95.

Ивантер Э. В. Возрастная структура популяций грызунов и ее адаптивное значение (на примере рыжей полевки Карелии) // Фауна и экология птиц и млекопитающих таежного Северо-Запада СССР. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1978. С. 93–119.

Ивантер Э. В. Основы практической биометрии. Петрозаводск: Карелия, 1979. 94 с.

Ивантер Э. В. Очерки популяционной экологии мелких млекопитающих на северной периферии ареала. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2018. 770 с.

Ивантер Э. В., Коросов А. В. Основы биометрии. Учебное пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 1992. 168 с.

Ивантер Э. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию: учебное пособие. 3-е изд., испр. и доп. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003.

Ивантер Э. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию. 3-е изд., испр. и доп. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2014. 296 с.

Ивантер Э. В., Ивантер Т. В., Колода Н. И. Явление Денеля у землероек Карелии // Научная конференция биологов Карелии, посвященная 50-летию образования СССР: тезисы докладов. Петрозаводск, 1972. С. 182–183.

Ивантер Э. В., Ивантер Т. В., Туманов И. Л. Адаптивные особенности мелких млекопитающих. Эколого-морфологические и физиологические аспекты. Л.: Наука, 1985. 318 с.

Ильенко А. И., Зубчанинова Е. В. Круглогодичные наблюдения за мечеными рыжими полевками и лесными мышами в Подмоскowie // Зоологический журнал. 1963. Т. 42, вып. 4. С. 609–617.

Крыльцов А. И. Изменение веса степных пеструшек в зависимости от их пола и возраста // Зоологический журнал. 1957. Т. 36, вып. 8. С. 1239–1250.

Малахов В. В. Эволюционная морфология в России оживает. Размышления после конференции // Природа. 2007. № 8. С. 11–17.

Маринина Л. С. Зависимость между размерами тела и относительным весом сердца у хомякообразных и тушканчиков // Экология. 1976. № 6. С. 91–92.

Машковцев А. А. Влияние горного климата на конституцию млекопитающих // Тр. Лаб. эвол. морфол. М., 1935. Т. 2, вып. 3. С. 5–30.

Межжерин В. А. Энергетический оптимум и оптимальные размеры тела животных // Оптимальная плотность и оптимальная структура популяции животных. Свердловск, 1968. С. 108–109.

Межжерин В. А., Мельникова Г. Л. Адаптивное значение сезонных изменений некоторых морфофизиологических показателей землероек-бурозубок // Acta Theriol. 1966. Vol. 11, no. 25. P. 503–521.

Овчинникова Н. А. Экспериментальные исследования биологических особенностей некоторых видов серых полевок и их гибридов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1970. 23 с.

Оленев В. Г. Сезонные изменения некоторых морфофизиологических признаков грызунов в связи с динамикой возрастной структуры популяций: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1964. 26 с.

Оленев В. Г., Покровский А. В., Оленев Г. В. Особенности зимующих генераций мелких грызунов // Популяционная экология и изменчивость животных. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1979. С. 48–53.

Оленев В. Г., Покровский А. В., Оленев Г. В. Анализ особенностей зимующих генераций мышевидных грызунов // Адаптация животных к зимним условиям. М.: Наука, 1980. С. 64–69.

Пантелеев А. А. Биоэнергетика мелких млекопитающих. М.: Наука, 1983. 271 с.

Пантелеев П. А., Терехина А. Н. Зимняя регрессия массы тела у грызунов как адаптивное явление // Адаптация животных к зимним условиям. М.: Наука, 1980. С. 75–83.

Покровский А. В. Некоторые вопросы экспериментальной экологии полевок: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1963. 18 с.

Покровский А. В. Сезонные колебания веса тела у полевок // Тр. Ин-та биол. УФ АН СССР. 1966. Т. 51. С. 95–106.

Покровский А. В., Большаков В. Н. Экспериментальные исследования сезонных изменений веса тела, роста и развития горных полевок (*Clethrionomys, Alticola*) // Acta Theriol. 1969. Vol. 14. P. 11–21.

Покровский А. В., Большаков В. Н. Экспериментальная экология полевок. М.: Наука, 1979. 147 с.

Садиков О. Ф. Экологические особенности полевок рода *Clethrionomys* Ирмельского горного массива // Внутри- и межпопуляционная изменчивость млекопитающих на Урале. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1980. С. 65–81.

Слоним А. Д. Основы общей экологической физиологии млекопитающих. М.; Л.: АН СССР, 1961. 432 с.

Слоним А. Д. Частная экологическая физиология млекопитающих. М.; Л.: АН СССР, 1962. 498 с.

Шварц С. С. Опыт экологического анализа некоторых морфофизиологических признаков наземных позвоночных: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1953. 35 с.

Шварц С. С. К вопросу о развитии интерьерных признаков у позвоночных животных // Зоологический журнал. 1956. Т. 35, вып. 6. С. 804–819.

Шварц С. С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных животных // Зоологический журнал. 1958. Т. 37, вып. 2. С. 161–173.

Шварц С. С. О некоторых путях приспособления млекопитающих (преимущественно *Micromammalia*) к условиям существования в Субарктике // Материалы по фауне Приобского Севера и ее использованию. Тюмень: Тюменск. кн. изд-во, 1959. С. 177–219.

Шварц С. С. Некоторые закономерности экологической обусловленности интерьерных особенностей наземных позвоночных животных // Проблемы флоры и фауны Урала. Свердловск: УФ АН СССР, 1960. С. 113–177.

Шварц С. С., Смирнов В. С., Добринский Л. Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск: УФ АН СССР, 1968. 387 с.

Яблоков А. В. Изменчивость млекопитающих. М.: Наука, 1966. 363 с.

Яскин В. А., Лобанова Н. А. Сезонные изменения головного мозга и основных морфофизиологических показателей у рыжей полевки // Популяционные механизмы динамики численности животных. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1979. С. 33–48.

Becker K. Geschlechtsunterschiede am Becken von Mäusen (*Murinae*) und Wühlmäusen (*Microtinae*) // Zool. Jahrb. Abt. 3. 1954. Bd. 82, no. 5. S. 285–548.

Chitty D. Mortality among voles (*Microtus agrestis*) at lake Vyrnwy Montgomeryshire in 1936–39 // Phil. Trans. Roy Soc. London. 1952. Vol. 13, no. 236. P. 505–552. doi: 10.1098/rstb.1952.0009

Fedyk A. Seasonal changes in the water content and level in the bank vole against the background of other gross body components // Acta Theriol. 1977. Vol. 22, no. 26. P. 355–363.

Haitlinger R. Morphological analysis of the Wrocław population of *Clethrionomys glareolus* (Schreber, 1780) // Acta Theriol. 1965. Vol. 10, no. 18. P. 243–272. doi: 10.4098/AT.ARCH.65-24

Hesse R. Des Herzgewicht der Wirbeltier // Zool. Jahrb. Abt. I. 1921. Bd. 38, H. 3. S. 243–364.

Hesse R. Tiergeographie auf ecologischer Gerundlage. Jena, 1924. 613 s.

Kaikusalo A. Population turnover and wintering of the bank vole, *Clethrionomys glareolus* (Schreb.), in southern and central Finland // Ann. Zool. Fenn. 1972. Vol. 9, no. 4. P. 219–224.

Morrison P. R. Adaptation of small mammals to the arctic // Fed. Proc. 1964. Vol. 23, no. 6. P. 1202–1206.

Reichstein H. Beiträge zur Biologie eines Steppennagers, *Microtus* (*Phaeomys*) *brandti* (Radde, 1861) // Zeitschrift für Säugetierkunde. Bd. 27, H. 3. 1962. S. 146–163.

Reichstein H. Untersuchungen zum Körperwachstum und zum Reproduktionspotntial der Feldmaus, *Microtus arvalis* (Pall., 1779) // Z. wiss. Zool. 1964. Bd. 170, H. 1-2. S. 112–222.

Rensch B. Organproportionen und Körpergröße bei Vögeln und Säugetieren // Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 1948. Bd. 61, H. 4. S. 337–412.

Rensch J., Rensch B. Relative Organmasse bei tropischen Warmblutern // Zool. Anz. 1956. Bd. 156. P. 5–6.

Sakai A. Dobutsugakuzasshi // Zool. Mag. 1976. Vol. 85, no. 2. P. 118–125.

Sawicka-Kapusta K. Changes in the gross body composition and energy value of the bank voles during their postnatal development // Acta Theriol. 1974. Vol. 19, no. 3. P. 27–54.

Velten C. Altes und Neutsüber die Lebensweisen der Rotelmaus // Aus Heimat, Berlin. 1954. Bd. 62, H. 5-6. S. 75–86.

Wasilewski W. Badania and morphologia *Clethrionomys glareolus* Schr. // Ann. Univ. M. Curie-Sklod., Sect. C. 1952. Vol. 7, no. 3. P. 119–211.

Wasilewski W. Untersuchungenuber die morphologische Veranderlichkeit der Erdmausn (*Microtus agrestis* L.) // Ann. Univ. M. Curie-Sklod., Sect. C. 1956a. Vol. 9, no. 6. P. 261–305.

Wasilewski W. Untersuchungenuber die Veranerlichkeit des *Microtus oeconomus* Bialowieza – Nationalpark // Ann. Univ. M. Curie-Sklod., Sect. C. 1956b. Vol. 9, no. 6. P. 355–386.

Zejda J. Differential growth of three cohorts of the bank vole, *Clethrionomys glareolus* Schreb. 1780 // Zool. Listy. 1971. Vol. 20, no. 3. P. 229–245.

References

Bashenina N. V. Interior indicators of small rodents and their relationship with the level of energy metabolism. *Uch. zap. Permsk. ped. in-ta = Proceedings Perm Pedagogical Institute*. 1969;79:75–116. (In Russ.)

Bashenina N. V. Ways of adaptation of mouse-like rodents. Moscow: Nauka; 1977. 355 p. (In Russ.)

Bashenina N. V. Internal organs and their proportions. *Evropeiskaya ryzhaya polevka = European bank vole*. Moscow: Nauka; 1981. P. 98–117. (In Russ.)

Becker K. Geschlechtsunterschiede am Becken von Mäusen (*Murinae*) und Wühlmäusen (*Microtinae*). *Zool. Jahrb. Abt. 3*. 1954;82(5):285–548.

Boikova F. I., Boikov V. N. Dynamics of changes in body weight and main morphophysiological parameters

in the northern red-backed vole during the autumn-winter period in the Subarctic. *Ekologiya = Ecology*. 1972;2:44–51. (In Russ.)

Bol'shakov V. N. Materials on the comparative study of closely related species of voles. *Materialy po sravnitel'nomu izucheniyu geograficheskoi izmenchivosti inter'ernykh priznakov. Tr. In-ta biologii UF AN SSSR = Materials on the comparative study of geographical variation of interior characteristics. Proceed. Institute Biol. UB AS USSR*. 1965;38:53–60. (In Russ.)

Bol'shakov V. N. On the ways of adaptation of small mammals to mountain conditions. *Byul. MOIP. Otdel. biol. = Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological Series*. 1967;22(5):151–157. (In Russ.)

Bol'shakov V. N. Ecological dependance of some interior characteristics of small mountain mammals in connection with the nature of feeding. *Ekologiya = Ecology*. 1970;6:70–79. (In Russ.)

Bol'shakov V. N., Vasil'ev A. G. Spatial structure and variation of bank vole populations at the southern boundary of the range. *Populyatsionnaya izmenchivost' zhivotnykh = Population variation of animals*. Sverdlovsk: UNTs SSSR; 1975. P. 3–37. (In Russ.)

Chitty D. Mortality among voles (*Microtus agrestis*) at lake Vynwy Montgomeryshire in 1936–39. *Phil. Trans. Roy Soc. London*. 1952;13(236):505–552. doi: 10.1098/rstb.1952.0009

Evdokimov N. G. Research on mechanisms of restoring the number of an artificially sparse population of rodents in a forest biocenosis. *Populyatsionnaya ekologiya i izmenchivost' zhivotnykh = Population ecology and variability of animals*. Sverdlovsk: UNTs AN SSSR; 1979. P. 84–95. (In Russ.)

Fedyk A. Seasonal changes in the water content and level in the bank vole against the background of other gross body components. *Acta Theriol*. 1977;22(26):355–363.

Golikova V. L. Population variation of the bank vole in the steppe and forest-steppe Volga region. *Voprosy fiziologicheskoi i populyatsionnoi ekologii = Issues of physiological and population ecology*. Saratov: Izd-vo Sarat. un-ta; 1970. Iss. 1. P. 112–115. (In Russ.)

Haitlinger R. Morphological analysis of the Wrocław population of *Clethrionomys glareolus* (Schreber, 1780). *Acta Theriol*. 1965;10(18):243–272. doi: 10.4098/AT.ARCH.65-24

Hesse R. Des Herzgewicht der Wirbeltier. *Zool. Jahrb. Abt. I*. 1921;38(3):243–364.

Hesse R. Tiergeographie auf ecologischer Gerundlage. Jena; 1924. 613 p.

Il'enko A. I., Zubchaninova E. V. All-year observations of the tagged bank voles and wood mice in the Moscow Region. *Zool. Zh*. 1963;42(4):609–617. (In Russ.)

Ivanter E. V. Morphophysiological features of the common shrew (*Sorex araneus* L.) in the light of its seasonal and age-related ecology. *Voprosy ekologii zhivotnykh = Issues of animal ecology*. Petrozavodsk: Karel. kn. izd-vo; 1974. P. 36–94. (In Russ.)

Ivanter E. V. Population ecology of small mammals in the taiga of the North-West of the USSR. Leningrad: Nauka; 1975. 247 p. (In Russ.)

Ivanter E. V. Nutrition and some morphophysiological features of mouse-like rodents of Karelia.

Ekologiya ptits i mlekopitayushchikh Severo-Zapada SSSR = Ecology of birds and mammals of the North-West of the USSR. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR; 1976. P. 68–95. (In Russ.)

Ivanter E. V. Age structure of rodent populations and its adaptive significance (on the example of the bank vole in Karelia). *Fauna i ekologiya ptits i mlekopitayushchikh taezhnogo Severo-Zapada SSSR = Fauna and ecology of birds and mammals of the taiga in the North-West of the USSR*. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR; 1978. P. 93–119. (In Russ.)

Ivanter E. V. Fundamentals of practical biometrics. Petrozavodsk: Kareliya; 1979. 94 p. (In Russ.)

Ivanter E. V. Outlines of the population ecology of small mammals on the northern periphery of the range. Moscow: KMK; 2018. 770 p. (In Russ.)

Ivanter E. V., Korosov A. V. Fundamentals of biometrics. A study guide. Petrozavodsk: PetrGU; 1992. 168 p. (In Russ.)

Ivanter E. V., Korosov A. V. An introduction to quantitative biology: A study guide. 3rd ed. revised and enlarged. Petrozavodsk: PetrGU; 2003. (In Russ.)

Ivanter E. V., Korosov A. V. Introduction to quantitative biology. 3rd ed. revised and enlarged. Petrozavodsk: PetrGU; 2014. 296 p. (In Russ.)

Ivanter E. V., Ivanter T. V., Koloda N. I. Dehnel's phenomenon in shrews of Karelia. *Nauchnaya konferentsiya biologov Karelii, posvyashchennaya 50-letiyu obrazovaniya SSSR: tezisy dokladov = Scientific conference of biologists of Karelia, dedicated to the 50th anniversary of the formation of the USSR: Proceedings*. Petrozavodsk; 1972. P. 182–183. (In Russ.)

Ivanter E. V., Ivanter T. V., Tumanov I. L. Adaptive features of small mammals. Ecological-morphological and physiological aspects. Leningrad: Nauka; 1985. 318 p. (In Russ.)

Kaikusalo A. Population turnover and wintering of the bank vole, *Clethrionomys glareolus* (Schreb.), in southern and central Finland. *Ann. Zool. Fenn.* 1972;9(4):219–224.

Kryl'tsov A. I. Changes in the weight of the steppe vole depending on their sex and age. *Zool. Zh.* 1957;36(8):1239–1250. (In Russ.)

Malakhov V. V. Evolutionary morphology is coming to life in Russia. Reflections after a conference. *Priroda = Nature*. 2007;8:11–17. (In Russ.)

Marinina L. S. Relationship between body size and relative heart weight in hamsters and jerboas. *Ekologiya = Ecology*. 1976;6:91–92. (In Russ.)

Mashkovtsev A. A. The influence of mountain climate on the constitution of mammals. *Tr. Lab. evol. morfol. = Proceedings Lab. Evolutionary Morphology*. 1935;2(3):5–30. (In Russ.)

Mezhzherin V. A. Energy optimum and optimal body size of animals. *Optimal'naya plotnost' i optimal'naya struktura populyatsii zhivotnykh = Optimal density and optimal structure of animal populations*. Sverdlovsk; 1968. P. 108–109. (In Russ.)

Mezhzherin V. A., Mel'nikova G. L. Adaptive significance of seasonal changes in some morphophysiological parameters of shrews. *Acta Theriol.* 1966;11(25):503–521. (In Russ.)

Morrison P. R. Adaptation of small mammals to the arctic. *Fed. Proc.* 1964;23(6):1202–1206.

Olenev V. G. Seasonal changes in some morphophysiological characteristics of rodents in connection with the dynamics of the age structure of populations: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Sverdlovsk; 1964. 26 p. (In Russ.)

Olenev V. G., Pokrovskii A. V., Olenev G. V. Features of wintering generations of small rodents. *Populyatsionnaya ekologiya i izmenchivost' zhivotnykh = Population ecology and variability of animals*. Sverdlovsk: UNTs AN SSSR; 1979. P. 48–53. (In Russ.)

Olenev V. G., Pokrovskii A. V., Olenev G. V. Analysis of the features of wintering generations of mouse-like rodents. *Adaptatsiya zhivotnykh k zimnim usloviyam = Adaptation of animals to winter conditions*. Moscow: Nauka; 1980. P. 64–69. (In Russ.)

Ovchinnikova N. A. Experimental studies of the biological features of some species of gray voles and their hybrids: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Sverdlovsk; 1970. 23 p. (In Russ.)

Panteleev A. A. Bioenergy of small mammals. Moscow: Nauka; 1983. 271 p. (In Russ.)

Panteleev P. A., Terekhina A. N. Winter regression of body weight in rodents as an adaptive phenomenon. *Adaptatsiya zhivotnykh k zimnim usloviyam = Adaptation of animals to winter conditions*. Moscow: Nauka; 1980. P. 75–83. (In Russ.)

Pokrovskii A. V. Some issues of experimental ecology of voles: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Sverdlovsk; 1963. 18 p. (In Russ.)

Pokrovskii A. V. Seasonal variations in body weight in voles. *Tr. In-ta biol. UF AN SSSR = Proceed. Institute Biol. UB AS USSR*. 1966;51:95–106. (In Russ.)

Pokrovskii A. V., Bol'shakov V. N. Experimental studies of seasonal changes in body weight, growth, and development of mountain voles (*Clethrionomys, Alticola*). *Acta Theriol.* 1969;14:11–21. (In Russ.)

Pokrovskii A. V., Bol'shakov V. N. Experimental ecology of voles. Moscow: Nauka; 1979. 147 p. (In Russ.)

Reichstein H. Beiträge zur Biologie eines Steppennagers, *Microtus (Phaeomys) brandti* (Radde, 1861). *Zeitschrift für Säugetierkunde*. 1962;27(3):146–163.

Reichstein H. Untersuchungen zum Körperwachstum und zum Reproduktionspotential der Feldmaus, *Microtus arvalis* (Pall., 1779). *Z. wiss. Zool.* 1964;170(1-2):112–222.

Rensch B. Organproportionen und Körpergröße bei Vögeln und Säugetieren. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* 1948;61(4):337–412.

Rensch J., Rensch B. Relative Organmasse bei tropischen Warmblutern. *Zool. Anz.* 1956;156:5–6.

Sadykov O. F. Ecological features of voles of the genus *Clethrionomys* of the Iremel mountain range. *Vnutri-i mezhpopyatsionnaya izmenchivost' mlekopitayushchikh na Urale = Intra- and interpopulation variability of mammals in the Urals*. Sverdlovsk: UNTs AN SSSR; 1980. P. 65–81. (In Russ.)

Sakai A. Dobutsugakuzasshi. *Zool. Mag.* 1976;85(2): 118–125.

Sawicka-Kapusta K. Changes in the gross body composition and energy value of the bank voles during their postnatal development. *Acta Theriol.* 1974;19(3):27–54.

Shvarts S. S. Experience in ecological analysis of some morphophysiological characteristics of terrestrial vertebrates: Summary of DSc (Dr. of Biol.) thesis. Moscow; 1953. 35 p. (In Russ.)

Shvarts S. S. On the issue of the interior characteristics development in vertebrates. *Zool. Zh.* 1956;35(6): 804–819. (In Russ.)

Shvarts S. S. A method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates. *Zool. Zh.* 1958;37(2):161–173. (In Russ.)

Shvarts S. S. On some ways of adaptation of mammals (mainly Micromammalia) to living conditions in the Subarctic. *Materialy po faune Priobskogo Severa i ee ispol'zovaniyu = Materials on the fauna of the Ob North and its use.* Tyumen': Tyumensk. kn. izd-vo; 1959. P. 177–219. (In Russ.)

Shvarts S. S. Some patterns of ecological dependence of the interior characteristics of terrestrial vertebrates. *Problemy flory i fauny Urala = Problems of flora and fauna of the Urals.* Sverdlovsk: UF AN SSSR; 1960. P. 113–177. (In Russ.)

Shvarts S. S., Smirnov V. S., Dobrinskii L. N. A method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates. Sverdlovsk: UF AN SSSR; 1968. 387 p. (In Russ.)

Slonim A. D. Fundamentals of general ecological physiology of mammals. Moscow; Leningrad: AN SSSR; 1961. 432 p. (In Russ.)

Slonim A. D. Particular ecological physiology of mammals. Moscow; Leningrad: AN SSSR; 1962. 498 p. (In Russ.)

Varshavskii A. A. On the study of geographical variability of interior characteristics of rodents. *Gryzunny: Mater. V Vsesoyuzn. Soveshch. = Rodents: Proceed. V All-Union meeting.* Moscow; 1980. P. 52–53. (In Russ.)

Velten C. Altes und Neutsuber die Lebensweisen der Rotelmaus. *Aus Heimat, Berlin.* 1954;62(5-6): 75–86.

Wasilewski W. Badania and morphologia *Clethrionomys glareolus* Schr. *Ann. Univ. M. Curie-Sklod., Sect. C.* 1952;7(3):119–211.

Wasilewski W. Untersuchungenuber die morphologische Veranderlichkeit der Erdmausn (*Microtus agrestis* L.). *Ann. Univ. M. Curie-Sklod., Sect. C.* 1956;9(6):261–305.

Wasilewski W. Untersuchungenuber die Veranlichkeit des *Microtus oeconomus* Bialowieza – National park. *Ann. Univ. M. Curie-Sklod., Sect. C.* 1956;9(6):355–386.

Yablokov A. V. Mammal variation. Moscow: Nauka; 1966. 363 p. (In Russ.)

Yaskin V. A., Lobanova N. A. Seasonal changes in the brain and main morphophysiological parameters in the bank vole *Populyatsionnye mekhanizmy dinamiki chislennosti zivotnykh = Population mechanisms of animal population dynamics.* Sverdlovsk: UNTS AN SSSR; 1979. P. 33–48. (In Russ.)

Zejda J. Differential growth of three cohorts of the bank vole, *Clethrionomys glareolus* Schreb. 1780. *Zoologické Listy = Folia Zoologica.* 1971;20(3): 229–245.

Поступила в редакцию / received: 26.12.2022; принята к публикации / accepted: 23.10.2023.
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов / The author declares no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Ивантер Эрнест Викторович

чл.-корр. РАН, д-р биол. наук, профессор,
главный научный сотрудник лаборатории
экологического мониторинга и моделирования

e-mail: Ivanter@petsu.ru

CONTRIBUTOR:

Ivanter, Ernest

RAS Corr. Academician, Dr. Sci. (Biol.), Professor,
Chief Researcher

УДК 591 525

АНАЛИЗ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ИХ ДИНАМИКИ НА ПРОТЯЖЕНИИ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА РЫЖЕЙ ПОЛЕВКИ *MYODES (CLETHRIONOMYS) GLAREOLUS* SCHR. СООБЩЕНИЕ II. ИНДЕКСЫ ПОЧЕК, СЕЛЕЗЕНКИ, НАДПОЧЕЧНИКОВ, ТИМУСА, ДЛИНЫ КИШЕЧНИКА

Э. В. Ивантер

Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910)

Установлено, что почки более, чем какие-либо другие внутренние органы полевок, чувствительны к изменению обмена веществ и все условия, вызывающие интенсификацию метаболизма, сопровождаются увеличением индекса почек. В этой связи данный признак можно рассматривать в качестве адекватного показателя масштаба обмена веществ и использовать как своеобразный индикатор уровня популяционной напряженности метаболических процессов. Индекс же селезенки может считаться специфическим показателем физиологического состояния организма, связанного с участием органа в кровообразовании (эритропоэзе), ряде специфических биохимических процессов (связанных с обменом жирных кислот и частично аминокислот), а также с тем, что она выполняет защитную роль и является депо крови. Отсюда прямая зависимость индекса селезенки от интенсивности обмена веществ организма. Выявлена достоверная прямая связь между размерами надпочечников и интенсивностью их гормональной деятельности. При этом любые условия, требующие резкой интенсификации обмена в ответ на самые различные раздражители (стресс-факторы), вызывают гиперфункцию надпочечников и в конце концов могут приводить к адаптивному стресс-синдрому – гормональному истощению, ослаблению и гибели животного. С этих позиций величину надпочечников можно использовать в качестве индикатора степени напряженности организма, вызванной как социальными факторами и плотностью популяции, так и условиями внешней среды. Существование прямой зависимости между размерами тимуса и жизнеспособностью молодых животных и специфический ход сезонно-возрастной динамики размеров этого органа позволяет связывать его роль со стимуляцией энергетических процессов в растущем организме и считать объективным показателем биологического возраста полевок. В свою очередь, длина кишечника и его отделов служит индикатором пищевых потребностей и особенностей питания животных. Анализ сезонно-возрастных изменений веса изученных внутренних органов рыжей полевки позволяет выделить в постнатальном периоде ее полного жизненного цикла шесть достаточно четко выраженных фаз, характеризующихся своеобразным «поведением» основных морфофизиологических показателей, специфическим уровнем обменных процессов и особенностями сезонной экологии отдельных внутривидовых групп животных.

Ключевые слова: популяция; морфофизиологические индикаторы; адаптивные реакции; рост и развитие; метаболизм; индексы органов; эколого-физиологические фазы

Для цитирования: Ивантер Э. В. Анализ морфофизиологических показателей и их динамики на протяжении жизненного цикла рыжей полевки *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. Сообщение II. Индексы почек, селезенки, надпочечников, тимуса, длины кишечника // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 22–41. doi: 10.17076/eb1776

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (ОКНИ КарНЦ РАН).

E. V. Ivanter. ANALYSIS OF MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND THEIR DYNAMICS DURING THE LIFE CYCLE OF THE BANK VOLE *MYODES (CLETHRIONOMYS) GLAREOLUS* SCHR. NOTE II. INDICES OF KIDNEYS, SPLEEN, ADRENAL GLANDS, THYMUS, INTESTINAL LENGTH

Department for Multidisciplinary Scientific Research, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

The analysis of long-term research data shows that kidneys are most sensitive among all organs to changes in metabolism and that any circumstances causing a metabolic intensification are accompanied by a rise in the kidney index. In effect, this trait can be regarded as an adequate indicator of the scale of metabolism and be used as a kind of indicator of the population's metabolic intensity level. The spleen index can be considered a specific indicator of the physiological condition of the organism since this organ is involved in red blood cell production and in specific biochemical processes associated with the metabolism of fatty acid and certain amino acids. The spleen also plays an important protective role and acts as a blood depot and as a blood filter. Hence the direct dependence of the spleen index on the body's metabolic rate. A reliable direct relationship was detected between the size of adrenal glands and the rate of their hormonal activity. Any circumstances that require a sharp intensification of the metabolism in response to all sorts of stimuli (stress factors) induce adrenal gland hyperfunction and may ultimately lead to a stress adaptation syndrome – hormonal exhaustion, weakening, and even death of the animal. In view of this, the size of adrenal glands can be used as an indicator of the level of stress in the organism, caused by social factors, population density, or environmental conditions. The fact that there is a direct correlation between thymus size and the viability of young animals, as well as the specific seasonal and age-related patterns in thymus size are reasons to associate its role with the stimulation of energy processes in a growing organism and to regard it as an objective indicator of the biological age of voles. The length of the intestine and its segments serves as an indicator of the nutritional demands and dietary characteristics of the animals. Based on the analysis of seasonal and age-related changes in the weight of the internal organs of *Myodes glareolus*, six distinct phases can be distinguished in the postnatal period of its life cycle. These phases differ in the "behavior" of the main morphophysiological indices, the level of metabolic processes, and the seasonal ecology of individual intrapopulation groups of animals.

Keywords: population; morphophysiological indicators; adaptive responses; growth and development; metabolism; organ indices; eco-physiological phases

For citation: Ivanter E. V. Analysis of morphophysiological parameters and their dynamics during the life cycle of the bank vole *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. Note II. Indices of kidneys, spleen, adrenal glands, thymus, intestinal length. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 22–41. doi: 10.17076/eb1776

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS (DMSR KarRC RAS).

Введение

Выявление общих тенденций и закономерностей приспособления животных к условиям существования – одна из важнейших и вместе с тем недостаточно разработанных проблем современной биологии. При этом одним из наиболее эффективных и проверенных путей ее решения вот уже не один десяток лет успешно служит предложенный академиком С. С. Шварцем метод морфофизиологических индикаторов. Однако реальные результаты его применения всецело зависят как от опыта его использования в практике полевой зооэкологии, так и от умелой и адекватной экологической интерпретации получаемых данных. Все это в полной мере относится и к предмету нашего рассмотрения – морфофизиологическим особенностям обитающей близ северных границ распространения европейской рыжей полевки – *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schreb. Настоящее сообщение служит естественным продолжением работы [Ивантер, 2023] и посвящено экологическому анализу таких морфофизиологических показателей рыжей полевки, как индексы почек, селезенки, надпочечников, тимуса и длины кишечника.

Результаты и обсуждение

Почки. По индексу почек рыжая полевка занимает в ряду изученных грызунов второе место (после лесной мышовки), принадлежащее ей и по размерам тела. Это соответствует правилу обратной зависимости данного интерьерного показателя от величины животного [Welcker, Brandt, 1903; Rensh, 1948; Шварц, 1960; Башенина, 1969] и характеризует рассматриваемый вид как один из наиболее подвижных и отличающихся высокой интенсивностью обменных процессов.

Размеры почек считаются хорошим показателем масштаба обмена веществ [Warburton, 1955] и используются поэтому в качестве своеобразного индикатора уровня популяционной напряженности метаболизма [Оленев, 1964; Шварц и др., 1968; Чернявский, Ткачев, 1982]. При сопоставлении по этому признаку весенних и осенних генераций полевок указанная закономерность достаточно хорошо вырисовывается: относительная масса почек у зверьков ранних выводков, обладающих в связи с быстрым ростом и развитием более высоким уровнем метаболизма, во все летние месяцы превышает соответствующие показатели у полевок позднего рождения (табл.; рис. 1). Разница

достигает 1,5–2,1 %, что составляет 9,7–12,8 % от средних величин. Это подтверждает отмеченную С. С. Шварцем [1960] прямую зависимость между размерами почек и интенсивностью роста животного.

Что же касается конкретного хода сезонно-возрастных изменений абсолютной и относительной массы почек, то у полевок ранних генераций он также достаточно специфичен. Если у прибылых ранних выводков после небольшого июльского подъема наблюдается неуклонное снижение абсолютных и относительных показателей, особенно резкое в осенние месяцы (очевидно, это связано с процессами раннего старения), то у медленно развивающихся летне-осенних поколений индекс и общая масса почек стабилизируются или демонстрируют неопределенные колебания, отражающие взаимную асинхронность процессов роста органа и массы тела.

В первые месяцы жизни у полевок позднего рождения наблюдается непрерывное уменьшение индекса почек, отражающее обратную зависимость размеров органа от массы тела. У самцов этот показатель падает с 16,4 % в июне до 13,9 % в октябре (на 15,2 % относительно исходных цифр), у самок – с 17,0 до 14,8 % (на 12,9 %). В дальнейшем в середине осени происходит некоторое повышение абсолютных и относительных размеров почек, а во второй половине зимы и в начале весны – снижение. У самцов ноябрьский подъем составил по отношению к октябрьскому минимуму 16,4 % по абсолютным и 29,5 % по относительным величинам, у самок – 8,5 и 4,1 %; мартовское падение имеет несколько меньшую амплитуду – 16,7 и 6,3 % у самцов и 7,2 и 3,3 % у самок. Ранневесеннее (мартовское) уменьшение массы и индекса почек у рыжих полевок Урала, связанное с соответствующим снижением уровня обмена веществ у животных в этот период, отмечено В. Г. Оленевым [1964] и позднее подтверждено В. А. Яскиным и Н. А. Лобановой [1979]. В марте полевки имеют наименьший индекс почек (14,4 % у самцов и 14,6 % у самок), в апреле он заметно увеличивается и достигает максимума в июне – 17,8 %. Последнее объясняется активным участием зверьков в размножении, требующем интенсификации обмена веществ и вызывающем увеличение размеров почек. И хотя по индексу органа это прослеживается лишь у самцов, раннелетнее увеличение размеров почек характерно и для самок. Только у них это явление затушевывается резким увеличением массы тела в связи с беременностью, отчего индекс, несмотря на рост абсолютных показателей, не только не возрастает, но даже падает.

Абсолютные и относительные весовые показатели почек, селезенки, надпочечников, тимуса и длины кишечника рыжей полевки разного времени рождения

Absolute and relative weight indicators of the kidneys, spleen, adrenal glands, thymus and the length of the intestines of bank voles of different birth time

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	n	Абсолютный показатель, мг Absolute indicator, mg				Индекс, ‰ Index, ‰			
			lim	M + m	σ	C_v	lim	M + m	σ	C_v

**Почки
Kidneys**

Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	133	159–950	328,7 ± 7,5	86,5	26,3	10,3–60,0	17,8 ± 0,4	4,5	21,5
Поздние Late	Лето Summer	91	156–480	250,8 ± 5,1	49,1	19,6	12,5–24,0	16,0 ± 0,2	2,1	13,2
	Осень Autumn	57	171–334	245,2 ± 4,8	36,3	14,8	10,3–19,1	14,8 ± 0,3	2,0	13,9
	Зима Winter	6	177–363	243,2 ± 11,5	28,3	11,6	12,0–22,4	15,7 ± 0,6	1,4	8,9
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	25	255–422	364,6 ± 8,9	44,6	12,2	13,0–19,4	15,9 ± 0,3	1,3	8,4
	Лето Summer	72	153–500	380,9 ± 9,3	78,6	20,6	12,6–27,8	16,6 ± 0,3	2,3	14,1
	Осень Autumn	2	266–280	273,0	-	-	12,2–12,3	12,3	-	-
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	52	144–480	332,3 ± 8,5	60,9	18,3	8,9–23,0	16,3 ± 0,4	3,0	18,1
	Осень Autumn	4	272–506	354 ± 63,1	109,2	54,0	12,1–20,3	15,4 ± 2,2	3,8	15,4
Поздние Late	Лето Summer	79	103–391	248,2 ± 7,2	63,9	25,8	6,1–22,8	16,5 ± 0,4	3,3	20,0
	Осень Autumn	34	165–368	247,2 ± 7,1	43,1	17,4	10,9–24,4	15,4 ± 0,4	2,6	16,9
	Зима Winter	7	175–272	233,4 ± 14,8	39,1	16,7	12,2–20,0	15,3 ± 1,2	3,2	20,7
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	15	227–448	345,3 ± 12,3	47,7	13,9	11,7–18,8	15,5 ± 0,6	2,3	15,1
	Лето Summer	54	141–545	349,8 ± 11,6	85,4	21,9	9,5–20,2	14,4 ± 0,8	3,3	23,0
	Осень Autumn	3	339–392	357,0 ± 21,6	30,3	8,5	14,2–18,9	16,0 ± 1,8	2,5	15,8

**Селезенка
Spleen**

Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	135	5,5–950	129,1 ± 17,7	205,0	128,7	0,3–46,6	6,5 ± 0,7	8,4	129,6
Поздние Late	Лето Summer	92	41–600	76,9 ± 12,2	117,3	152,6	0,6–30,0	4,5 ± 0,6	5,8	129,0
	Осень Autumn	58	15–500	65,4 ± 10,8	82,0	125,4	1,1–27,3	3,8 ± 0,6	4,4	117,1
	Зима Winter	6	10–37	19,1 ± 1,1	2,6	13,6	0,6–2,3	1,2 ± 0,1	0,2	16,7

Продолжение табл.
Table (continued)

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	n	Абсолютный показатель, мг Absolute indicator, mg				Индекс, ‰ Index, ‰			
			lim	M + m	σ	C_v	lim	M + m	σ	C_v
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	19	7,5–303	77,7 ± 15,5	67,5	86,9	0,4–14,6	3,2 ± 0,8	3,3	103,4
	Лето Summer	75	6,2–1470	182,3 ± 28,4	246,2	135,0	0,3–37,4	7,4 ± 1,0	8,8	119,1
	Осень Autumn	2	77; 348	212,5	-	-	3,4; 15,9	9,6	-	-
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	56	22–1000	148,8 ± 29,0	217,3	146,0	1,5–36,0	6,2 ± 1,0	7,8	125,4
	Осень Autumn	4	26–124	67,0 ± 24,9	43,1	64,3	1,4–5,0	2,9 ± 0,9	1,6	55,2
Поздние Late	Лето Summer	74	20–463	69,8 ± 9,3	80,2	114,9	1,5–27,9	4,5 ± 0,5	4,4	97,0
	Осень Autumn	38	14–144	42,4 ± 4,3	26,5	62,5	0,8–8,3	22,7 ± 0,3	1,7	62,9
	Зима Winter	8	9–39	22,9 ± 2,8	8,0	34,9	0,6–2,5	1,5 ± 0,2	0,5	31,3
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	11	13–258	87,8 ± 23,2	76,7	87,4	0,1–7,6	3,1 ± 0,6	2,1	68,3
	Лето Summer	54	39–900	131,6 ± 25,7	187,7	142,6	1,1–28,6	4,8 ± 0,8	6,0	124,6
	Осень Autumn	3	64–114	83,3 ± 19,0	26,9	32,3	2,3–4,8	3,7 ± 0,9	1,3	34,5
Надпочечники Adrenal glands										
Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	133	2–21	7,1 ± 0,2	2,9	40,5	6,1–0,9	0,38 ± 0,01	0,14	37,2
	Поздние Late	89	2–9	5,2 ± 0,2	1,8	34,9	0,1–0,7	0,31 ± 0,01	0,10	34,1
	Осень Autumn	58	3,12	6,0 ± 0,3	1,9	32,4	0,2–1,8	0,40 ± 0,02	0,22	55,3
	Зима Winter	6	2–6	4,6 ± 0,7	1,8	41,9	0,14–0,41	0,30 ± 0,05	0,14	46,7
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	25	4–12	8,2 ± 0,4	1,9	23,9	0,19–0,5	0,35 ± 0,02	0,08	24,9
	Лето Summer	75	3–40	9,2 ± 0,6	4,3	46,7	0,1–0,6	0,37 ± 0,02	0,17	45,4
	Осень Autumn	2	4; 5	4,5	-	-	0,18; 0,23	0,41	-	-
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	54	2,5–33	15,4 ± 0,7	5,0	32,5	0,21–7,4	0,86 ± 0,12	0,90	111,1
	Осень Autumn	4	9–12	10,5 ± 0,8	1,3	25,8	0,4–0,7	0,55 ± 0,07	0,13	23,6
Поздние Late	Лето Summer	78	2–25	6,9 ± 0,5	4,8	69,0	0,1–3,8	0,48 ± 0,05	0,43	89,6

Продолжение табл.
Table (continued)

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	n	Абсолютный показатель, мг Absolute indicator, mg				Индекс, ‰ Index, ‰			
			lim	M + m	σ	C_v	lim	M + m	σ	C_v
	Осень Autumn	38	3–11	5,4 ± 0,2	1,5	27,9	0,16–0,5	0,33 ± 0,01	0,09	26,4
	Зима Winter	7	3–5	3,8 ± 0,2	0,6	15,8	0,18–0,3	0,26 ± 0,01	0,03	11,5
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	15	5–21	13,5 ± 1,0	3,9	25,8	0,3–0,92	0,58 ± 0,04	0,15	26,5
	Лето Summer	57	8–28	17,1 ± 0,7	5,2	30,5	0,2–1,34	0,65 ± 0,03	0,20	20,8
	Осень Autumn	3	8–9	8,7 ± 1,4	0,6	6,7	0,32–0,44	0,38 ± 0,04	0,06	15,8

**Тимус
Thymus**

Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	92	2–73	29,3 ± 1,6	15,2	51,7	0,2–3,7	1,7 ± 0,1	0,8	48,5
Поздние Late	Лето Summer	58	12–78	41,3 ± 1,9	14,3	34,7	0,6–5,1	2,7 ± 0,1	1,0	37,9
	Осень Autumn	52	5–90	28,0 ± 1,8	13,2	47,3	0,3–5,1	1,7 ± 0,1	0,4	47,4
	Зима Winter	3	3–7	44,7 ± 1,5	2,1	44,7	0,20,5	0,4 ± 0,1	0,2	42,5
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	4	1–13	6,4 ± 2,1	3,6	56,3	0,1–0,7	0,6 ± 0,2	0,3	43,5
	Лето Summer	40	0–11	2,9 ± 0,3	2,3	78,9	0,0–0,7	0,1 ± 0,01	0,1	100,0
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	45	3–90	20,8 ± 2,5	16,5	53,5	0,1–3,6	1,6 ± 0,1	0,9	57,4
Поздние Late	Лето Summer	54	3–81	44,5 ± 2,2	16,3	36,6	1,4–7,0	3,2 ± 0,1	1,0	31,1
	Осень Autumn	40	6–52	29,8 ± 1,4	8,7	29,1	0,3–3,4	1,9 ± 0,1	0,6	30,7
	Зима Winter	4	4–10	7,0 ± 1,7	2,9	42,1	0,3–0,7	0,5 ± 0,1	0,2	45,1
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	6	3–8	9,7 ± 1,6	3,5	36,1	0,1–0,8	0,6 ± 0,1	0,3	46,7
	Лето Summer	36	0–11	3,0 ± 0,4	2,2	72,7	0,0–0,8	0,1 ± 0,02	0,1	120,0

**Кишечник (общая длина в см)
Intestine (total length, cm)**

Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	96	52,5–109,0	74,8 ± 1,0	10,2	13,7	601–1166	845,5 ± 8,7	85,1	10,1
Поздние Late	Лето Summer	53	55,0–100,4	73,5 ± 1,4	10,6	14,4	638–1187	889,6 ± 17,2	125,2	14,2
	Осень Autumn	43	51,0–98,0	80,5 ± 1,4	9,4	11,7	611–1225	957,5 ± 19,3	126,7	13,2

Окончание табл.
Table (continued)

Исследованная группа Studied group	Сезон Season	n	Абсолютный показатель, мг Absolute indicator, mg				Индекс, ‰ Index, ‰			
			lim	M + m	σ	C_v	lim	M + m	σ	C_v
	Зима Winter	6	64,5–80,0	72,9 ± 1,7	4,1	5,6	780–989	863,8 ± 35,3	86,5	10,0
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	18	58,5–95,0	77,5 ± 3,4	14,3	18,4	626–1012	828,7 ± 32,4	127,5	16,6
	Лето Summer	41	49,5–128,0	79,5 ± 2,7	17,4	21,8	511–1287	837,6 ± 24,5	156,9	18,7
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	64	60,0–105,0	85,8 ± 1,2	10,0	11,7	659–1259	914,7 ± 14,3	114,4	12,5
Поздние Late	Лето Summer	54	44,0–96,7	71,6 ± 1,5	10,8	15,1	582–1231	916,7 ± 18,4	135,6	14,8
	Осень Autumn	31	61,4–94,0	79,1 ± 1,5	8,4	10,6	710–1195	970,7 ± 20,5	114,5	11,8
	Зима Winter	7	64,0–93,0	73,5 ± 3,7	9,8	13,3	764–1065	911,3 ± 31,9	84,2	9,2
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	6	46,0–94,5	70,7 ± 3,1	1,5	10,6	562–937	818,5 ± 36,8	88,5	10,8
	Лето Summer	19	60,0–101,0	87,9 ± 3,6	15,8	18,0	597–191	890,0 ± 52,3	228,0	25,6
Слепая кишка (общая длина в см) Cecum (total length, cm)										
Самцы Males Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	88	7,0–115,2	10,3 ± 0,2	1,9	18,7	9,1–20,3	13,7 ± 0,2	1,8	13,4
Поздние Late	Лето Summer	41	7,0–13,0	9,9 ± 0,2	1,5	14,8	9,7–18,3	13,6 ± 0,3	1,7	12,5
	Осень Autumn	30	8,0–16,0	10,8 ± 0,3	1,8	16,9	10,9–18,8	13,7 ± 0,3	1,6	11,6
	Зима Winter	3	8,0–9,5	8,8 ± 0,4	0,8	8,6	11,9–13,0	12,2 ± 0,4	0,6	4,9
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	10	8,0–12,0	10,1 ± 0,6	1,9	18,6	10,6–16,7	13,4 ± 0,6	1,9	14,2
	Лето Summer	22	7,1–16,0	12 ± 0,4	2,1	17,2	8,8–17,5	15,2 ± 0,4	2,1	13,5
Самки Females Прибылые Young										
Ранние Early	Лето Summer	38	7,0–13,0	11,5 ± 0,3	1,7	14,8	11,1–16,7	13,8 ± 0,3	1,8	12,9
Поздние Late	Лето Summer	30	6,0–14,5	9,7 ± 0,3	1,6	16,2	9,2–18,4	13,8 ± 0,4	2,0	14,5
	Осень Autumn	19	7,0–14,0	10,7 ± 0,5	2,0	18,6	10,1–17,7	13,5 ± 0,4	1,6	11,7
	Зима Winter	5	8,7–12,9	10,9 ± 0,9	2,2	20,2	12,3–17,7	14,6 ± 0,6	1,3	8,9
Зимовавшие Overwintered	Весна Spring	6	10,0–14,5	11,7 ± 0,7	1,6	13,7	10,0–14,5	16,5 ± 0,6	1,4	8,5
	Лето Summer	7	6,0–17,0	13,7 ± 1,4	3,7	29,3	10,0–16,8	14,9 ± 1,1	2,8	18,5

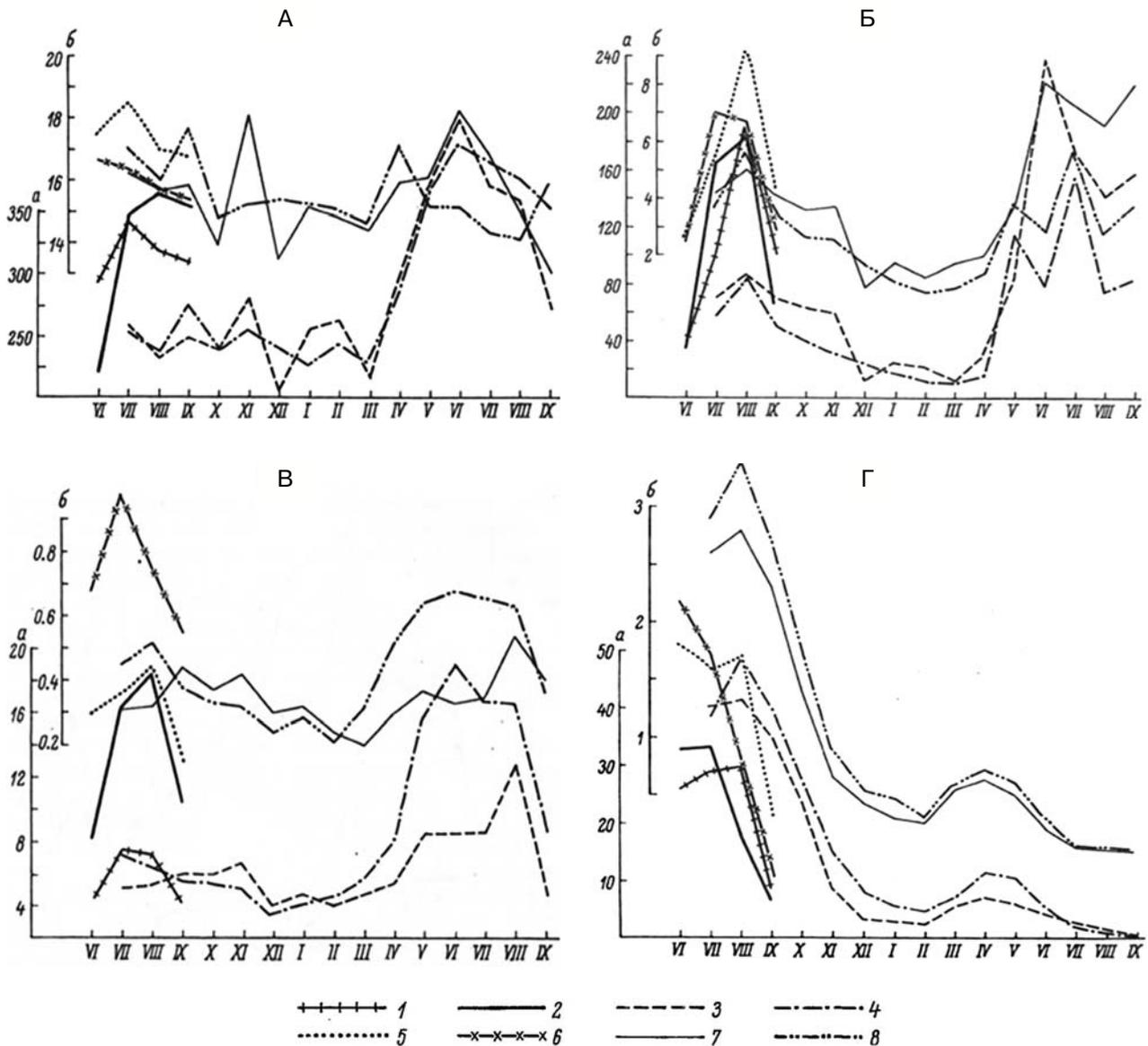


Рис. 1. Сезонно-возрастные изменения массы почек (А), селезенки (Б), надпочечников (В) и тимуса (Г) рыжих полевков разного времени рождения.

Здесь и на рис. 2 абсолютный показатель: 1, 2 – самцы и самки ранних выводков; 3, 4 – самцы и самки поздних выводков; относительный показатель (индекс): 5, 6 – самцы и самки ранних выводков, 7, 8 – поздних выводков. По оси абсцисс – месяцы; по оси ординат: а – масса органа, мг; б – индекс, %

Fig. 1. Seasonal and age-related changes in the mass of the kidneys (А), spleen (Б), adrenal glands (В) and thymus (Г) of bank voles of different birth time.

Here and in Fig. 2 the absolute indicator: 1, 2 – males and females of early broods; 3, 4 – males and females of late broods; relative indicator (index): 5, 6 – males and females of early broods, 7, 8 – late broods. X-axis – months; Y-axis: a – organ mass, mg; б – index, %

Начиная с конца июля регрессия массы почек наблюдается и у самцов, и в августе-сентябре все размножавшиеся полевки, независимо от пола и времени рождения, демонстрируют резкое снижение размеров органа, обусловленное процессами старения организма.

Половой диморфизм по абсолютной и относительной массе почек достаточно существен,

но характер отличий между самцами и самками в разных возрастных группах неодинаков (табл.; рис. 1). Так, у прибылых ранних выводков при довольно неопределенных отличиях по абсолютному показателю (в июне он выше у самцов, в августе – у самок, а в июле одинаков у обоих полов) индекс почек во всех сериях достоверно выше у самцов (17,0–18,5 %

против 15,8–16,7 % у самок). Аналогичная картина наблюдается и у зимовавших полевков: абсолютная масса в одни месяцы больше у самцов, в другие – у самок, а относительная – во всех случаях (кроме ранней весны, когда имеются обратные соотношения) выше у самцов (15,1–17,8 % против 14,1–15,1 % у самок). В то же время в группе поздних прибылых и по абсолютным, и особенно по относительным показателям лидируют самки (14,8–17,6 % против 13,5–16,4 % у самцов).

Биотопические отличия [см. Ивантер, 2023, рис. 3] настолько невелики, что на нашем в общем немало по объему материале достоверность их остается недоказанной. К тому же в разных возрастных (и половых) группах характер отличий нередко противоположен. У зимовавших наибольший индекс имеют зверьки культурных участков. Далее, по мере снижения, следуют полевки из ельников и лиственных лесов, и на последнем месте – грызуны соснового леса. В группе прибылых соотношения совершенно иные, и по этому признаку биотопы выстраиваются в обратном порядке: сосняки, культурные участки, ельники, лиственные леса.

Более характерны и существенны по масштабам годовые отличия. За 20 сравниваемых лет средний показатель относительной массы печени изменялся в пределах от 14,4 до 17,1 % (зимовавшие самцы) и от 15,7 до 18,9 % (прибылые). Абсолютная амплитуда составила 18,8 и 20,4 %. При этом в отличие от индекса печени относительные размеры почек изменяются по годам в обратной зависимости от массы тела, а значит, и в связи с уровнем размножения и численностью популяции. Так, наименьшей относительной величиной почек отличались полевки, добытые в 1966, 1969–1970, 1972, 1979, 1982, 1986 гг. Характеризовавшие одновременно более высокой массой тела полевки и, наоборот, наибольшие относительные показатели органа получены в 1967–1968, 1971–1972, 1974 и 1980 гг. при минимальных общих размерах тела. Таким образом, наблюдающиеся по годам обратные соотношения между численностью полевков и величиной почечного индекса отражают, скорее всего, не столько изменения уровня метаболических процессов в популяции, сколько годовые различия по массе тела. Последние, впрочем, тоже могут служить хорошим индикатором состояния популяции.

Географические изменения рассматриваемого показателя [см. Ивантер, 2023, табл. 4] не очень отчетливы. Тем не менее они подтверждают отмеченное рядом авторов [Шварц, 1960; Большаков, 1965, 1972] повышение

индекса почки у рыжих полевков на севере. По мнению Большакова, обитание вида в суровых северных условиях ведет к интенсификации обмена веществ, что и сопровождается увеличением размеров почек.

Индивидуальная изменчивость индекса почек у рыжей полевки Карелии сравнительно невелика, по некоторым сериям она даже ниже, чем вариабельность индекса сердца. В целом коэффициент вариации относительной массы почек молодых зверьков несколько выше, чем взрослых (в среднем по всем летним сериям 19 и 15 %), а у самок больше, чем у самцов (в группе поздних прибылых – 17,7 и 11,6 %, зимовавших – 17,9 и 10,7 %). Исключение составляют лишь зверьки ранних выводков, демонстрирующие обратные соотношения: 20,8 % у самцов и 18,2 % у самок. Обнаруживаются также различия по степени вариабельности абсолютного и относительного показателей (индекс, как всегда, стабильнее абсолютной величины), однако в данном случае эти различия гораздо меньше, чем по другим интерьерным признакам [см. Ивантер, 2023, табл. 3].

Выявленная при межвидовом сопоставлении обратная зависимость размеров почек от массы тела обнаруживается и внутривидовым корреляционным анализом. В отношении почек корреляция выражена особенно четко, что подтверждает тесную связь индекса данного органа с интенсивностью метаболизма, определяемого площадью теплоотдачи на единицу массы тела [Шварц и др., 1968]. Наиболее отчетливая обратная корреляция между индексом почек и размерами тела наблюдается у рыжей полевки в группе зимовавших весной ($r = -0,62 \pm 11$) и у прибылых раннего рождения летом ($r = -0,71 \pm 0,09$). В остальных случаях связь менее тесная, но, как правило, также статистически достоверна.

Селезенка. Как депо эритроцитов, регулятор кровотока и один из факторов резистентности организма, селезенка может служить хорошим индикатором физиологического состояния животных. При этом в отличие от большинства других интерьерных показателей индекс селезенки, по-видимому, непосредственно не зависит от массы тела и представляет в этом плане своеобразное исключение из «правила рядов» Гессе. Это видно и при межвидовом сравнении, и по отсутствию достоверной корреляции между величиной органа и размерами тела. Отсутствие такой связи объясняется не только общим исключительно высоким уровнем индивидуальной изменчивости селезенки, но и большой чувствительностью этого органа к экологическим воздействиям.

Последнее определяет значение селезенки как специфического индикатора физиологического состояния организма и привлекает интерес к изучению динамики ее размеров на протяжении полного жизненного цикла вида.

Ход сезонно-возрастных изменений абсолютной и относительной массы селезенки рыжих полевков разного времени рождения (табл.; рис. 1) подтверждает закономерный характер этих колебаний, отражающих популяционную ритмику обменных процессов, связанную с половым созреванием, ростом и размножением животных. Прежде всего обращает на себя внимание сходство в динамике абсолютных и относительных показателей и параллелизм их изменений у самцов и самок. У прибылых ранних выводков абсолютные размеры селезенки сначала резко увеличиваются (у самцов – с 36,9 мг в июне до 191,5 мг в августе, т. е. на 419 %, у самок – с 34 до 183,6 мг, или на 440 %). А затем, после окончания размножения, столь же резко падают. Приблизительно так же ведет себя и индекс органа: с июня по август возрастает у самцов с 2,7 до 9,2 % (на 241 %), у самок – с 2,6 до 7,0 % (на 169 %), а в сентябре снижается почти до июньских величин (2,9 %).

Иной характер имеют сезонно-возрастные изменения размеров селезенки у зверьков позднего рождения. Сначала, от июля к августу, наблюдается небольшой рост показателей, после чего наступает длительный период неуклонного снижения, двух-трехмесячная фаза зимней депрессии и наконец стадия резкого весенне-летнего подъема, сменяющаяся осенним падением. При этом и абсолютные, и относительные показатели как у самцов, так и у самок испытывают аналогичные изменения, сходные не только по темпам и направлению, но и по масштабам. Например, величина августовского подъема составила по отношению к июльским цифрам по абсолютным показателям у самцов 59,4 %, у самок – 36,0 %, а по относительным – соответственно 19,0 и 51,4 %. Амплитуды осенне-зимнего падения также близки: по абсолютной массе – 84,1 % у самцов и 81,2 % у самок, по относительной – 82,0 и 82,1 %. Параллельно происходит и весенне-летний подъем. С февраля-марта по июнь масса селезенки увеличивается у самцов на 1631 %, у самок на 1448 %, индекс соответственно на 800 и 714,3 %.

Анализируя сезонно-возрастные колебания размеров селезенки, нельзя не видеть отчетливую связь этого показателя как с общим репродуктивным состоянием популяции, так и с половым созреванием и участием в размножении отдельных групп животных. Это проявляется и в сезонных (в разгар размножения индекс

селезенки самцов и самок всегда в 2–3 раза выше, чем в другие периоды), и в возрастных (у прибылых ранних и поздних генераций и зимовавших индекс органа в один и тот же месяц, например в июле, составил у самцов 5,3; 4,2 и 7,3 %, у самок – 7,0; 3,7 и 5,7 %), и в годовых отличиях. Правда, последние из-за огромной индивидуальной изменчивости весового показателя не всегда статистически достоверны. Тем не менее общая тенденция проявляется достаточно четко: в годы интенсивного размножения популяции (1966, 1969–1970, 1973, 1979, 1982, 1985–1986, 1989 гг.) средняя величина индекса селезенки характеризовалась значительно более высокими цифрами (6,4–12,3 ‰), чем при низком уровне репродукции (2,1–6,6 % в 1968, 1972, 1974–1975 и 1980 гг.). Важно подчеркнуть, что эта зависимость не связана с годовой динамикой массы тела и, следовательно, отражает реальные процессы, протекающие в организме грызунов как реакция на изменение состояния популяции и общую экологическую обстановку.

Биотопические отличия имеют неопределенный характер: практически каждый из выделенных биотопов хотя бы для одной из возрастных или половых групп оказывается по индексу селезенки на первом или на последнем месте.

Гораздо отчетливее половые различия, но и они неоднозначны. Если в группе зимовавших на всех сериях индекс селезенки выше у самцов, то у прибылых ранних выводков это характерно лишь для августа, а в остальные месяцы лидируют самки.

Известный по ряду более ранних исследований [Rensch, 1948; Шварц, 1963; Яблоков, 1966 и др.] исключительно высокий уровень индивидуальной изменчивости размеров селезенки находит подтверждение и на наших материалах. Коэффициенты вариации этого признака колеблются в изученных карельских сериях рыжей полевки по абсолютным показателям от 30,3 до 170,5 %, по относительным – от 26,9 до 144,3 %, что в несколько раз выше, чем у любых других внутренних органов. О высокой чувствительности селезенки к самым разнообразным экологическим воздействиям (отсюда и широкая вариабельность ее размеров) говорит также нарушение установленной для большинства других интерьерных признаков обратной связи между величиной и степенью изменчивости. Более того, по отношению к индексу селезенки отчетливо прослеживается прямая связь: наибольшее варьирование показателя приходится на те месяцы, когда индекс выше, и наоборот, при уменьшении относительной массы органа уровень его изменчивости также снижается [Ивантер, 2023, табл. 3].

Надпочечники. Как показывают многочисленные исследования [см. обзор: Краснощевков, 1975], в процессе приспособления животных к сезонным изменениям среды большую роль играет изменение гормональной активности коры надпочечников, что находит отражение в динамике абсолютной и относительной массы железы. С этих позиций сезонные изменения индекса надпочечников можно рассматривать как индикатор физиологической напряженности организма и ритмики обменных процессов на протяжении жизненного цикла вида [Warburton, 1955].

При этом размеры надпочечников четче, чем любые другие анатомические показатели, демонстрируют закономерные видовые отличия, соответствующие «правилу величины» Гессе: в ряду изученных видов мелких млекопитающих индекс органов изменяется обратно пропорционально общим размерам тела. Это подтверждает связь величины надпочечников с уровнем обмена веществ и характеризует рыжую полевку как вид со средней скоростью передвижения и умеренной напряженностью метаболических процессов.

Связь размеров надпочечников (как показателя их функциональной активности) с общим физиологическим состоянием и степенью энергонапряженности организма полевок (что в свою очередь отражает изменения, происходящие и в популяции, и в окружающей среде) выявляется и в своеобразной сезонно-возрастной динамике абсолютной и относительной массы органа (табл.; рис. 1). А то, что сезонные колебания абсолютного и относительного показателей идут почти параллельно, свидетельствует о реальности весовых изменений самих надпочечников, а не только соотношений между их величиной и массой тела. По нашим данным, особенно четко проявляется связь размеров этих желез с процессами полового созревания и размножения зверьков, что приводит к характерным половым и возрастным различиям, в частности обуславливает своеобразие хода сезонных изменений рассматриваемого признака у представителей разных сезонных генераций рыжей полевки.

У полевок ранних (весенних) выводков уже в первый месяц самостоятельной жизни (в июне-июле) абсолютные и относительные размеры надпочечников довольно высоки, что говорит о большой физиологической напряженности организма в период интенсивного развития и роста, протекающих к тому же на фоне приспособления молодых животных к новым для них экологическим условиям. Тем не менее и во второй половине лета, в связи с бурным раз-

множением зверьков ранних генераций, масса железы продолжает возрастать, достигая максимума в конце июля – августе. Величина летнего подъема составляет по отношению к июню для абсолютных показателей у самцов 68,9 % (4,5–7,6 мг), у самок – 125,6 % (8,2–18,5 мг), для относительных – 46,7 % (0,30–0,44 ‰) и 44,1 % (0,68–0,98 ‰). После окончания размножения напряженность метаболизма в организме полевок спадает, соответственно снижаются и размеры надпочечников (рис. 1).

Иначе протекают сезонно-возрастные изменения железы у прибылых зверьков позднего (летнего) рождения. В начальный период жизненного цикла динамика размеров надпочечников не связана у них с размножением и всецело определяется сезонными изменениями во внешней среде. В соответствии с некоторым усилением энергонапряженности организма в связи с переходом к самостоятельной жизни и массовым расселением молодых животных индекс надпочечников сначала растет (у самцов на 0,11 % (что составляет 35,5 % от июньских показателей), у самок – на 0,07 % (15,6 %)), а затем, с прекращением роста и соответствующим снижением энергетических затрат, неуклонно, хотя и медленно, снижается вплоть до начала зимы. За этот период (с августа-сентября и по декабрь) относительные размеры железы снижаются у самцов на 0,14 % (31,8 %), а у самок – на 0,28 % (53,8 %), причем в декабре годовой минимум прослеживается и по абсолютным показателям. Зимой, после установления снежного покрова, стабилизации экологических условий и перестройки терморегуляции организма на зимний вариант, напряженность обменных процессов достигает минимального уровня, в соответствии с чем функциональная активность и размеры надпочечников низкие. Это еще одно свидетельство минимизации обменных процессов у зимующих зверьков в подснежный период, что обеспечивает их успешную перезимовку в незрелой и мелкой «вегетативной» фазе.

Весной, начиная с конца марта, у полевок наступает период быстрого роста и полового созревания, сопровождающийся резким возрастанием энергетических затрат. Это находит отражение в скачкообразном увеличении массы надпочечников, достигающей по абсолютным показателям 217,5 % (самцы) и 442,9 % (самки), по относительным – 107,9 и 183,3 % (от зимних величин). Характерные изменения, происходящие в этот период в гистологической структуре ретикулярной и клубочковой зон коры надпочечников, свидетельствуют о резкой активизации их эндокринных функций, в частности

усилении продуцирования андрогенов, эстрогенов и других гонадотропных гормонов коркового слоя [Howard-Miller, 1927; Chester, 1949; Delost, 1952; Delost, Delost, 1954; Christian, Davis, 1956; Chitty, Clarke, 1963; Siuda, 1964, 1973; Hyvarinen, 1969; Rodgers et al., 1974; Gustafsson, Andersson, 1980; Pankakoski, Tahka, 1982].

К осени, по мере снижения интенсивности размножения, когда напряженность обменных процессов спадает, соответствующую регрессию испытывают и размеры надпочечников, опускающиеся почти до зимних показателей (рис. 1).

Как показывает проведенное исследование, тесная связь размеров надпочечников с репродуктивным состоянием животных проявляется не только в характере сезонно-возрастной динамики абсолютных и относительных показателей, но и в своеобразии полового диморфизма, четко выраженного лишь у размножающихся полевок. Согласно полученным данным (табл.), и в группе половозрелых прибылых, и среди зимовавших величина надпочечников у самок во все месяцы исследований была больше, чем у самцов, причем различия отчетливо возрастали в периоды наиболее интенсивного размножения.

Относительно биотопических изменений картина получается довольно пестрая. Например, если в группе самцов ранних выводков на первом месте по индексу надпочечников стоят зверьки из лиственных лесов, а у самок этого возраста – особи из ельников и сосняков, то среди зимовавших самцов лидируют полевки из культурных участков, а среди самок – из смешанных лесов. Наконец, в группе неполовозрелых прибылых зверьки из разных биотопов по этому признаку вообще не отличаются.

Годовые изменения более существенны и демонстрируют прямую связь с интенсивностью размножения и численностью популяции. В годы, отличавшиеся активной репродукцией и быстрым нарастанием численности, относительные размеры надпочечников полевок были выше, а в периоды депрессии при слабом размножении зверьков – ниже. Однако имеются и исключения (например, низкий уровень индекса надпочечников у зимовавших полевок в отличавшийся высокой численностью 1966 г. или, наоборот, высокий – у половозрелых прибылых в депрессионный для популяции 1968 г.), не позволяющие однозначно трактовать полученные данные как подтверждение, по крайней мере у рыжих полевок, участия надпочечников в эндокринной стресс-регуляции численности грызунов. К тому же выявленная зависимость касается связи индекса железы с уровнем

размножения, а не с плотностью популяции, да и сами годовые колебания численности зверьков за двадцатилетний период применения метода морфофизиологических индикаторов были не столь велики, чтобы можно было считать их в этом плане достаточно показательными.

Индивидуальная изменчивость размеров надпочечников у рыжей полевки Карелии исключительно велика [Ивантер, 2023, табл. 3]. Пожалуй, лишь селезенка отличается еще большим уровнем варьирования, изменчивость же остальных интерьерных показателей в 2–3 раза ниже. Как и у селезенки, обратной связи между величиной и степенью изменчивости размеров органа на надпочечниках не прослеживается, во многих случаях наблюдаются даже обратные соотношения, свидетельствующие о высокой чувствительности железы к экологическим воздействиям. Несмотря на неоднородность данных, выявляются достаточно характерные и отчетливые возрастные и половые отличия. Средняя величина изменчивости индекса для всех изученных нами серий зимовавших рыжих полевок составила по самцам и самкам соответственно 36,4 и 31,5 %, для прибылых ранних выводков – 39,1 и 71,8 %, поздних – 38,9 и 47,2 %. Это вполне согласуется с известным представлением о высокой пластичности и экологической гетерогенности ранних прибылых, особенно по репродуктивному состоянию и участию в размножении, тогда как не размножающиеся молодые и особенно прошедшие жесткий отбор и элиминацию зимовавшие зверьки отличаются по данному показателю гораздо большей однородностью. Аналогичные отличия демонстрирует изменчивость абсолютных размеров надпочечников, однако общий уровень их варьирования почти во всех случаях в 1,5–2 раза выше.

Тимус (зобная или вилочковая железа) используется в морфофизиологических исследованиях в качестве показателя развития животных [Bazan, 1955; Warburton, 1955; Оленев, 1967]. Установлена также зависимость функции (и размеров) тимуса от условий окружающей среды и физиологического состояния организма [Harms, 1948; Шварц, 1960].

Между тем характер сезонно-возрастных изменений абсолютной и относительной массы тимуса у полевок разных генераций весьма своеобразен (табл.; рис. 1). У весенних поколений грызунов процесс инволюции зобной железы проходит чрезвычайно быстро и к сентябрю в возрасте 3–4 мес. полностью завершается. До конца июля (у самок) или середины августа (у самцов) при продолжающемся интенсивном росте молодых полевок ранних генераций

абсолютные размеры тимуса демонстрируют небольшое увеличение, параллельное изменениям массы тела, после чего наблюдается быстрая регрессия железы, приводящая к почти полному ее исчезновению в сентябре. В то же время относительная величина тимуса и у самцов, и у самок непрерывно уменьшается начиная с июня, и лишь на последней стадии (с августа по сентябрь) совпадает с характером изменений абсолютных показателей. В итоге инволюции абсолютные и относительные размеры железы сокращаются почти в 5 раз: с 26 мг (1,8–2,2 %) в июне до 6–7 мг (0,3–0,5 %) в сентябре.

Совершенно иначе проходит развитие тимуса у зверьков, родившихся летом (поздние генерации). До конца августа размеры тимуса изменяются у них незначительно, лишь осенью происходит его уменьшение, но весной после зимнего минимума параллельно возобновлению роста наблюдается и увеличение размеров зубной железы (рис. 1). Полную инволюцию этот орган испытывает у полевок поздней генерации лишь к июлю-августу второго года жизни, когда зверьки достигают возраста 10–12 мес. В этом мы видим еще одно подтверждение нетождественности календарного и физиологического возраста полевок разных сезонных генераций. По достижении одного и того же календарного возраста весенние и летне-осенние зверьки находятся на разных стадиях возрастного развития. В возрасте 3–4 мес. первые уже завершают свой жизненный путь и демонстрируют явные признаки старения (в том числе инволюцию тимуса), тогда как вторые – еще в полном смысле слова молодые, незрелые животные, и признаки старческого увядания появятся у них лишь 10–11 месяцев спустя.

Кроме того, в отличие от зверьков ранних генераций у полевок позднего рождения сезонно-возрастные изменения абсолютных и относительных показателей имеют аналогичный характер и протекают синхронно у самцов и самок. После небольшого августовского подъема, обусловленного, вероятно, некоторым «омоложением» популяции за счет появления особей самых младших возрастных групп с сильно развитым тимусом, наблюдается резкое, 7–9-кратное снижение размеров: с 41,7–49,0 до 4,7–7,0 мг по абсолютным и с 2,8–3,4 до 0,4–0,5 % по относительным величинам. Вторичное увеличение тимуса, наступающее после осенне-зимней регрессии, соответствует началу весеннего роста полевок, но по темпу и масштабам значительно уступает бурному нарастанию массы тела. Соответственно,

менее выражена и вторичная инволюция органа: с 6,4–9,7 мг (0,6 %) в апреле-мае до 1,3–1,5 мг (0,04–0,05 %) в августе (на 80–90 % от весеннего максимума).

Половой диморфизм по величине тимуса весьма отчетлив: почти во всех сериях абсолютные и относительные показатели больше у самок. Самки развиваются и растут обычно быстрее самцов и, вероятно, поэтому отличаются большими размерами тимуса. Четких годовых и биотопических отличий на нашем материале не обнаружено.

Величина тимуса – один из наиболее изменчивых интерьерных признаков, уступающий в этом отношении лишь селезенке. По месяцам коэффициент вариации абсолютных показателей (%) колеблется у молодых самцов от 33,5 до 58,5 (в среднем 44,3), а у зимовавших – от 56,3 до 75,4 (67,8), у самок соответственно 17,5–55,7 (38,6) и 36,1–81,8 (60,8). Изменчивость индекса (%) характеризуется близкими цифрами: у молодых самцов – 32,5–61,6, в среднем 45,5; у самок – 20,2–64,4, в среднем – 41,7; у зимовавших 43,5–85,7, в среднем 71,1 (самцы) и 46,7–84,3, в среднем 67,7 (самки). Таким образом, у самцов индивидуальная изменчивость размеров тимуса несколько больше, чем у самок, а у зимовавших выше, чем у молодых.

Кишечник. Значение длины кишечника в качестве одного из наиболее показательных индикаторов эколого-физиологических особенностей животных, и прежде всего их кормовой специализации, а также уровня обмена веществ, не вызывает сомнений. Оно подтверждается нашими данными, свидетельствующими о тесной связи размера кишечника с типом питания и метаболизмом видов [Ивантер, 1976] и имеет достаточно полное обоснование в специальной литературе [Боголюбский, 1936; Обухова, 1948; Rensch, 1948; Величко, Мокеева, 1949; Warburton, 1955; Кулаева, 1958; Марвин, 1959; Олькова, 1960; Мурча, 1964; Козлов, Тухсанова, 1966; Воронцов, 1967; Башенина, 1969; Большаков, 1970; Наумова, 1981; Халилов, 1995].

По нашим данным, по длине и соотношению отделов кишечника рыжая полевка занимает промежуточное положение между типичными насекомоядными и семеноядными видами и формами, потребляющими однообразный, богатый клетчаткой зеленый корм. При этом по сравнению с другими видами грызунов у рыжей полевки тонкий отдел кишечника отличается наибольшей относительной длиной, а толстый и особенно слепой – наименьшей. Это объясняется смешанным питанием, состоящим из таких полноценных кормов, как ягоды,

грибы, семена, сочное луговое разнотравье и насекомые.

Сезонно-возрастные изменения общей длины кишечника и его слепого отдела у обоих полов имеют в целом аналогичную направленность, но у самок они выражены рельефнее и заключаются в некотором увеличении общего индекса длины кишечника и относительной длины слепой кишки от лета первого года жизни к осени, после чего происходит почти непрерывное снижение показателей до весны, а затем новый рост индексов (табл.; рис. 2).

Такой характер возрастных изменений имеет важный приспособительный смысл и обусловлен увеличением в осеннем питании полевых грубых клетчатковых кормов, а также изменениями взаимных пропорций длины кишечника и тела зверьков в результате несинхронности этих процессов. Сначала рост кишечника обгоняет рост тела, затем, особенно во время весенне-летнего скачка, устанавливаются обратные соотношения, и наконец, когда рост животного заканчивается, индекс кишечника снова несколько увеличивается. Таким образом, в самые ответственные для жизни зверька периоды, характеризующиеся повышением энергетических потребностей (в молодом возрасте, в переходные сезоны и на время размножения), организм животного «обслуживается» кишечником максимальной длины, что позволяет полностью использовать массовые виды корма. На связь относительной длины кишечника с уровнем метаболизма полевых указывают и характерные половые отличия. Во всех возрастных группах общий индекс кишечника и относительная длина слепого отдела выше у самок. Только у зимовавших полевых весной наблюдается обратное соотношение, но и то лишь по общему индексу.

Четких географических отличий в размерах кишечника рыжей полевки обнаружить не удастся. По данным Н. В. Башениной [1969], у зверьков этого вида на Европейском Севере по сравнению со средней полосой абсолютная и относительная длина всего кишечника и слепой кишки достоверно меньше. В. Н. Большаков [1965] также приходит к выводу об уменьшении общего индекса кишечника по направлению к северу, но указывает на обратную закономерность в отношении длины слепой кишки. По нашим данным, относительные размеры всего кишечника и слепого отдела у рыжей полевки в Карелии (894 и 135 %) заметно превышают аналогичные показатели всех более южных популяций, в том числе из Кировской обл., Татарии, Нижегородской обл., Южного и Среднего Урала, Республики Коми и ряда других регионов [Кулаева, 1958;

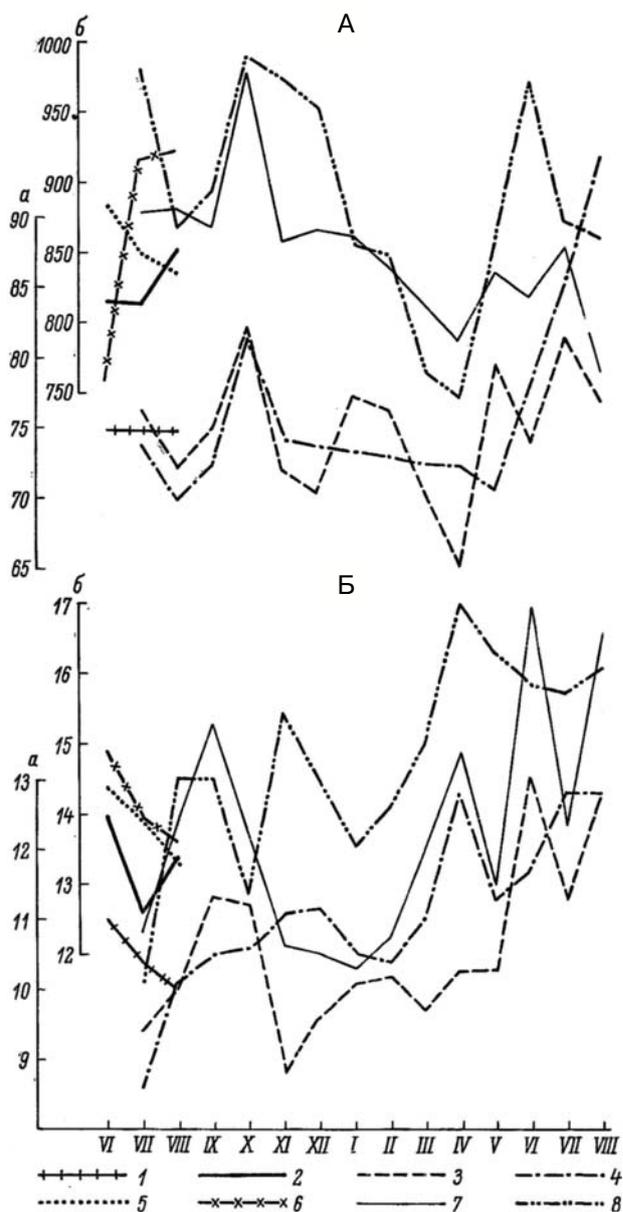


Рис. 2. Сезонно-возрастные изменения длины кишечника (А) и слепой кишки (Б) рыжих полевок разного времени рождения

По оси ординат: а – абсолютная длина, см, б – индекс, %

Fig. 2. Seasonal and age-related changes in the length of the intestines (A) and cecum (Б) of bank voles of different birth time.

Y-axis: а – absolute length, cm, б – index, %

Марвин, 1959; Шварц, 1960; Большаков, 1965, 1970, 1972; Козлов, Тухсанова, 1966; Маринина, 1966; Башенина, 1969; Большаков, Васильев, 1975]. Это связано с отмеченной нами ранее [Ивантер, 1975, 1976] характерной особенностью питания вида в условиях таежного Северо-Запада России – переходом на более однообразные, менее питательные, но массовые

виды корма (зеленые части растений, кора, почки и др.).

Диапазон индивидуальной изменчивости длины кишечника сравнительно невелик, это характерно и для индекса, и для абсолютных показателей [см. Ивантер, 2023, табл. 3]. Коэффициенты вариации общей длины кишечника (%) у молодых самцов колеблются от 4,1 до 18,4 (в среднем 10,8), у самок – от 7,6 до 16,8 (11,7), у зимовавших – соответственно 11,5–35,8 (19,4) и 10,8–18,5 (14,7). Изменчивость индекса характеризуется близкими цифрами (%): у молодых самцов – 6,9–18,4 (в среднем 11,8), у самок – 9,1–16,6 (12,1), у зимовавших самцов и самок – 10,5–19,9 и 10,4–26,1 (средние соответственно 15,5 и 18,2). Приведенные данные говорят об отсутствии половых отличий в степени варьирования длины кишечника. Тогда как возрастные отличия достаточно отчетливы: у зимовавших коэффициенты изменчивости достоверно выше, чем у молодых полевок. Эта закономерность справедлива и для размеров слепой кишки: у зимовавших они варьируют сильнее, чем у прибылых, причем у обоих полов в одинаковой степени [см. Ивантер, 2023, табл. 3]. Разница лишь в том, что изменчивость абсолютных показателей в данном случае больше, чем относительных. Что же касается биотопических и годовых отличий по длине кишечника и его отделов, то ни по величине индекса, ни по уровню его варьирования их выявить не удается.

Заключение

Рассмотренные материалы, безусловно, не исчерпывают всего многообразия проблем, связанных с изучением морфофизиологических механизмов адаптации рыжей полевки к условиям северной периферии ареала. В то же время они позволяют остановиться и на некоторых более общих аспектах, касающихся ряда затронутых в работе аутоэкологических проблем.

Совершенствование энергетически выгодных и экологически целесообразных механизмов физической терморегуляции, по мнению С. С. Шварца [1963], было одним из основных направлений в эволюции адаптаций субарктических гомойотермных животных. Однако достигалось это разными путями. Выявленную многими исследователями высокую устойчивость северных млекопитающих к холодным нагрузкам (отсюда крайне низкое положение «критической точки» энергетического обмена), их способность длительное время поддерживать оптимальную температуру тела

при низких температурах без дополнительных энергетических затрат нельзя, конечно, объяснить одним лишь повышением теплоизоляционных свойств покровов. Неменьшую роль, очевидно, играют и биохимические адаптации, заключающиеся в способности поверхностных тканей организма к нормальному обмену при температурах, значительно более низких, чем сердцевины тела. Эффективность химической терморегуляции в качестве одного из важнейших компонентов приспособления мелких млекопитающих к низким температурам среды убедительно подтверждают исследования ряда эколого-физиологических показателей этих животных, в том числе и рассмотренных в данной работе. Показано, в частности, что вопреки распространенному мнению во время линьки механизмы физической терморегуляции не только не утрачивают своего значения, а напротив, служат важным звеном в цепи гомеостатических реакций, направленных на снижение непроизводительных трат энергии и потери тепла в сложные для жизни зверьков переходные периоды. В свою очередь, это приводит к характерным изменениям эколого-физиологических реакций: понижению уровня обмена, установлению постоянной температуры тела, соответствующим сдвигам в деятельности эндокринной системы и др.

Особенности экологии мелких млекопитающих в значительной мере определяют характер эколого-физиологической активности организма. В связи с особой кормовой специализацией и своеобразным суточным ритмом жизнедеятельности зверьков важное значение приобретают разнообразные адаптивные изменения, затрагивающие различные системы органов. Из-за малых размеров тела и большой относительной величины поверхности теплоотдачи у этих животных наблюдается очень высокий уровень метаболизма и сердечной деятельности. Большие энергетические потребности и связанный с ними постоянный термический дефицит мелкие млекопитающие компенсируют исключительной лабильностью адаптивных реакций, проявляющейся в закономерной сезонно-возрастной динамике основных морфофизиологических (интерьерных) показателей. Установлено, в частности, что в основе приспособительных реакций, направленных на успешную перезимовку, лежит минимизация обменных процессов, снижение энергетических затрат и общее торможение процессов жизнедеятельности.

Однако при всем многообразии конкретных путей и механизмов приспособления видов и популяций к среде обитания всем им, как

целостной экологической группе, свойственна единая адаптивная стратегия, реализуемая в виде уникального комплекса морфофизиологических и популяционно-экологических адаптаций, дополняющих друг друга и обеспечивающих мелким млекопитающим общий успех в борьбе за существование.

Анализ сезонно-возрастных изменений веса тела и ряда внутренних органов рыжей полевки в условиях северной периферии ареала позволяет выделить в постнатальном периоде ее полного жизненного цикла шесть достаточно четко выраженных фаз, характеризующихся конкретным «поведением» изученных морфофизиологических показателей, специфическим уровнем обменных процессов и определенными особенностями сезонной экологии отдельных внутривидовых групп животных. Первая фаза начинается с момента выхода молодых из гнезда и заканчивается в августе. В это время у неполовозрелых полевок поздних выводков завершается первый этап послегнездового роста и развития и проходит массовое расселение, в процессе которого зверьки приспособляются к новым условиям самостоятельной жизни. Все это требует высокой напряженности метаболизма и обуславливает увеличение абсолютных и относительных размеров внутренних органов. У прибылых грызунов весенней генерации первая фаза совпадает с периодом резкой интенсификации метаболизма в связи с размножением, отсюда и рост интерьерных показателей, значительно превышающий по темпам и масштабам аналогичные изменения у поздних прибылых.

Вторая фаза приходится на осень. Для нее характерна регрессия морфофизиологических индексов, сопровождающая падение уровня обмена веществ в связи с прекращением роста зверьков, снижением интенсивности расселения и завершением перестройки организма в соответствии с зимними условиями. Как показывают наши исследования, особенно резкое снижение испытывают в осенний период масса тела, размеры печени, селезенки, надпочечников и тимуса, свидетельствующие об осеннем торможении роста и подготовке выживающих зверьков к переживанию на пути адаптивной минимизации обменных процессов, неблагоприятного переходного периода. Предзимнее уменьшение веса тела и внутренних органов приводит к снижению энергетических потребностей и тем самым увеличивает стойкость зверьков к температурному фактору и недостатку пищи.

Третья фаза охватывает зимний период и характеризуется стабилизацией морфофи-

зиологических показателей на самом низком уровне, соответствующем глубокой депрессии метаболизма. В конечном итоге это ведет к снижению энергетических затрат и успешной перезимовке зверьков в мелкой и незрелой, вегетативной фазе.

Четвертая фаза – весенний скачок в росте и развитии перезимовавших зверьков, происходящий в условиях северной периферии ареала на апрель-май и характеризующийся бурным ростом всех морфофизиологических показателей, особенно веса тела, печени, селезенки, почек и надпочечников, связанным с половым созреванием и выходом животных из зимней депрессии. Весенне-летнее увеличение органов сопровождается резкой интенсификацией обмена веществ, призванной обеспечить размножение популяции, нормальное течение беременности и лактацию.

Пятая фаза – период относительной стабилизации физиологических функций на высоком уровне, определяющем интенсивное размножение взрослых и ранних прибылых особей. Шестая фаза завершает жизненный цикл животных. Она характеризуется явлениями старческой регрессии – снижением уровня метаболизма, замедлением всех физиологических процессов, прекращением половой активности, дегидратацией тканей.

Таким образом, проанализированный общий ход сезонно-возрастных изменений абсолютной и относительной массы внутренних органов рыжей полевки достаточно точно отражает соответствующую ритмику обменных процессов. Следует также подчеркнуть, что сезонно-возрастная динамика относительных показателей имеет в целом обособленный характер и в большинстве случаев не проявляет четкой обратной связи с общими размерами тела. Отсюда ясно, что определяющими в сезонно-возрастных изменениях индексов органов являются не столько простые физиологические зависимости между уровнем обмена и массой тела, сколько корректирующее действие экологических факторов, в том числе и внутривидовых.

Как показали наши исследования, одной из наиболее емких динамических характеристик популяции, отражающей всю сложность ее взаимоотношений со средой обитания и постоянную готовность к микроэволюционным преобразованиям, вполне может служить индивидуальная изменчивость морфофизиологических признаков. В связи с этим особенно важно правильно оценивать степень варьирования интерьерных показателей, что представляется отнюдь не простой задачей, особенно

в свете проходивших в конце 1960-х годов дискуссий о способах измерения и изучения изменчивости [Рогинский, 1959; Яблоков, 1966; Шварц и др., 1968; Смирнов, 1971; Башенина, 1977; Егоров, 1983]. Не затрагивая чисто методических аспектов проблемы и оставляя последнее слово за специалистами-математиками, следует тем не менее согласиться с мнением авторов, считающих коэффициент вариации вполне адекватным и объективным критерием, хорошо отражающим фактическое разнообразие совокупности независимо от абсолютной величины признака [Яблоков, 1966; Смирнов, 1971; Добринский, 1981; Егоров, 1983]. Что же касается главного возражения, выдвигаемого обычно против применения коэффициента изменчивости, чаще всего оно сводится к тому, что, представляя собой процентное отношение среднего квадратичного отношения (сигма) к среднему арифметическому, оно якобы всецело зависит от величины последнего. Вряд ли это можно признать основательным. Здесь уместно напомнить, что данный критерий как раз и был создан для унификации показателей изменчивости разных или разноразмерных признаков путем приведения их к одному масштабу. Отнесением квадратичных отклонений к соответствующим средним мы переводим их в соизмеримые показатели и тем самым освобождаем от влияния величины самого признака.

Как показано выше, из всех изученных нами морфофизиологических признаков рыжей полевки наибольшей изменчивостью отличается величина селезенки, за ней в порядке убывания следуют размеры тимуса, надпочечников, печени, сердца, почек и длина кишечника. При этом для одних и тех же органов установлены вполне значимые различия в уровне изменчивости в зависимости от пола, возраста, сезона и года исследований. Так, более широкая амплитуда изменчивости обычно наблюдается у старых (зимовавших) особей и бывает больше у самок, чем у самцов. Что же касается характера сезонно-возрастных колебаний степени изменчивости индексов, то он отражает сезонную динамику фенотипического разнообразия и морфофизиологическую неустойчивость популяции, в том числе разнокачественность и лабильность по уровню метаболизма. В наиболее ответственные («критические») периоды, требующие максимального напряжения обменных процессов, например в период размножения или линьки, индексы органов демонстрируют наибольшую стабильность, а при снижении интенсивности метаболизма (в середине зимы) изменчивость их резко увеличивается.

Литература

- Башенина Н. В. Интерьерные показатели мелких грызунов и их связь с уровнем энергетического обмена // Уч. зап. Пермск. пед. ин-та. 1969. Т. 79. С. 75–116.
- Башенина Н. В. Пути адаптации мышевидных грызунов. М.: Наука, 1977. 355 с.
- Боголюбский С. Н. Эволюционная морфология домашних животных // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1936. Вып. 2-3. С. 120–125.
- Большаков В. Н. Материалы по сравнительному изучению близких видов полевков // Материалы по сравнительному изучению географической изменчивости интерьерных признаков. Тр. Ин-та биологии УФ АН СССР. Свердловск, 1965. Вып. 38. С. 53–60.
- Большаков В. Н. Экологическая обусловленность некоторых интерьерных признаков мелких млекопитающих гор в связи с характером питания // Экология. 1970. № 6. С. 70–79.
- Большаков В. Н. Пути приспособления мелких млекопитающих к горным условиям. М.: Наука, 1972. 199 с.
- Большаков В. Н., Васильев А. Г. Пространственная структура и изменчивость популяций рыжей полевки на южной границе ареала // Популяционная изменчивость животных. Свердловск: УНЦ СССР, 1975. С. 3–31.
- Величко М. А., Мокеева Г. М. О некоторых характерных особенностях строения и функции кишечника грызунов // Тр. ВИЗР. Л., 1949. Вып. 2. С. 86–89.
- Воронцов Н. Н. Эволюция пищеварительной системы грызунов (Мышеобразные). Новосибирск: Наука, 1967. 239 с.
- Добринский Л. Н. Динамика морфофизиологических особенностей птиц. М.: Наука, 1981. 124 с.
- Егоров Ю. Е. Механизмы дивергенции. М.: Наука, 1983. 173 с.
- Ивантер Э. В. Популяционная экология мелких млекопитающих таежного Северо-Запада СССР. Л.: Наука, 1975. 247 с.
- Ивантер Э. В. Питание и некоторые морфофизиологические особенности мышевидных грызунов Карелии // Экология птиц и млекопитающих Северо-Запада СССР. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1976. С. 68–95.
- Ивантер Э. В. Анализ морфофизиологических показателей и их динамики на протяжении жизненного цикла рыжей полевки *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. Сообщение I. Масса тела, индексы сердца и печени // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 5–21. doi: 10.17076/eb1737
- Козлов В. И., Тухсанова Н. Г. Питание мышевидных грызунов // Уч. зап. Горьковск. гос. ун-та, 1966. Вып. 75. С. 117–128.
- Краснощечков Г. П. Гипотеза эндокринной регуляции численности популяции // Материалы по экологии мелких млекопитающих Субарктики. Новосибирск: Наука, 1975. С. 34–72.
- Кулаева Т. М. Материалы по экологической морфологии рыжих полевков // Изв. Казанск. фил. АН СССР. Сер. биол. 1958. № 6. С. 7–25.

Марвин М. Я. Млекопитающие Карелии. Петрозаводск: Госиздат КАССР, 1959. 238 с.

Маринина Л. С. Предвесенние изменения морфофизиологического состояния популяции рыжих полевок (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) // Тр. Ин-та биол. УФ АН СССР. Свердловск, 1966. Вып. 51. С. 123–128.

Наумова Е. И. Функциональная морфология пищеварительной системы грызунов и зайцеобразных. М.: Наука, 1981. 262 с.

Обухова А. Д. Взаимосвязи типа питания и структуры пищеварительного тракта у различных видов животных // Вестн. животноводства. 1948. № 2. С. 68–80.

Оленев В. Г. Сезонные изменения некоторых морфофизиологических признаков грызунов в связи с динамикой возрастной структуры популяций: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1964. 26 с.

Оленев В. Г. Сезонные и возрастные изменения веса зубной железы у грызунов // Тр. МОИП. Отд. биол. 1967. Т. 72. С. 67–77.

Олькова Н. В. Сравнительные данные о строении кишечника некоторых видов забайкальских грызунов // Изв. Иркутск. науч.-иссл. противочумн. ин-та Сибири и Дальнего Востока. 1960. Т. 23. С. 223–235.

Рогинский Я. Я. О некоторых результатах применения количественного метода к изучению морфологической изменчивости // Арх. анат., гистол. и эмбриол. 1959. Т. 326, № 1. С. 83–89.

Смирнов В. С. Изменчивость биологических явлений и коэффициент вариации // Журн. общ. биол. 1971. Т. 32, № 2. С. 152–162.

Халилов Ф. К. К сравнительной морфологии кишечника млекопитающих в связи с характером питания // Зоол. журн. 1995. Т. 34, вып. 2. С. 415–426.

Чернявский Ф. Б., Ткачев А. В. Популяционные циклы леммингов в Арктике: Экологические и эндокринные аспекты. М.: Наука, 1982. 162 с.

Шварц С. С. Некоторые закономерности экологической обусловленности интерьерных особенностей наземных позвоночных животных // Проблемы флоры и фауны Урала. Свердловск: УФ АН СССР, 1960. С. 113–177.

Шварц С. С. Пути приспособления наземных позвоночных животных к условиям существования в Субарктике. I. Млекопитающие. Свердловск: Уральский рабочий, 1963. 133 с.

Шварц С. С., Смирнов В. С., Добринский Л. Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск: УФ АН СССР, 1968. 387 с.

Яблоков А. В. Изменчивость млекопитающих. М.: Наука, 1966. 363 с.

Яскин В. А., Лобанова Н. А. Сезонные изменения головного мозга и основных морфофизиологических показателей у рыжей полевки // Популяционные механизмы динамики численности животных. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1977. С. 33–48.

Bazan I. Untersuchungen über die Veränderlichkeit des Geschlechtsapparates und des Thymus der Wasserspitzmaus (*Neomys fodiens* Schreb.) // Ann. Univ. M. Curie Sklod. Sect. C. 1955. Vol. 5. S. 214–259.

Chester J. I. The relationship of the mouse adrenal cortex to the pituitary // Endocrinology. 1949. No. 45. P. 514–536.

Chitty H., Clarke J. R. The growth of the adrenal gland of laboratory and field voles, and changes in it during pregnancy // Can. J. Zool. 1963. Vol. 41. P. 1025–1031.

Christian J. J., Davis D. E. The relationships between adrenal weight and population status in Norway rats // J. Mammal. 1956. Vol. 37, no. 4. P. 475–486.

Delost P. Le cortex surrenal du campagnol des champs (*Microtus arvalis* L.) et ses modifications apres castration // C. R. Soc. Biol. 1952. Vol. 146. P. 27–31.

Delost P., Delost H. Existence d'une zone surrenalienne chez le campagnol roussatre (*Clethrionomys glareolus* S.) // C. R. Soc. Biol. 1954. Vol. 148. P. 1778–1793.

Gustafsson T. O., Andersson C. B. Adrenal growth during pregnancy in the bank vole, *Clethrionomys glareolus*: invitation by mating // Can. J. Zool. 1980. Vol. 58. P. 1458–1461.

Harms J. W. Der Thymus bei *Xenopus laevis* // Verh. Disch. Zool. Ges. 1948. Bd. 16. S. 114–116.

Howard-Miller E. A. A transitory zone in the adrenal cortex which shows age and sex relationships // Amer. J. Anat. 1927. Vol. 40. P. 251–293.

Hyvarinen H. Seasonal variation and distribution of alkaline phosphatase and glucose-phosphatase activity in the liver of the common shrew (*Sorex araneus* L.) and the bank vole (*Clethrionomys glareolus* Schr.) // Aquilo. Ser. Zool. 1969. Vol. 9. P. 44–49.

Myrcha A. Variations in the length and weight of the alimentary tract of *Clethrionomys glareolus* (Schreber, 1780) // Acta Theriol. 1964. Vol. 9, no. 10. P. 1–10.

Pankakoski E., Tahka K. Relation of adrenal weight to sex, maturity and season in five species of small mammals // Ann. Zool. Fenn. 1982. Vol. 19. P. 222–232.

Rensch B. Organproportionen und Körpergröße bei Vögeln und Säugetieren // Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 1948. Bd. 61, H. 4. S. 337–412.

Rodgers C. H., Schwarts N. B., Nequing L. Interaction between the ovarian and adrenergic regulating systems / Occurrence of ovulation // Biol. rhythms in neuroendocrine activity. Tokyo, 1974. P. 241–252.

Siuda S. Morphology of the adrenal cortex of *Sorex araneus* L., 1758, during the life cycle // Acta Theriol. 1964. Vol. 8, no. 7. P. 115–124.

Siuda S. The occurrence of X-zone in the adrenal glands of two rodent species // Acta Theriol. 1973. Vol. 18, no. 15. P. 471–480.

Warburton F. E. Feedback in development and its evolutionary significance // Amer. Nat. 1955. Vol. 89. P. 846–858. doi: 10.1086/281872

Welcker H., Brandt A. Gewichtswerte der Körperorgane bei den Menschen und den Thieren. Ein Beitrag zur vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte // Arch. f. Anthropol. 1903. Bd. 28, H. 1–2. S. 1–89.

References

Bashenina N. V. Interior indicators of small rodents and their relationship with the level of energy metabolism. *Uch. zap. Permsk. ped. in-ta = Proceedings Perm Pedagogical Institute*. 1969;79:75–116. (In Russ.)

Bashenina N. V. Ways of adaptation of mouse-like rodents. Moscow: Nauka; 1977. 355 p. (In Russ.)

Bazan I. Untersuchungen über die Veränderlichkeit des Geschlechtsapparates und des Thymus der Wasser- spitzmaus (*Neomysfodiensfodiens* Schreb.). *Ann. Univ. M. Curie-Sklod. Sect. C.* 1955;5:214–259.

Bogolyubskii S. N. Evolutionary morphology of domestic animals. *Izv. AN SSSR. Ser. biol. = Proceedings AS USSR. Biol. Ser.* 1936;2-3:120–125. (In Russ.)

Bol'shakov V. N. Materials on the comparative study of closely related species of voles. *Materialy po sravnitel'nomu izucheniyu geograficheskoi izmenchivosti inter'ernykh priznakov. Tr. In-ta biologii UF AN SSSR = Materials on the comparative study of geographical variation of interior characteristics. Proceed. Institute Biol. UB AS USSR.* 1965;38:53–60. (In Russ.)

Bol'shakov V. N. Ecological dependence of some interior characteristics of small mountain mammals in connection with the nature of feeding. *Ekologiya = Ecology.* 1970;6:70–79. (In Russ.)

Bol'shakov V. N. Ways of adaptation of small mammals to mountain conditions. Moscow: Nauka; 1972. 199 p. (In Russ.)

Bol'shakov V. N., Vasil'ev A. G. Spatial structure and variation of bank vole populations at the southern boundary of the range. *Populyatsionnaya izmenchivost' zhivotnykh = Population variation of animals.* Sverdlovsk: UNTs SSSR; 1975. P. 3–37. (In Russ.)

Chester J. I. The relationship of the mouse adrenal cortex to the pituitary. *Endocrinology.* 1949;45:514–536.

Chernyavskii F. B., Tkachev A. V. Population cycles of lemmings in the Arctic: Ecological and endocrine aspects. Moscow: Nauka; 1982. 162 p. (In Russ.)

Chitty H., Clarke J. R. The growth of the adrenal gland of laboratory and field voles, and changes in it during pregnancy. *Can. J. Zool.* 1963;41:1025–1031.

Christian J. J., Davis D. E. The relationships between adrenal weight and population status in Norway rats. *J. Mammal.* 1956;37(4):475–486.

Delost P. Le cortex surrenal du campagnol des champs (*Microtus arvalis* L.) et ses modifications apres castration. *C. R. Soc. Biol.* 1952;146:27–31.

Delost P., Delost H. Existence d'une zone surrenalienne chez le campagnol roussatre (*Clethrionomys glareolus* S.). *C. R. Soc. Biol.* 1954;148:1778–1793.

Dobrinskii L. N. Dynamics of morphophysiological features of birds. Moscow: Nauka; 1981. 124 p. (In Russ.)

Egorov Yu. E. The range of variation and its connection with the value of the indicator and morphogenesis processes. *Zhurn. obshch. biol. = Journal of General Biology.* 1969;30(6):658–663. (In Russ.)

Egorov Yu. E. Mechanisms of divergence. Moscow: Nauka; 1983. 173 p. (In Russ.)

Gustafsson T. O., Andersson C. B. Adrenal growth during pregnancy in the bank vole, *Clethrionomys glareolus*: invitation by mating. *Can. J. Zool.* 1980;58:1458–1461.

Harms J. W. Der Thymus bei *Xenopus laevis*. *Verh. Disch. Zool. Ges.* 1948;16:114–116.

Howard-Miller E. A. A transitory zone in the adrenal cortex which shows age and sex relationships. *Amer. J. Anat.* 1927;40:251–293.

Hyvarinen H. Seasonal variation and distribution of alkaline phosphatase and glucose-phosphatase activity in the liver of the common shrew (*Sorex araneus* L.) and the bank vole (*Clethrionomys glareolus* Schr.). *Aquilo. Ser Zool.* 1969;9:44–49.

Ivanter E. V. Population ecology of small mammals in the taiga of the North-West of the USSR. Leningrad: Nauka; 1975. 247 p. (In Russ.)

Ivanter E. V. Nutrition and some morphophysiological features of mouse-like rodents of Karelia. *Ekologiya ptits i mlekopitayushchikh Severo-Zapada SSSR = Ecology of birds and mammals of the North-West of the USSR.* Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR; 1976. P. 68–95. (In Russ.)

Ivanter E. V. Analysis of morphophysiological parameters and their dynamics during the life cycle of the bank vole *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schr. Note I. Body weight, heart and liver indices. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS.* 2023;7:5–21. doi: 10.17076/eb1737 (In Russ.)

Khalilov F. K. On the comparative morphology of the intestine of mammals in connection with the nutrition nature. *Zool. Zhurn.* 1995;34(2):415–426. (In Russ.)

Kozlov V. I., Tukhsanova N. G. Nutrition of mouse-like rodents. *Uch. zap. Gor'kovsk. gos. un-ta = Proceedings Gorky State University.* 1966;75:117–128. (In Russ.)

Krasnoshchekov G. P. Hypothesis of endocrine regulation of population size. *Materialy po ekologii melkikh mlekopitayushchikh Subarktiki = Materials on the ecology of small mammals in the Subarctic.* Novosibirsk: Nauka; 1975. P. 34–72. (In Russ.)

Kulaeva T. M. Materials on the ecological morphology of the bank vole. *Izv. Kazansk. fil. AN SSSR. Ser. biol. = Proceedings of the Kazan Branch AS USSR.* 1958;6:7–25. (In Russ.)

Marinina L. S. Pre-spring changes in the morphophysiological state of the bank vole population (*Clethrionomys glareolus* Schreb.). *Tr. In-ta biol. UF AN SSSR = Proceed. Institute Biol. UB AS USSR.* 1966;51:123–128. (In Russ.)

Marvin M. Ya. Mammals in Karelia. Petrozavodsk: Gosizdat KASSR; 1959. 238 p. (In Russ.)

Myrcha A. Variations in the length and weight of the alimentary tract of *Clethrionomys glareolus* (Schreber, 1780). *Acta Theriol.* 1964;9(10):1–10.

Naumova E. I. Functional morphology of the digestive system of rodents and lagomorphs. Moscow: Nauka, 1981. 262 p. (In Russ.)

Obukhova A. D. Correlations between the nutrition type and the digestive tract structure in various animal species. *Vestn. zhivotnovodstva = Journal of Animal Husbandry.* 1948;2:68–80. (In Russ.)

Olenev V. G. Seasonal changes in some morphophysiological characteristics of rodents in connection with the dynamics of the age structure of populations: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Sverdlovsk; 1964. 26 p. (In Russ.)

Olenev V. G. Seasonal and age-related changes in the weight of the thymus gland in rodents. *Tr. MOIP. Otd. biol. = Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological Series.* 1967;72:67–77. (In Russ.)

Ol'kova N. V. Comparative data on the intestine structure of some species of rodents in the Transbaikal

region. *Izv. Irkutsk. nauch.-issl. protivochumn. in-ta Sibiri i Dal'nego Vostoka = Proceedings Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East.* 1960;23: 223–235. (In Russ.)

Pankakoski E., Tähkä K. Relation of adrenal weight to sex, maturity and season in five species of small mammals. *Ann. Zool. Fenn.* 1982;19:222–232.

Rensch B. Organproportionen und Körpergröße bei Vögeln und Säugetieren. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* 1948;61(4):337–412.

Rodgers C. H., Schwarts N. B., Nequing L. Interaction between the ovarian and adrenocortical regulating systems. Occurrence of ovulation. *Biol. rhythms in neuroendocrine activity.* Tokyo; 1974. P. 241–252.

Roginskii Ya. Ya. On some results of applying the quantitative method to the study of morphological variability. *Arkh. anat., gistol. i embriol = Arch. anat., histol. and embriol.* 1959;326(1):83–89. (In Russ.)

Shvarts S. S. Some patterns of ecological dependence of the interior characteristics of terrestrial vertebrates. *Problemy flory i fauny Urala = Problems of flora and fauna of the Urals.* Sverdlovsk: UF AN SSSR; 1960. P. 113–177. (In Russ.)

Shvarts S. S. Ways of adaptation of terrestrial vertebrates to living conditions in the Subarctic. I. Mammals. Sverdlovsk: Ural'skii rabochii; 1963. 133 p. (In Russ.)

Shvarts S. S., Smirnov V. S., Dobrinskii L. N. A method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates. Sverdlovsk: UF AN SSSR; 1968. 387 p. (In Russ.)

Siuda S. Morphology of the adrenal cortex of *Sorex araneus* L., 1758, during the life cycle. *Acta Theriol.* 1964;8(7):115–124.

Siuda S. The occurrence of X-zone in the adrenal glands of two rodent species. *Acta Theriol.* 1973;18(15):471–480.

Smirnov V. S. Variability of biological phenomena and coefficient of variation. *Zhurn. obshch. biol. = Journal of General Biology.* 1971;32(2):152–162. (In Russ.)

Velichko M. A., Mokeeva G. M. On some features of the structure and functions of the rodents intestine. *Tr. VIZR = Proceedings All-Union Scientific-Research Institute for Plant Protection.* 1949;2:86–89. (In Russ.)

Vorontsov N. N. Evolution of the digestive system of rodents (Myomorpha). Novosibirsk: Nauka; 1967. 239 p. (In Russ.)

Warburton F. E. Feedback in development and its evolutionary significance. *Amer. Nat.* 1955;89:846–858. doi: 10.1086/281872

Welcker H., Brandt A. Gewichtswerthe der Körperorgane bei den Menschen und den Thieren. Ein Beitrag zur vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte. *Arch. f. Anthropol.* 1903;28(1–2):1–89.

Yablokov A. V. Mammal variation. Moscow: Nauka; 1966. 363 p. (In Russ.)

Yaskin V. A., Lobanova N. A. Seasonal changes in the brain and main morphophysiological parameters in the bank vole *Populyatsionnye mekhanizmy dinamiki chislennosti zivotnykh = Population mechanisms of animal population dynamics.* Sverdlovsk: UNTs AN SSSR; 1977. P. 33–48. (In Russ.)

Поступила в редакцию / received: 02.05.2023; принята к публикации / accepted: 23.10.2023.
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов / The author declares no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Ивантер Эрнест Викторович

чл.-корр. РАН, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории экологического мониторинга и моделирования

e-mail: ivanter@petsu.ru

CONTRIBUTOR:

Ivanter, Ernest

RAS Corr. Academician, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Chief Researcher

УДК 599.323.45 : 591.133.16 : 591.542

EFFECT OF LONG-TERM CONSTANT DARKNESS ON RETINOL IN PERIPHERAL TISSUES OF RATS

T. N. Ilyina, I. V. Baishnikova*, E. A. Khizhkin

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences
(11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *iravbai@mail.ru*

The study was designed to investigate the effect of exposure to long-term constant darkness, starting from the prenatal period or from birth, on the retinol (vitamin A) content in tissues of rats. Females were kept in standard light (LD) or in constant darkness (DD) during pregnancy. The LD females and their offspring after birth were divided into two groups, one of which was left in the same lighting conditions (LD, control), and the other group was switched to the darkness regime (LD/DD). The DD females and their offspring (DD/DD) were kept in the dark. Adults and the young were separated after the suckling period. The retinol content in offspring's tissues (liver, kidneys, heart and skeletal muscle) was determined at the age of 2 weeks, 1, 2, 3, 6, 12, 18 and 24 months by HPLC. Constant darkness had a modulating effect on the age-related dynamics of retinol content in the tissues. The level of the vitamin was higher compared to the control animals in the liver of 2-week-old LD/DD rats and in the kidneys of 1-month-old rats of both experimental groups. The retinol content in the heart of 2-month-old DD/DD rats, on the contrary, was significantly lower than in the control. The retinol level in the liver of 12-month-old LD/DD rats was higher compared to the control animals. The effect of constant darkness on retinol level in tissues depended on the ontogenesis stage at which the experimental exposure began, the tissue type, and the animal's age. The retinol content in the tissues of rats kept in constant darkness indicates metabolic changes that were more pronounced in young animals.

Keywords: vitamin A; constant darkness; light; circadian rhythm; age

For citation: Ilyina T. N., Baishnikova I. V., Khizhkin E. A. Effect of long-term constant darkness on retinol in peripheral tissues of rats. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 42–51. doi: 10.17076/eb1808

Funding. This study was carried out under state assignment (project FMEN-2022-0003).

Т. Н. Ильина, И. В. Баишникова*, Е. А. Хижкин. ДЛИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОЙ ТЕМНОТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ РЕТИНОЛА В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ТКАНЯХ КРЫС

*Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *iravbai@mail.ru*

Целью работы было изучение влияния длительной постоянной темноты, начиная с внутриутробного периода или с момента рождения, на содержание ретинола

(витамин А) в тканях крыс. Самки во время беременности содержались при стандартном освещении (LD) или в постоянной темноте (DD). Самки LD и их потомство сразу после рождения были разделены на две группы, одну из которых оставили в тех же условиях (LD, контроль), а другую перевели в темноту (LD/DD). Самки DD и их потомство (DD/DD) находились в темноте. Взрослые особи и молодежь были разделены после подсосного периода. Содержание ретинола в тканях (печень, почки, сердце, скелетная мышца) определяли в возрасте 2 недель, 1, 2, 3, 6, 12, 18 и 24 месяцев методом ВЭЖХ. Постоянная темнота оказывала модулирующее влияние на возрастную динамику содержания ретинола в тканях. Уровень витамина был выше по сравнению с контрольными животными в печени 2-недельных крыс LD/DD и в почках 1-месячных крыс обеих опытных групп. В сердце 2-месячных крыс DD/DD содержание ретинола, напротив, было достоверно ниже, чем у контрольных. В печени 12-месячных крыс LD/DD уровень ретинола был выше, чем у контрольных животных. Влияние постоянной темноты на уровень ретинола в тканях зависело от стадии онтогенеза, на которой начиналось экспериментальное воздействие, типа ткани и возраста животных. Содержание ретинола в тканях крыс, находившихся в постоянной темноте, свидетельствует о метаболических изменениях, которые были более выражены у молодых животных.

Ключевые слова: витамин А; постоянная темнота; свет; циркадный ритм; возраст

Для цитирования: Ilyina T. N., Baishnikova I. V., Khizhkin E. A. Effect of long-term constant darkness on retinol in peripheral tissues of rats. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 42–51. doi: 10.17076/eb1808

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема FMEN-2022-0003).

Introduction

Physiological processes are inextricably linked with cyclical changes in the general level of vital activity. The main synchronizer of the organism's circadian system is the alternation of light and darkness. The mammalian central circadian clock is located in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus (SCN), however, circadian clocks also exist in peripheral tissues, which indicates the close relationship between circadian regulation and metabolism [Ko, Takahashi, 2006; Grimaldi, Sassone-Corsi, 2007; Lamia et al., 2008; Chang et al., 2016]. Internal circadian rhythms are subject to the change of day and night cycles, and the connection of the organism with the external environment begins to form at the prenatal stage. Constant darkness, as well as constant light, is considered as a form of ecological stress that raises the risk of metabolic diseases [Ruby et al., 2002; Lee, 2007; Yuksel, 2008; Panda, 2016]. In the conditions of constant darkness, the circadian clock freely runs with its own period, different from but close to 24 h. The light-dark cycle plays a key role in determining the level and duration of secretion of the pineal hormone melatonin, which is synthesized in the dark and whose main function is the regulation of biological rhythms. In addition to regulating biorhythms, endogenous melatonin acts as an antioxidant and the main directions of

its antioxidant action are to protect the cell macromolecules from oxidative damage and increase the antioxidants' efficiency [Reiter, 2000; Chitimus et al., 2020]. It is well known that seasonal alterations of natural daylight duration in high or moderate latitudes trigger numerous adaptive changes in wild animals. Decrease in natural illumination during autumn/winter months can cause seasonal affective disorders characterized by overeating, weight gain, hypersomnia, prominent fatigue, and some other changes in people. Seasonal disorders related to the change in illumination are observed in 11–21 % of individuals and are a social and economic problem [Bazhenova et al., 2019].

Vitamin A (retinol, VA) participates in many physiological functions including vision, embryonic development, growth, reproduction, cell differentiation and proliferation, and together with its derivatives can act as an antioxidant [Estornell et al., 2000; Gatica et al., 2012]. One of the main VA functions is the control of biological rhythms. Retinoic acid (RA), the bioactive form of VA, is reported to affect the circadian rhythm by binding to RA receptors, such as receptors in the circadian feedback loops in the mammalian SCN [Guo et al., 2022]. It was found that VA is necessary for the functioning of the pineal gland, which contains a high level of retinol and retinol-binding protein. A deficiency of VA leads to a decrease in the melatonin night peak

[Phillips et al., 1989; Ransom et al., 2014; Ashton et al., 2015]. Moreover, its deficiency may affect the photo-response, sleep cycle, cell metabolism, and induce disorders/diseases related to biological rhythm dysfunctions [Guo et al., 2022]. At the same time, it remains unclear how the light-dark cycle disturbance affects the content of vitamin A in the body. The purpose of this work was to investigate the long-term effect of constant darkness, starting from the prenatal period or from birth, as a model of light rhythm disturbance, on the retinol content in rat tissues.

Materials and methods

Objects and experimental design

This study was carried out in compliance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council (On the Protection of Animals used for Scientific Purposes, 2010) and approved by the Local Ethics Committee of the Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences (Approval No 10 dated October 3, 2016). Every effort was made to minimize as much as possible the number of animals and their suffering. The experiment was performed on Wistar rats kept under standard vivarium conditions with free access to rodent chow and water. For breeding, 4-month-old male and female rats were kept under standard fixed lighting conditions (12 h light 750 lux/12 h darkness; LD) or in constant darkness (0–0.5 lux; DD). All DD rat manipulations were performed under dim red light within 3 min. After delivery, females from the LD conditions and their offspring were randomly divided into two groups and either remained housed in the same lighting conditions (LD, control) or transferred to constant darkness (LD/DD). Females and their offspring from the DD lighting conditions were left in constant darkness (DD/DD). After weaning at three weeks of age, the offspring were separated by gender and kept in the same type of cages (4 rats per cage) until 24 months of age. Animals of all groups received the same and age-appropriate food. The rats from each group ($n = 8$) were decapitated at the same time in the morning after light diethyl ether anesthesia at the age of 2 weeks and 1, 2, 3, 6, 12, 18 and 24 months. Samples of the liver, kidneys, heart, and skeletal muscles were collected and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. All animals used for the study were in good health and showed no signs of illness.

Retinol determination

The retinol content in the tissues was determined by high-performance liquid chromatography (HPLH) [Skurihin, Dvinskaya, 1989].

Tissue samples (100 mg) were homogenized with a teflon pestle homogenizer in 0.9 ml of 0.25 M sucrose solution (pH 7.4). Proteins in the samples were precipitated by ethanol. Retinol was extracted by n-hexane. The ethanol and hexane used for extraction contained butylated hydroxytoluene to prevent the vitamin oxidation during the analytical procedure. The mixture was vortexed for 5 min to extract the vitamin, centrifuged at $3000\times g$ for 10 min, and kept for 40 min at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Chromatographic separation was carried out by a microcolumn chromatograph with a UV detector. Hexane and isopropanol mixture (98.5 : 1.5) was used as the eluent. Retinol concentration was determined in the hexane layer. The sample volume injected into the column was $10\text{ }\mu\text{l}$. The eluate was monitored at 324 nm. The retinol was identified by comparison with the retention time of pure standard (Sigma-Aldrich, USA). Quantification was performed using Uni-Chrom software by the external standard method. The research was carried out using the equipment of the Core Facility of the Karelian Research Centre RAS.

Statistical analysis

All the calculated numerical data were converted to SI units and expressed as the median and percentiles (25%, 75%). The results were processed using Microsoft Excel 2007 and Statgraphics 5.0 software using Kruskal–Wallis H-test with the Mann–Whitney U *post hoc* testing as appropriate (adjusted for multiple comparisons). Differences were considered statistically significant at a significance level below 0.05. Preliminary tests revealed no differences between sexes, therefore data for males and females were pooled together in all subsequent analyses.

Results

The dynamics of changes in the content of retinol in liver was similar in rats of all groups up to 12 months of age: until the age of one month, the level of the vitamin was low, and then it increased up to 3 months ($p < 0.05$, Fig. 1, a). Until 12 months of age, the content of retinol continued to increase more intensively in rats of the experimental groups, but no significant differences were found in the level of the vitamin at 3 months of age. In the LD/DD group, vitamin levels were significantly lower at 18 months of age than at 6 and 12 months ($p < 0.05$). In LD and DD/DD rats, the patterns were similar, but not significant. At the age of 24 months, the content of retinol increased, and in the LD and LD/DD groups it was significantly higher than at the previous age ($p < 0.05$). Although the retinol

content in tissues in the early postnatal period was low, the effect of lighting conditions was revealed even in this period. At 2 weeks of age, the level of retinol in rats of the LD/DD group was significantly higher compared to the animals of the control and the DD/DD groups ($p < 0.05$). The same difference between LD and LD/DD groups was revealed in 12-month-old rats ($p < 0.05$).

In the kidneys of control rats, the content of retinol significantly decreased at 1 month of age compared with 2 weeks of age ($p < 0.05$, Fig. 1, b). Then, by the age of 2 months, the level of the vitamin increased significantly ($p < 0.05$) and then changed slightly during the rest of the study period. In both experimental groups, the content of retinol increased up to 6 months of age, the

change in LD/DD rats being statistically significant compared to all previous ages, and in DD/DD rats only compared with 2 weeks and 1 month of age. At 12 months, the vitamin level decreased significantly: in the LD/DD group it was lower compared to the previous age and in the DD/DD group – compared to 2 months of age. Subsequent changes in the content of retinol in experimental groups, as well as in the control group, were insignificant. The influence of lighting conditions on the level of retinol in kidneys was revealed at 1 month of age: the vitamin content was significantly higher in rats kept in constant darkness than in the control group ($p < 0.05$).

In the heart of LD rats, the level of retinol increased significantly at 2 months of age, after

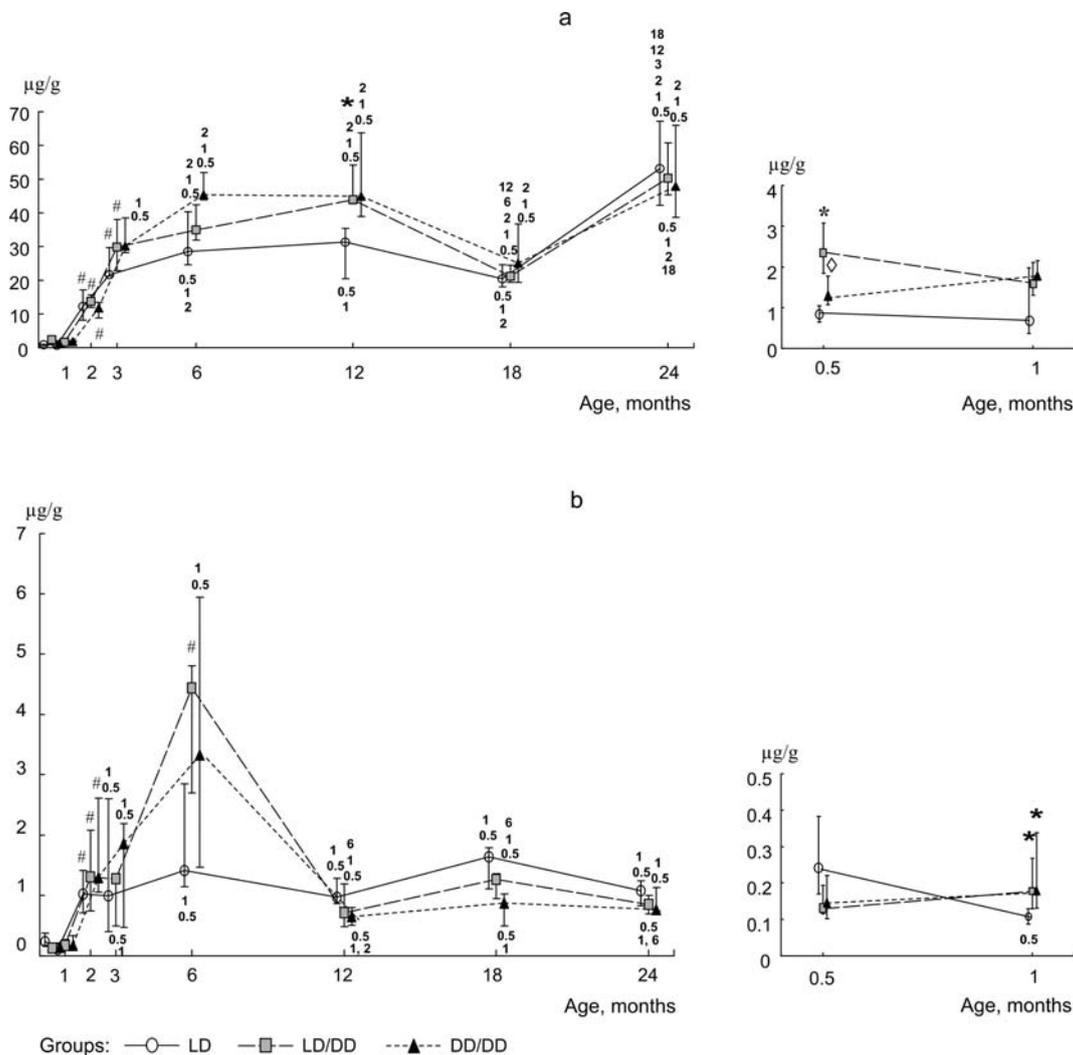


Fig. 1. The retinol content in the liver (a) and kidneys (b) of rats kept under different lighting conditions.

Designations: the graphs on the right show changes in retinol content in rats aged from 0.5 to 1 month. Here and in Fig. 2, differences are significant compared to: * – the LD group; \diamond – the LD/DD group; 0.5, 1, 2, 3, 6, 12, 18 – the corresponding age; # – all previous ages (Mann-Whitney U-test, $p < 0.05$). The values are represented as median and percentiles (25%, 75%)

which the content of this vitamin declined until 6 months of age ($p < 0.05$, Fig. 2, a). Subsequently, the vitamin level gradually increased and it was significantly higher in 24-month-old rats than in 6-month-old ones ($p < 0.05$). In animals of the experimental groups, the level of retinol rose after 1 month of age, the highest values being recorded in 24-month-old rats ($p < 0.05$). At 2 months of age, the content of retinol in the heart of DD/DD rats was significantly lower than in the control animals ($p < 0.05$).

In the skeletal muscle of control rats, the level of retinol increased at an older age and was higher in 18- and 24-month-old animals than in those 3 months old ($p < 0.05$, Fig. 2, b). In the LD/DD group, the vitamin content in the oldest rats (24 months old) was higher than in 12- and 18-month-old animals ($p < 0.05$). In 6-month-old DD/DD rats, a significant decrease in retinol content was observed compared to 3-month-old rats ($p < 0.05$), after which the vitamin level increased and reached the highest values in 24-month-old animals ($p < 0.05$). Lighting conditions did not significantly affect the content of vitamin A in the skeletal muscle.

The studied animals grew most intensively until 2 months of age (Fig. 3). After that, the body weight continued to increase, the difference versus 2-month-old rats found in 12-, 18- and 24-month-old LD rats and in 18- and 24-month-old DD/DD rats. In the LD/DD group, body weight at 12, 18 and 24 months of age differed significantly also from that at 3 months. Long-term exposure to constant darkness had no significant effect on the body weight dynamics of rats.

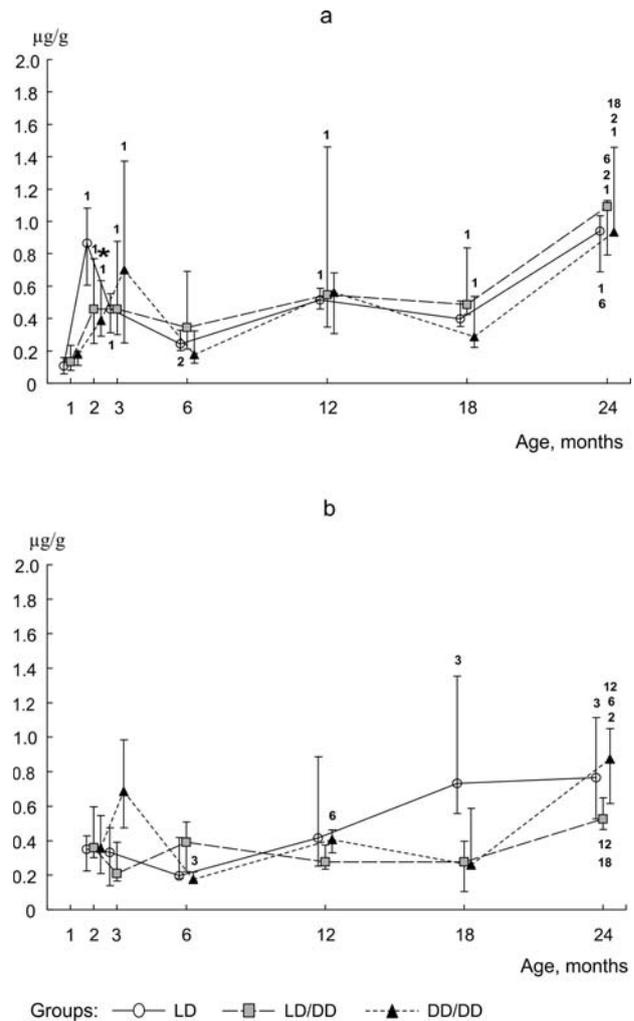


Fig. 2. The retinol content in the heart (a) and skeletal muscle (b) of rats kept under different lighting conditions

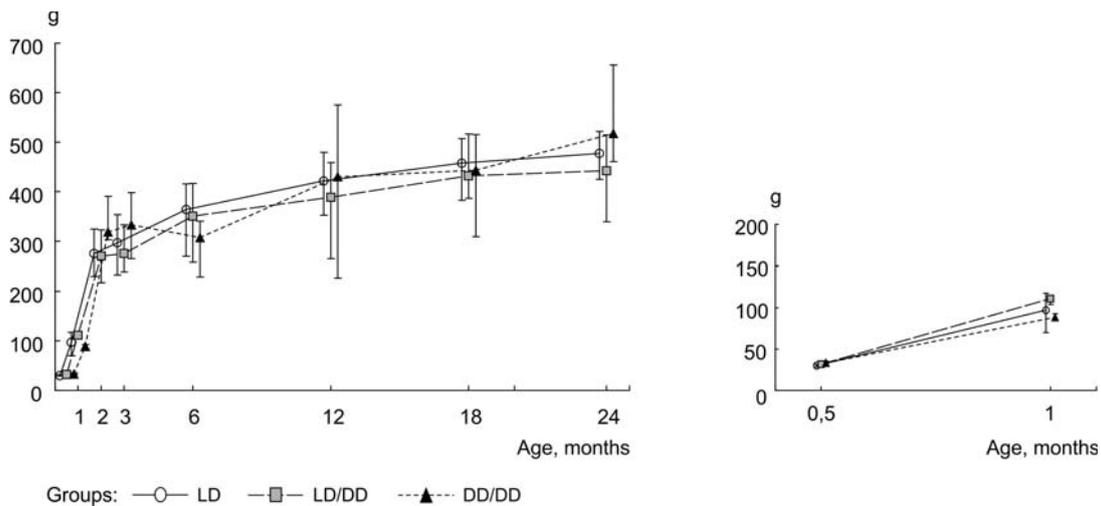


Fig. 3. Body mass of rats kept under different lighting conditions.

Designations: the graph on the right shows changes in body mass of rats aged from 0.5 to 1 month. Differences are significant compared to: 0.5, 2, 3 – the corresponding age; & – ages 0.5 and 1 month (Mann–Whitney U-test, $p < 0.05$). The values are represented as median and percentiles (25%, 75%)

Discussion

The connection of the organism with the external environment in mammals is established already in the prenatal period through maternal endogenous signals that can influence the trajectory of postnatal development. Information about the photoperiod and its alterations is transmitted to a fetus via the maternal melatonin rhythm. The maturation of an own circadian system in rodents occurs only after birth. It was revealed that retinol metabolites affect clock genes and the formation of the circadian rhythm. Disturbances of the lighting conditions before the end of the circadian clock mechanism formation may have negative consequences for the metabolic and behavioral functions of offspring [Bishnupuri, Haldar, 2000; Chernysheva et al., 2012; Chitimus et al., 2020].

Retinol levels in new-born mammals are very low, which is due to poor permeability of the placenta for fat-soluble vitamins. At the same time, retinol recirculation in newborns occurs much more intensively than in adults, which contributes to the rapid delivery and accumulation of VA in tissues after birth [Tan et al., 2014, 2017]. Our study detected low retinol content in tissues in the early postnatal period, which increased significantly with age. On the other hand, already in the early ontogenesis significant differences were found in the hepatic and renal VA content between control and experimental rats, which were obviously caused by the lack of photoperiodicity in the rat females during pregnancy or after delivery.

The action of retinol is mediated by its metabolite retinoic acid, which is also produced in melatonin-synthesizing pinealocytes. It is obvious that melatonin and VA, as components of the circadian clock, do not work separately, but are parts of a single system [Herbert, Reiter, 1985; Ransom et al., 2014; Ashton et al., 2018]. The combined action of changes in various components of the VA metabolism has a significant effect on the retinol level in tissues. It has been shown that there is diurnal variation in plasma levels of retinol binding protein 4 in mice and also in the expression of the gene encoding cellular retinol binding protein 1 in the liver, which peaks during subjective night [Ashton et al., 2018]. Thus, an increase in the retinoic acid concentration at the end of the night compared with its beginning, as well as an increase in the level of retinol transport proteins, may contribute to increased night VA absorption. The action of retinoic acid in the pineal gland is controlled by two modes of regulation, one of which is orchestrated by the endogenous circadian clock, and the other one depends on chang-

es in the light-dark cycle [Akashi, Takumi, 2005; Ashton et al., 2018].

In contrast to the light-regulated SCN clock, peripheral clocks in tissues that are not directly affected by light are set by daily nutrition, contributing to metabolic regulation. The close relationship between circadian and metabolic cycles is supported by the nutrition rhythm influence on the clock phase in many peripheral tissues, including the liver, the kidneys, the heart and the skeletal muscles [Turek et al., 2005; Asher, Schibler, 2011; Gnocchi et al., 2015; Chang et al., 2016]. Being nocturnal animals, rats prefer to consume food during the active dark period, even if they are raised in a light-dark cycle and in *ad libitum* feeding conditions. Circadian rhythms and gene functions force the body to consume nutrients even in the absence of light signals [Ko, Takahashi, 2006; Panda, 2016]. Probably, keeping rats in the dark promotes the retinol content in tissues, and this first of all applies to the liver as the main depositing organ. The VA content in other tissues depends on the liver circadian rhythmicity, however, the central clock photoperiodic modulation and the peripheral clock in the liver may differ significantly [Hirao et al., 2006; Sosniyenko et al., 2010; Gnocchi et al., 2015]. Our study showed that the transfer of rats to the constant darkness conditions after birth affected the retinol level in the liver. The circadian clock mechanism forming in the offspring adapts to the “disconnection” from the mother’s metabolic clock and “switching over” to the circadian light variation cycles [Chernysheva et al., 2012]. Changing the lighting condition immediately after birth was of great importance for the retinol level, since significant differences were observed in comparison with the control as well as with DD/DD rats. This may indicate a change in the level of VA under the impact of circadian factors in the liver rather than directly in the SCN, whose circadian regulation is disrupted. Differences from the control group were found in LD/DD rats also at 12 months of age. It should be noted that a higher content of retinol in the liver was observed in both groups of rats kept in constant darkness from the age of 3 months to the age of one year. The response to the light rhythm disruption varies with age. No effect of the lighting conditions on VA was detected in the liver of old rats, which may indicate age-related changes in the circadian system.

Various functions demonstrate circadian rhythms in rodent kidneys, with most renal functional oscillations entrained by external circadian time cues [Hara et al., 2017; Firsov, Bonny, 2018]. Disruption of circadian rhythms can affect various cellular processes, including protein pathways. It

is known that an important role in the regulation of VA homeostasis in the body is played by megalin-mediated reuptake of retinol and retinol-binding protein in the kidneys [Raila et al., 2005]. Exposure to constant darkness in the prenatal and postnatal periods led to distinct shifts in the rats' renal retinol level. The content of retinol in kidneys of animals of the experimental groups was higher than in the control at the age of 1 month. After this age, the vitamin level increased in all groups, but the most substantial and statistically significant increase up to 6 months of age was observed in the LD/DD group. In one-year-old rats of this group, the content of retinol in kidneys decreased and was comparable to that in the control and the DD/DD group. The peripheral clock regulation is complex and includes many additional components that affect the physiological parameters that are associated with SCN, which plays a major role in clock adjustment in the peripheral organs, including the liver and kidneys. Circadian oscillators in the brain, muscles and internal organs are interconnected, but at the same time differ in time parameters and control systems due to the peculiarities of their metabolism [Lamia et al., 2008]. Thus, mice with SCN damage maintained regular periodicity in the liver and kidneys, but not in skeletal muscles and heart [Gnocchi et al., 2015], which emphasizes the complexity of the circadian system and the interaction between various regulatory mechanisms. Our study showed that changes in vitamin A levels in organs indicate different sensitivity of peripheral tissues to circadian rhythm disturbances.

The specific contribution of each component of the molecular clock to circadian rhythms regulation is tissue-specific. It has been shown that in adult rodents circadian variations in cardiac and skeletal muscles depend, among other things, on the type of muscle tissue. Circadian regulation in different types of muscles depends on the fibers composition, tissue metabolism and the level of its activity, which is determined by various tissue-specific functions. Changes in lighting and nutrition can significantly affect the balance of muscle proteins, which is closely related to the VA metabolism [Chang et al., 2016]. We found that in the heart, the content of retinol increased by 2 months of age in all groups, but most substantially in the control. At this age, the vitamin level in the control rats was significantly higher than in the DD/DD group. Since the heart is a retinoid-dependent organ [Asson-Batres et al., 2016], this increase could be associated with age-related changes in energy processes in the myocardium, as well as with changes in the VA level in the body. The lower content of retinol in the heart of rats kept in the dark could be

caused by changes in the pathway of retinoid enzymes, binding proteins, and transporters under circadian rhythm disturbance.

The skeletal muscle is one of the most important organs for storing the substrates necessary for the body [Dyar et al., 2015; Chang et al., 2016; Aisbett et al., 2017]. There is a circadian difference in muscle growth during day and night – the growth of muscle tissue is about twice as much during the day as at night [Dyar et al., 2015], therefore exposure to constant light or constant darkness leads to changes in the circadian rhythm and reduces muscle growth [Aisbett et al., 2017; Kelu et al., 2019]. Circadian rhythm changes during pregnancy or at a young age are not only able to affect muscle growth, but also have lifelong consequences. The changes in the strategy of energy supply to working muscles, the level of their antioxidant protection, and a decrease in physical endurance occur during the aging process, and the rates of these changes are not the same under different lighting conditions [Vinogradova et al., 2007]. VA has a complex impact on postnatal skeletal muscle function, where it is both an antioxidant and a cell metabolism regulator [Ruiz et al., 2021]. In our study, no differences were found in retinol levels in skeletal muscles between the control and experimental rats, however, some features of age-related dynamics of this vitamin were revealed, which may be associated with metabolic changes in response long-term absence of light and darkness alternation.

The disturbance of the light rhythm has most clearly affected young animals, since photoperiodic stress caused by constant darkness has a negative effect on the rate of physical development [Bishnupuri, Haldar, 2000; Lee, 2007; Yuksel, 2008; Bazhenova et al., 2019]. In our experiment, the absence of daily day/night alternation during embryonic development (in the DD/DD group) raised offspring mortality at birth and in the first month of life, and retarded puberty [Khizhkin et al., 2014]. It is known that constant darkness contributes to depression of gonad maturation, while normal VA content in the diet ensures better development of the reproductive system in rats [Hanai, Esashi, 2011]. We can assume that the effect of constant darkness on VA content in young rats is primarily associated with the functional activity of the pineal gland and melatonin synthesis, which plays a significant role in puberty regulation, the reproductive cycle, and many other physiological processes.

Aging is associated with a disruption of circadian rhythms, which causes changes in photosensitivity in rodents. Studies show that in aging mice, significant changes are observed in SCN

both in light-dark conditions and under constant darkness. At the same time, prolonged exposure to constant darkness masks the effect of aging on the cellular clock of SCN in mice and increases the vulnerability of its circadian ensemble [Nakamura et al., 2015]. It was found that animals living in long photoperiod conditions are physiologically pinealectomized. Decreased melatonin levels lead to metabolic dysfunction and body weight gain [Bishnupuri, Haldar, 2000; Ransom et al., 2014; Ashton et al., 2018; Chitimus et al., 2020]. In addition, melatonin is the only antioxidant whose synthesis declines with age in all species, in contrast to the age-related dynamics of other antioxidants. Thus, the retinol level increases with age, which is associated with an increase in its absorption capacity in aging individuals [Hollander, Dadufalza, 1990; Reiter, 2000]. In our study, no significant differences in body weight were found in rats exposed to different lighting conditions. The retinol content in liver, heart and skeletal muscle increased in old rats in all groups. No effect of photoperiod on the VA level was revealed in 24-month-old rats. The reactivity of the body undergoes a change with age, so resistance to some environmental factors may increase, while to other factors – it may decrease. It is obvious that an age-related decrease in melatonin production against the background of a functional weakening of the pineal gland in combination with prolonged light deprivation leads to a change in central regulation and may have an affect on metabolic processes in tissues.

Conclusions

Our results show that long-term exposure to constant darkness caused the most pronounced changes in retinol content in tissues in early stages of postnatal ontogenesis, which is probably due to a disruption of circadian rhythms, disturbance of metabolic processes, and melatonin level increase. In adult rats, the effect of constant darkness was found in the liver, which may be related to the regulatory role of this organ in VA metabolism. No significant differences in retinol content were found in tissues of aging and old rats kept under different lighting conditions. These data show that the circadian system becomes less reliable during aging. Since retinol acts as one of the mechanisms for the synchronization of physiological processes with the light rhythm, various models of daily cycle disturbance can help to clarify the role of VA in peripheral tissue circadian regulation in mammals. These results can be useful for assessing the physiological state of people living or working in reduced light environments.

References

- Aisbett B., Condo D., Zacharewicz E., Lamon S. The impact of shiftwork on skeletal muscle health. *Nutrients*. 2017;9(3):248. doi: 10.3390/nu9030248
- Akashi M., Takumi T. The orphan nuclear receptor ROR regulates circadian transcription of the mammalian core-clock Bmal1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2005;12:441–448. doi: 10.1038/nsmb925
- Asher G., Schibler U. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals. *Cell Metabolism*. 2011;13:125–137. doi: 10.1016/j.cmet.2011.01.006
- Ashton A. J., Stoney P. N., McCaffery P. J. Investigating the role of vitamin A in melatonin production in the pineal gland. *Proc. Nutr. Soc.* 2015;74(OCE3):E195. doi: 10.1017/S0029665115002219
- Ashton A., Stoney P. N., Ransom J., McCaffery P. Rhythmic diurnal synthesis and signaling of retinoic acid in the rat pineal gland and its action to rapidly downregulate ERK phosphorylation. *Mol. Neurobiol.* 2018;55:8219–8235. doi: 10.1007/s12035-018-0964-5
- Asson-Batres M. A., Ryzhov S., Tikhomirov O., Duarte C. W., Congdon C. B., Lessard C. R., McFarland S., Rochette-Egly C., Tran T. L., Galindo C. L., Favreau-Lessard A. J., Sawyer D. B. Effects of vitamin A deficiency in the postnatal mouse heart: role of hepatic retinoid stores. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2016;310(11):1773–89. doi: 10.1152/ajpheart.00887.2015
- Bazhenova E. Y., Fursenko D. V., Khotskin N. V., Sorokin I. E., Kulikov A. V. Effect of lethal yellow (AY) mutation and photoperiod alterations on mouse behavior. *Vavilov J. Genet. Breed.* 2019;23(1):55–61. doi: 10.18699/VJ19.461 (In Russ.)
- Bishnupuri K. S., Haldar C. Impact of photoperiodic exposures during late gestation and lactation periods on the pineal and reproductive physiology of the Indian palm squirrel, *Funambulus pennant*. *J. Reprod. Fertil.* 2000;118:295–301. doi: 10.1530/jrf.0.1180295
- Chang S., Yoshihara T., Machida S., Naito H. Circadian rhythm of intracellular protein synthesis signaling in rat cardiac and skeletal muscles. *Biochem. Biophys. Rep.* 2016;9:153–158. doi: 10.1016/j.bbrep.2016.12.005
- Chernysheva M. P., Romanova I. V., Mikhrina A. L. Effect of retinol on interaction of the protein PERIOD1, oxytocin and GABA at the prenatal period of formation of the circadian clock-mechanism in rats. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2012;48(5):481–486. (In Russ.)
- Chitimus D. M., Popescu M. R., Voiculescu S. E., Panaitescu A. M., Pavel B., Zagrean L., Zagrean A.-M. Melatonin's impact on antioxidative and anti-inflammatory reprogramming in homeostasis and disease. *Biomolecules*. 2020;10(9):1211. doi: 10.3390/biom10091211
- Dyar K. A., Ciciliot S., Tagliacucchi G. M., Pallafacchina G., Tothova J., Argentini C., Agatea L., Abraham R., Ahdesmäki M., Forcato M., Biccato S., Schiaffino S., Blaauw B. The calcineurin-NFAT pathway controls activity-dependent circadian gene expression in slow skeletal muscle. *Mol. Metab.* 2015;4:823–833. doi: 10.1016/j.molmet.2015.09.004
- Estornell E., Tormo J. R., Mañin P., Renau-Piqueras J., Timoneda J., Barber T. Effects of vitamin

A deficiency on mitochondrial function in rat liver and heart. *Brit. J. Nutr.* 2000;84:927–934. doi: 10.1017/S0007114500002567

Firsov D., Bonny O. Circadian rhythms and the kidney. *Nat. Rev. Nephrol.* 2018;10:626–635. doi: 10.1038/s41581-018-0048-9

Gatica L. V., Oliveros L. B., Pérez Díaz M. F., Domínguez N. S., Fornes M. W., Gimenez M. S. Implication of vitamin A deficiency on vascular injury related to inflammation and oxidative stress. Effects on the ultrastructure of rat aorta. *Europ. J. Nutr.* 2012;51(1):97–106. doi: 10.1007/s00394-011-0198-z

Gnocchi D., Pedrelli M., Hurt-Camejo E., Parini P. Lipids around the clock: Focus on circadian rhythms and lipid metabolism. *Biology.* 2015;4(1):104–132. doi: 10.3390/biology4010104

Grimaldi B., Sassone-Corsi P. Circadian rhythms: Metabolic clockwork. *Nature.* 2007;447:386–387. doi: 10.1038/447385a

Guo X., Wang H., Xu J., Hua H. Impacts of vitamin A deficiency on biological rhythms: Insights from the literature. *Front. Nutr.* 2022;9:886244. doi: 10.3389/fnut.2022.886244

Hanai M., Esashi T. The interactive effect of dietary fat-soluble vitamin levels on the depression of gonadal development in growing male rats kept under disturbed daily rhythm – investigations based on the L¹⁶(2¹⁵) type orthogonal array. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 2011;57(5):333–339. doi: 10.3177/jnsv.57.333

Hara M., Minami Y., Ohashi M., Tsuchiya Y., Kusaba T., Tamagaki K., Koike N., Umemura Y., Inokawa H., Yagita K. Robust circadian clock oscillation and osmotic rhythms in inner medulla reflecting cortico-medullary osmotic gradient rhythm in rodent kidney. *Sci. Rep.* 2017;7(1):7306. doi: 10.1038/s41598-017-07767-8

Herbert D. C., Reiter R. J. Changes in pineal indoleamine metabolism in vitamin A deficient rats. *Life Sci.* 1985;37(26):2515–2522. doi: 10.1016/0024-3205(85)90609-5

Hirao J., Arakawa S., Watanabe K., Ito K., Furukawa T. Effects of restricted feeding on daily fluctuations of hepatic functions including P450 monooxygenase activities in rats. *J. Biol. Chem.* 2006;281(6):3165–3171. doi: 10.1074/jbc.M511194200

Hollander D., Dadufalza V. Influence of aging on vitamin A transport into the lymphatic circulation. *Exp. Gerontol.* 1990;25:61–65. doi: 10.1016/0531-5565(90)90010-Y

Kelu J. J., Pipalia T. G., Hughes S. M. Circadian regulation of muscle growth independent of locomotor activity. *bioRxiv.* preprint. 2019. doi: 10.1101/778787

Khizhkin E. A., Yunash V. D., Ilyukha V. A., Vinogradova I. A., Morozov A. V., Timeyko N. G. Reproduction and puberty in rats exposed to constant darkness. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of Karelian Research Centre RAS.* 2014;5:200–206. (In Russ.).

Ko C. H., Takahashi J. S. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum. Mol. Genet.* 2006;15(2):271–277. doi: 10.1093/hmg/ddl207

Lamia K. A., Storch K.-F., Weitz C. J. Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock.

PNAS. 2008;105(39):15172–15177. doi: 10.1073/pnas.0806717105

Lee C. C. Constant darkness is a mammalian biological signal. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology.* 2007;72:287–291. doi: 10.1101/sqb.2007.72.051

Nakamura T. J., Nakamura W., Tokuda I. T., Ishikawa T., Kudo T., Colwell C. S., Gene D. Block age-related changes in the circadian system unmasked by constant conditions. *ENeuro.* 2015;2(4). doi: 10.1523/ENEURO.0064-15.2015

Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science.* 2016;354(6315):1008–1015. doi: 10.1126/science.aah4967

Phillips T. S., Tsin A. T. C., Reiter R. J., Malsbury D. W. Retinoids in the bovine pineal gland. *Brain Research Bull.* 1989;22:259–261. doi: 10.1016/0361-9230(89)90051-8

Raila J., Willnow T. E., Schweigert F. J. Megalin-mediated reuptake of retinol in the kidneys of mice is essential for vitamin A homeostasis. *J. Nutr.* 2005;135:2512–2516. doi: 10.1093/jn/135.11.2512

Ransom J., Morgan P. J., McCaffery P. J., Stoney P. N. The rhythm of retinoids in the brain. *J. Neurochem.* 2014;129:366–376. doi: 10.1111/jnc.12620

Reiter R. J. Melatonin: lowering the high price of free radicals. *News Physiol. Sci.* 2000;15(5):246–250. doi: 10.1152/physiologyonline.2000.15.5.246

Ruby N. F., Joshi N., Heller H. G. Constant darkness restores entrainment to phase-delayed Siberian hamsters. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2002;283:1314–1320. doi: 10.1152/ajpregu.00362.2002

Ruiz A., Bachmann C., Franchini M., Benucci S., Zorzato F., Treves S. A low vitamin A diet decreases skeletal muscle performance. *J. Musculoskelet. Disord. Treat.* 2021;7:096. doi: 10.23937/2572-3243.1510096

Skurihin V. N., Dvinskaya L. M. Determination of α -tocopherol and retinol in the blood plasma of farm animals by micro-column high-performance liquid chromatography. *Agricultural Biology.* 1989;4:127–129. (In Russ.).

Sosniyenko S., Parkanová D., Illnerová H., Sládek M., Sumová A. Different mechanisms of adjustment to a change of the photoperiod in the suprachiasmatic and liver circadian clocks. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010;298:959–971. doi: 10.1152/ajpregu.00561.2009

Tan L., Green M. H., Ross A. C. Vitamin A kinetics in neonatal rats vs. adult rats: Comparisons from model-based compartmental analysis. *J. Nutr.* 2017;145:403–410. doi: 10.3945/jn.114.204065

Tan L., Wray A. E., Green M. H., Ross A. C. Retinol kinetics in unsupplemented and vitamin A-retinoic acid supplemented neonatal rats: a preliminary model. *J. Lipid Res.* 2014;55:1077–1086. doi: 10.1194/jlr.M045229

Turek F. W., Joshu C., Kohsaka A., Lin E., Ivanova G., McDearmon E., Laposky A., Losee-Olson S., Easton A., Jensen D. R., Eckel R. H., Takahashi J. S., Bass J. Obesity and metabolic syndrome in circadian *Clock* mutant mice. *Science.* 2005;308:1043–1045. doi: 10.1126/SCIENCE.1108750

Vinogradova I. A., Ilyukha V. A., Fedorova A. S., Khizhkin E. A., Unzhakov A. R., Yunash V. D. Age-related

changes in physical performance and some biochemical parameters of rat muscles under the influence of light modes and epiphysis preparations. *Adv. Gerontol.* 2007;20:66–73. (In Russ.)

Yuksel S. Altered adrenomedullin levels of the rats exposed to constant darkness and light stress. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2008;91:20–23. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2008.01.007

*Поступила в редакцию / received: 26.09.2023; принята к публикации / accepted: 02.11.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.*

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ильина Татьяна Николаевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных

e-mail: ilynatn59@mail.ru

Баишникова Ирина Валерьевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных

e-mail: iravbai@mail.ru

Хижкин Евгений Александрович

канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных

e-mail: hizhkin84@mail.ru

CONTRIBUTORS:

Ilyina, Tatyana

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Baishnikova, Irina

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Khizhkin, Evgeny

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

УДК 577.152.1 : 599 (470.22)

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОФЕРМЕНТНЫХ СПЕКТРОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТКАНЯХ ТРЕХ ИНВАЗИВНЫХ ВИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КАРЕЛИИ

А. Р. Унжаков^{1*}, Е. П. Антонова¹, С. Н. Калинина^{1,2}

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»
(ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910),
*al.unzhakov@yandex.ru

² Петрозаводский государственный университет (просп. Ленина, 33, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910)

Инвазивные чужеродные виды являются одной из основных прямых причин глобальных изменений в экосистемах и утраты биоразнообразия во всем мире. Проблема внедрения в экосистемы чужеродных видов млекопитающих затрагивает такие аспекты биологических наук, как оценка возможного экологического риска для локальной экосистемы, различные механизмы адаптации и эволюции видов-вселенцев в новых условиях окружающей среды. Проведены исследования изоэнзимных спектров лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в тканях сердца, почек, легких, селезенки, скелетной мышцы и печени у трех видов-вселенцев – ондатры, *Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766), американской норки, *Neovison vison* (Schreber, 1777), и енотовидной собаки, *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1834), добытых на севере европейской части ареала. Исследованные виды изначально были распространены в Северной Америке (ондатра, американская норка) и на Дальнем Востоке (енотовидная собака), в прошлом столетии они успешно акклиматизировались в Карелии. Установлено, что содержание анаэробных фракций ЛДГ в легких, селезенке, скелетной мышце, печени у американской норки и ондатры – животных, приспособленных к водной среде обитания, было значительно выше по сравнению с аналогичным показателем у наземной енотовидной собаки. Исследованные виды млекопитающих за короткий срок интродукции адаптировались к новым абиотическим условиям среды северного региона, что связано с их физиологическими и биохимическими особенностями. Использование различных наборов изоферментов является одной из стратегий биохимических адаптаций животных и способствует раскрытию механизмов приспособления видов-вселенцев на современном этапе биологической эволюции, когда роль антропогенных факторов существенно возрастает.

Ключевые слова: изоферменты лактатдегидрогеназы; биологическая инвазия; млекопитающие; адаптация

Для цитирования: Унжаков А. Р., Антонова Е. П., Калинина С. Н. Распределение изоферментных спектров лактатдегидрогеназы в тканях трех инвазивных видов млекопитающих Карелии // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 52–60. doi: 10.17076/eb1806

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема FMEN-2022-0003).

A. R. Unzhakov^{1*}, E. P. Antonova¹, S. N. Kalinina^{1,2}. DISTRIBUTION OF ISOENZYME SPECTRA OF LACTATE DEHYDROGENASE IN TISSUES OF INVASIVE MAMMAL SPECIES IN KARELIA

¹ Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *al.unzhakov@yandex.ru

² Petrozavodsk State University (33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

Invasive alien species are a major cause of global ecosystem change and biodiversity loss worldwide. The problem of the invasion of alien species of mammals into ecosystems is of relevance for such aspects of biological sciences as the assessment of possible ecological risk for the local ecosystem, various mechanisms of adaptation and evolution of invasive species in new environmental conditions. The isoenzyme spectra of lactate dehydrogenase (LDH) in tissues of the heart, kidneys, lungs, spleen, skeletal muscle, and liver were studied in three invasive mammal species: the muskrat *Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766), the American mink *Neovison vison* (Schreber, 1777), and the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1834), captured in the north of European Russia. The muskrat and American mink are both known to be native to North America; the raccoon dog, introduced from the Far East, has successfully acclimatized in Karelia. It was found that the content of anaerobic LDH fractions in the lungs, spleen, skeletal muscle, and liver of the American mink and muskrat, animal species adapted to the aquatic environment, was significantly higher than in the terrestrial raccoon dog. The studied mammals have adapted to the new abiotic environmental conditions of the northern region within a relatively short period since introduction, due to their physiological as well as biochemical characteristics. Using different sets of isoenzymes is one of the strategies of the animals' biochemical adaptations, which helps reveal the mechanisms of adaptation of invasive species in the current stage of biological evolution, when the role of anthropogenic factors has grown significantly.

Keywords: lactate dehydrogenase isoenzymes; biological invasion; mammals; adaptation

For citation: Unzhakov A. R., Antonova E. P., Kalinina S. N. Distribution of isoenzyme spectra of lactate dehydrogenase in tissues of invasive mammal species in Karelia. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 52–60. doi: 10.17076/eb1806

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS # FMEN-2022-0003.

Введение

Биологические инвазии животных признаны глобальной угрозой, ведущей к необратимой утрате филогенетического биоразнообразия и функционирования экосистем на нашей планете [Дгебуадзе, 2014; Doherty et al., 2016; Ryšek et al., 2020; Mezzetto et al., 2021; Gross, 2022; Renault et al., 2022]. Инвазивные (инвазионные), или чужеродные виды – это виды, распространившиеся в результате деятельности человека за пределы своего естественного ареала. Биологическая эволюция продолжается в форме особого современного этапа, в котором роль антропогенных факторов растет и становится ведущей [Чашухин, 2007; Пучковский, 2016]. Проблема внедрения в экосистемы чужеродных видов млекопитающих весьма многогранна, она затрагивает такие аспекты биологических наук, как оценка возможного

экологического риска для локальной экосистемы, различные механизмы адаптации и эволюции видов-вселенцев в новых условиях окружающей среды [Чашухин, 2007; Пучковский, 2016; Семенченко, 2018].

По экспертной оценке российских ученых, на территории страны максимальный суммарный вред причиняют синантропные животные: крыса *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) и домовая мышь *Mus musculus* (Linnaeus, 1758); на втором месте ондатра *Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766) и енотовидная собака *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1834), на третьем – американская норка *Neovison vison* (Schreber, 1777) [Дгебуадзе, 2014; Самые..., 2018]. Зарубежные эксперты разработали свою общую систему оценки воздействия на окружающую среду (GISS, Generic Impact Scoring System) и проанализировали 486 чужеродных видов различных таксонов, обитающих в Европе. Согласно

«черному списку» европейских исследователей, среди млекопитающих наибольшую озабоченность вызывают: *R. norvegicus* (2-е место), *O. zibethicus* (4-е), *N. vison* (19-е), *N. procyonoides* (66-е) [Nentwig et al., 2018].

Проблема биологической инвазии чужеродных видов затронула и территории Республики Карелия, где такие виды есть среди разных таксонов растительного и животного мира [Инвазивные..., 2021]. Данная работа посвящена изучению изоферментных спектров лактатдегидрогеназы (ЛДГ) трех видов млекопитающих, появившихся в составе фауны Карелии за последнее столетие, интродукция которых может иметь важные экологические и экономические последствия. Это американская норка и ондатра, происходящие из Северной Америки, и енотовидная собака, завезенная с Дальнего Востока, как известно, успешно акклиматизировавшиеся в естественных экосистемах Карелии [Данилов, 2009, 2017].

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ, НФ 1.1.1.27) – фермент гликолиза, который, находясь на развилке путей метаболизма углеводов, связан с поддержанием в тканях определенного соотношения аэробной и анаэробной продукции АТФ. У большинства млекопитающих этот фермент в органах представлен пятью изоформами, каждая из которых является тетрамером, образующимся при различных сочетаниях четырех полипептидных цепей двух типов: «сердечного» – В или Н (от англ. *heart*) и «мышечного» – А или М (от англ. *muscle*). Относительные количества субъединиц М и Н тканей различного типа могут варьировать в широких пределах. Анодные фракции (ЛДГ-1 и ЛДГ-2) – изоферменты с большей электрофоретической подвижностью – образуются преимущественно из В-субъединиц, а катодные фракции (ЛДГ-5 и ЛДГ-4) – из А-субъединиц [Райдер, Тейлор, 1983]. Функция фермента связана с регуляцией соотношения кофермента НАД⁺ и его восстановленной формы НАДН, которое влияет на скорость многих каталитических реакций [Халилов и др., 2018; Епринцев и др., 2022]. Кроме того, ЛДГ широко используется в качестве модельного фермента при изучении биохимических адаптаций [Hochachka, Somero, 2002; Sergina et al., 2015]. Выполняя в клетках регуляторные функции и отражая направленность путей (анаэробный и аэробный) получения энергии, изоэнзимы ЛДГ обеспечивают специфический обмен веществ, характерный для каждого вида животных. Использование различных наборов изоферментов является одной из стратегий биохимических адаптаций животных [Hochachka, Somero, 2002; Sergina et al., 2015]. Это исследование

способствует раскрытию механизмов приспособления видов-вселенцев к новым условиям окружающей среды на современном этапе биологической эволюции, когда роль антропогенных факторов существенно возрастает [Дгебуадзе, 2014; Самые..., 2018; Семенченко, 2018].

Целью нашей работы был сравнительный анализ изучения распределения изоферментных спектров ЛДГ органов у трех инвазивных видов млекопитающих (американская норка, енотовидная собака, ондатра), добытых в Республике Карелия.

Материалы и методы

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН» с соблюдением международных принципов Директивы Евросоюза 2010/63/EU о гуманном отношении к животным и правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Объектами исследования были американская норка *M. vison* (n = 7), енотовидная собака *N. procyonoides* (n = 5) и ондатра *O. zibethicus* (n = 9), добытые на территории Республики Карелия. Изученные млекопитающие являются инвазивными видами для данного региона [Инвазивные..., 2021]. Образцы тканей до проведения биохимического анализа хранили в холодильной камере (–25 °С). Гомогенаты тканей готовили в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7,0) и оставляли для экстракции фермента на 16–18 ч в холодильнике при +4 °С. На следующий день образцы центрифугировали при 6000 g в течение 15 минут, в супернатантах проводили разделение изоферментов ЛДГ методом горизонтального энзимэлектрофореза на пластинках агарового геля [Wieme, 1959; Sergina et al., 2015] с использованием прибора ПЭФ-3 (Россия) при напряжении 3–4 В/см и силе тока 50 мА/см. Продолжительность электрофоретического разделения составляла 90–120 мин.

Концентрация реактивов красящей смеси была следующей: фосфатный буфер (pH 7,4) – 0,05 М, феназинметасульфат (Ferak, Германия) – 0,13 мкМ, нитротетразолиевый синий (Sigma, США) – 0,25 мкМ, никотинамидадениндинуклеотид (MP Biomedicals, США) – 0,45 мкМ, лактат натрия (MP Biomedicals, США) – 3,57 мкМ. Общий объем смеси составлял 50 мл на кювету из расчета окраски восьми пластинок. Окрашивание проводили при 37 °С в течение 120 мин. Окрашенные пластинки промывали в проточной воде, фиксировали в 3%-м растворе уксусной кислоты в течение 5 мин, затем

высушивали на фильтровальной бумаге при комнатной температуре в течение суток.

После гистохимического окрашивания, фиксирования, высушивания и сканирования образцов проводили количественную оценку соотношения изоферментов ЛДГ с помощью компьютерной программы «Видеотест». Содержание каждого изофермента, а также В- и А-субъединиц ЛДГ выражали в процентах от их общего количества.

Результаты и обсуждение

В результате исследования у инвазивных представителей териофауны Республики Карелия обнаружено межвидовое сходство и различия в распределении изоферментных спектров ЛДГ в тканях исследованных органов (табл. 1–3). В отличие от низших позвоночных у млекопитающих в большинстве случаев на гистохимически окрашенных электрофореграммах тканей сердца, почек, легких, селезенки, печени, скелетной мышцы обнаружено наличие пяти изоферментов ЛДГ: от «медленной» катодной изоформы ЛДГ-5 до «быстрой» анодной ЛДГ-1. Тканевая специфичность набора изоферментов ЛДГ отражает метаболический профиль органов [Райдер, Тейлор, 1983; Hochachka, Somero, 2002; Sergina et al., 2015; Унжаков, Тютюнник, 2016].

У всех трех исследованных видов млекопитающих наибольшее содержание аэробных фракций изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-2 выявлено в тканях сердца и почек (табл. 1–3). Суммарная доля этих изоэнзимов в сердечной мышце животных составляла у американской норки 69,9 %, у ондатры 79,5 %, у енотовидной собаки 85,7 %. При этом сумма анаэробных фракций ЛДГ-4+ЛДГ-5 была относительно низкой – 6,0 % (американская норка), 0,7 % (енотовидная собака), а у ондатры они отсутствовали.

Суммарное содержание аэробных фракций ЛДГ-1 и ЛДГ-2 в изоферментных спектрах почек у исследованных видов также было довольно высоким (табл. 1–3), но уровень В-субъединиц у полуводных животных был даже несколько выше, чем в сердце. Основной функцией почек является выведение из организма конечных продуктов метаболизма (воды и водорастворимых веществ). С экскреторной функцией тесно связана гомеостатическая функция регуляции ионного и кислотно-основного равновесия внутренней среды организма. Энергетическим источником работы почки, особенно ее мозгового вещества, является аэробный метаболизм, энергия которого расходуется на процессы клубочковой фильтрации, канальце-

вой реабсорбции и на образование концентрированной мочи. У американской норки способность почек к аэробнозису подтверждается относительно высоким суммарным содержанием анодных изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-2. Следует отметить, что у добытых в природе представителей куньих относительная масса почек различается: у полуводной американской норки она выше (0,90 %), чем у наземного хорька (0,84 %) [Туманов, 2003].

По направленности метаболизма легкие и селезенка относятся к «промежуточной» группе тканей, содержащей равное соотношение «сердечных» и «мышечных» субъединиц ЛДГ [Унжаков, Тютюнник, 2016]. Однако анализ изоферментных спектров ЛДГ в тканях легких и селезенки у исследованных животных позволил выявить видоспецифичные особенности. Нами показано, что в изоферментных спектрах ЛДГ легких у полуводных инвазивных млекопитающих суммарное содержание анаэробных изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 превышает долю аэробных у американской норки в 4,9 раза, а у ондатры в 3,9 раза (табл. 1, 3). Противоположная картина обнаружена в изоэнзимном профиле ЛДГ в легких у наземных енотовидных собак (табл. 2). Нами выявлено, что у этих животных сумма аэробных фракций (58,9 %) значительно выше суммы анаэробных (13,8 %).

Установлено, что в изоферментных спектрах ЛДГ селезенки полуводных инвазивных млекопитающих суммарное содержание анаэробных изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 превышает долю аэробных у американской норки в 3,6 раза (табл. 1), а у ондатры в 2,7 раза (табл. 3). Противоположная картина отмечена в изоэнзимном профиле ЛДГ в селезенке у наземных енотовидных собак. Нами обнаружено, что у этих животных сумма аэробных фракций (55,5 %) значительно выше суммы анаэробных (12,2 %).

Известно, что у большинства наземных и водных млекопитающих в состоянии относительного покоя в селезенке депонируется большое количество красной крови в вязкой консистенции [Bakovic et al., 2003]. При значительной двигательной нагрузке или при нырянии плотно «укомплектованные» эритроциты активно выбрасываются из красной пульпы селезенки в кровоток [Schagatay et al., 2001]. Например, у тюленей за счет стимуляции симпатической нервной системы и активации α_1 -адренергических рецепторов, расположенных на гладких мышцах в капсуле селезенки, происходит сокращение этого органа и выброс эритроцитов в кровоток [Schagatay et al., 2001]. Значение селезенки как органа эритропоза и депо эритроцитов, вероятно, видоспецифично.

Таблица 1. Распределение изоферментов ЛДГ в тканях американской норки

Table 1. Distribution of LDH isoenzymes in tissues of the American mink

Ткани Tissues	Изоферменты ЛДГ / Субъединицы (%) LDH isoenzymes / Subunits (%)						
	ЛДГ-1 LDH-1	ЛДГ-2 LDH-2	ЛДГ-3 LDH-3	ЛДГ-4 LDH-4	ЛДГ-5 LDH-5	В (H)	А (M)
Сердце Heart	32,9 ± 0,7	37,0 ± 0,5	24,1 ± 0,6	4,4 ± 0,3	1,6 ± 0,2	73,8	26,2
Почки Kidneys	44,0 ± 1,4	31,3 ± 0,8	16,6 ± 1,1	4,2 ± 0,7	3,8 ± 0,5	76,9	23,1
Легкие Lungs	4,0 ± 0,8	9,2 ± 1,0	22,6 ± 1,4	15,5 ± 0,9	48,7 ± 2,2	26,1	73,9
Селезенка Spleen	3,6 ± 0,6	11,7 ± 1,0	28,2 ± 0,8	20,7 ± 1,2	35,8 ± 1,4	31,7	68,3
Скелетная мышца Skeletal muscle	2,4 ± 0,2	6,1 ± 0,7	16,6 ± 1,3	17,6 ± 0,9	57,3 ± 2,4	19,7	80,3
Печень Liver	2,1 ± 0,4	4,2 ± 0,5	11,1 ± 0,9	12,2 ± 0,9	70,4 ± 1,1	13,9	86,1

Таблица 2. Распределение изоферментов ЛДГ в тканях енотовидной собаки

Table 2. Distribution of isoenzymes of LDH in tissues of the raccoon dog

Ткани Tissues	Изоферменты ЛДГ / Субъединицы (%) LDH isoenzymes / Subunits (%)						
	ЛДГ-1 LDH-1	ЛДГ-2 LDH-2	ЛДГ-3 LDH-3	ЛДГ-4 LDH-4	ЛДГ-5 LDH-5	В (H)	А (M)
Сердце Heart	48,3 ± 3,3	37,4 ± 1,0	13,5 ± 2,5	0,5 ± 0,4	0,2 ± 0,1	83	17
Почки Kidneys	46,0 ± 4,5	13,2 ± 0,7	15,3 ± 1,7	11,6 ± 1,5	13,8 ± 2,5	67	33
Легкие Lungs	19,7 ± 2,3	38,9 ± 2,0	27,6 ± 2,1	10,4 ± 2,4	3,4 ± 0,4	65	35
Селезенка Spleen	21,3 ± 0,4	34,2 ± 2,7	32,3 ± 0,7	9,0 ± 2,3	3,2 ± 1,3	65	35
Скелетная мышца Skeletal muscle	1,5 ± 0,4	18,3 ± 2,2	25,4 ± 0,7	18,0 ± 1,1	36,8 ± 1,8	32	68
Печень Liver	8,0 ± 1,2	19,1 ± 0,7	25,4 ± 1,7	16,8 ± 2,0	30,8 ± 2,4	39	61

Таблица 3. Распределение изоферментов ЛДГ в тканях ондатры

Table 3. Distribution of LDH isoenzymes in tissues of the muskrat

Ткани Tissues	Изоферменты ЛДГ / Субъединицы (%) LDH isoenzymes / Subunits (%)						
	ЛДГ-1 LDH-1	ЛДГ-2 LDH-2	ЛДГ-3 LDH-3	ЛДГ-4 LDH-4	ЛДГ-5 LDH-5	В (H)	А (M)
Сердце Heart	53,3 ± 1,2	36,6 ± 1,4	10,1 ± 1,6	0	0	85,8	14,2
Почки Kidneys	70,6 ± 3,2	26,6 ± 2,5	2,8 ± 1,0	0,1 ± 0,1	0	91,9	8,1
Легкие Lungs	4,2 ± 1,5	9,5 ± 1,3	32,9 ± 4,0	17,4 ± 2,6	36,1 ± 4,1	32,1	67,9
Селезенка Spleen	4,0 ± 0,5	13,6 ± 1,2	34,7 ± 2,2	24,1 ± 1,4	23,6 ± 3,0	37,6	62,4
Скелетная мышца Skeletal muscle	2,2 ± 1,5	7,4 ± 4,3	9,3 ± 3,9	13,1 ± 2,3	68,1 ± 3,9	15,7	84,3
Печень Liver	0	0	2,7 ± 1,9	21,4 ± 2,5	75,9 ± 3,7	6,7	93,3

Так, показано, что у лошадей, адаптированных к длительной физической нагрузке, или у тюленей, приспособленных к продолжительному нырянию, содержание эритроцитов в селезенке может достигать 50 % от общего их количества в организме. Известно, что только некоторые глубоководные виды отряда ластоногих обладают довольно массивной селезенкой в связи с функцией депонирования эритроцитов [Cabanac et al., 1997]. Интересно отметить, что у адаптированных к периодическому нырянию американских норок в изоферментном спектре ЛДГ селезенки преобладали анаэробные фракции ЛДГ-4 и ЛДГ-5. Можно предположить, что в ходе эволюции сформировалось несколько способов адаптации селезенки как органа-депо эритроцитов к повышенной физической нагрузке. Это может происходить за счет как существенного депонирования в данном органе красных кровяных элементов (у лошадей), так и значительного увеличения размера селезенки (у ластоногих), а у таких полуводных млекопитающих, как американская норка и ондатра, адаптация возможна за счет сдвига метаболизма в сторону анаэробного.

Млекопитающие, как правило, активно перемещаются в пространстве, поэтому у большинства этих животных из всех тканей наиболее развита мышечная. У позвоночных на ее долю в среднем приходится около трех четвертей от общей массы тела [Hochachka, Somero, 2002]. У млекопитающих в состоянии покоя на окислительные процессы в мышцах расходуется около 30 % всего потребляемого кислорода (т. е. приходится 30 % основного обмена). Во время тяжелой физической нагрузки происходит резкое повышение интенсивности обмена, связанное главным образом с увеличением метаболизма мышц. При максимальной нагрузке у животных общий обмен обычно возрастает примерно в 10 раз, а у высокоактивных выносливых видов, в частности у лошади, в 40 раз. По направленности метаболизма ЛДГ ткани скелетных мышц позвоночных принято относить к анаэробным тканям, хотя известно, что они содержат два типа волокон, обладающих гликолитическим и окислительным обменом [Унжаков, Тютюнник, 2016]. Содержание анаэробной фракции ЛДГ-5 в скелетной мышце у норок ($57,3 \pm 2,4$ %) и ондатр ($68,1 \pm 3,8$ %) было значительно выше по сравнению со значениями этого параметра у наземного представителя семейства псовых – енотовидной собаки ($36,8 \pm 1,8$ %) [Унжаков, Тютюнник, 2016].

Печень является важным органом метаболизма, и ее функция контролируется инсулином и другими гормонами [Rui, 2014; Епринцев

и др., 2022]. Глюкоза превращается в пируват посредством гликолиза в цитоплазме, а затем пируват окисляется в митохондриях с образованием АТФ посредством цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования. Энергетический обмен печени строго регулируется нейронными и гормональными сигналами. Многочисленные факторы транскрипции и коактиваторы, в том числе CREB, FOXO1, ChREBP, SREBP, PGC-1 α и CRT2, регулируют экспрессию ферментов, катализирующих ключевые этапы метаболических путей, контролируя энергетический метаболизм печени.

Для изоферментного профиля ЛДГ печени ряда животных характерен сдвиг в сторону анаэробного метаболизма. Подтверждением этого является высокое относительное содержание анаэробных фракций ЛДГ-4 и ЛДГ-5 в изоферментном профиле ЛДГ, которое превышало 75 % у всех исследуемых видов, за исключением енотовидной собаки (табл. 1–3). В порядке увеличения содержания анаэробных А-субъединиц ЛДГ в печени виды животных располагались следующим образом: енотовидная собака, норка, ондатра. Содержание анаэробной фракции ЛДГ-5 в печени у животных, адаптированных к водной среде, а именно у норок ($70,4 \pm 1,1$ %) и ондатр ($75,9 \pm 3,7$ %), было значительно выше по сравнению с этим показателем у наземной енотовидной собаки ($30,8 \pm 2,4$ %).

Полуводные млекопитающие (американская норка и ондатра) обладают рядом приспособлений к специфическим условиям среды. Под водой они переходят на анаэробный тип обмена, так как потребление организмом кислорода уменьшается на 20–25 %. У этих животных наблюдается устойчивость к высоким концентрациям лактата. Это способствует тому, что у видов, ведущих полуводный образ жизни, в изоферментном спектре ЛДГ органов формируются специфические черты, связанные с особенностями существования в условиях периодической гипоксии [Sergina et al., 2015].

Проблема биологической инвазии чужеродных видов в естественные экосистемы довольно сложна и недостаточно изучена [Чашухин, 2007; Дгебуадзе, 2014; Пучковский, 2016; Doherty et al., 2016; Семенченко, 2018]. Она затрагивает различные аспекты: биологию и экологию видов, пути проникновения за пределы естественного ареала, оценку возможного экологического и экономического ущерба, механизмы адаптации животных к новым условиям обитания и другие. Для решения проблемы биологической инвазии еще требуется обобщение значительного объема исследований по анатомическим, физиологическим,

экологическим и биохимическим особенностям инвазивных видов. Без фундаментальных знаний о видах-вселенцах разработка каких-либо практических мер борьбы с чужеродными животными является бесперспективным занятием [Чашухин, 2007; Дгебуадзе, 2014; Пучковский, 2016; Doherty et al., 2016; Семенченко, 2018]. На основе существующих методов оценки рисков с использованием имеющихся баз данных «Чужеродные виды на территории России», литературных источников (<http://www.sevin.ru/invasjour>) и проведенных специальных исследований для европейской части России выделено 35 чужеродных видов, которые могут являться приоритетными мишенями для исследований и контроля [Дгебуадзе, 2014]. Среди млекопитающих к этой группе относятся 10 видов – ондатра *Ondatra zibethicus* L., мышья полевая *Apodemus agrarius* Pallas, мышья домовая *Mus musculus* L., крыса серая *Rattus norvegicus* Berkenhout, крыса черная *Rattus rattus* L., собака домашняя бродячая *Canis familiaris* L., собака енотовидная *Nyctereutes procyonoides* Gray, норка американская *Neovison vison* Schreber, речной бобр *Castor fiber* L., бобр канадский *Castor canadensis* Kuhl.

В настоящее время для каждого из видов-мишеней обобщается вся имеющаяся информация по их распространению, адаптированности к абиотическим и биотическим факторам среды, физиологии, биохимии, питанию, росту, плодовитости, продолжительности жизни и т. д. На основе комплексных исследований возможно создание моделей рисков вселения чужеродных видов на территорию европейской части России [Дгебуадзе, 2014]. Следует надеяться, что научные результаты, полученные в последние годы, не только обогатят фундаментальную биологию, но и найдут свое применение в реализации мероприятий по прогнозированию, контролю и предотвращению последствий инвазий чужеродных видов. Без этого экологическая безопасность остается под серьезной угрозой.

Таким образом, проанализировано распределение изоферментных спектров лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в тканях сердца, почек, легких, селезенки, скелетной мышцы и печени у трех видов млекопитающих, которые являются чужеродными для северного региона России – ондатры (*O. zibethicus*), американской норки (*N. vison*) и енотовидной собаки (*N. procyonoides*). Установлено, что содержание анаэробных фракций ЛДГ в легких, селезенке, скелетной мышце, печени у американской норки и ондатры – видов животных, приспособленных к водной среде, было значительно выше по

сравнению с сухопутной енотовидной собакой. Вероятно, инвазивные млекопитающие адаптировались к новым условиям среды на Европейском Севере России (Республика Карелия) благодаря своим экологическим, анатомическим, морфологическим, физиологическим и биохимическим особенностям. Предполагается, что изученные нами особенности изоферментных спектров ЛДГ в тканях различных по экогенезу инвазивных млекопитающих будут расширять представления о механизмах адаптации животных к новым абиотическим условиям среды северного региона.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории зоологии Института биологии КарНЦ РАН за предоставление биологического материала.

Литература

Данилов П. И. Новые виды млекопитающих на Европейском Севере России. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. 308 с.

Данилов П. И. Охотничьи звери Карелии (экология, ресурсы, управление, охрана). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2017. 388 с.

Дгебуадзе Ю. Ю. Чужеродные виды в Голарктике: некоторые результаты и перспективы исследований // Российский журнал биологических инвазий. 2014. Т. 7, № 1. С. 2–8.

Епринцев А. Т., Бондарева И. Р., Селиванова Н. В. Уровни экспрессии и активность изоферментов лактатдегидрогеназы печени крыс при аллоксановом диабете // Биомедицинская химия. 2022. Т. 68, № 1. С. 32–38. doi: 10.18097/PBMC20226801032

Инвазивные растения и животные Карелии / Ред. О. Н. Бахмет, А. В. Кравченко, О. Л. Кузнецов, Н. В. Михайлова, А. В. Полевой. Петрозаводск: ПИН, 2021. 223 с.

Самые опасные инвазионные виды России (Топ-100) / Ред. В. Г. Петросян, Ю. Ю. Дгебуадзе, Л. А. Хляп. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2018. 688 с.

Пучковский С. В. Современное состояние биоразнообразия – продолжение эволюции // Успехи современной биологии. 2016. Т. 136, № 5. С. 449–459.

Райдер К., Тейлор К. Изоферменты. М.: Мир, 1983. 106 с.

Семенченко В. Чужеродные виды животных в естественных экосистемах Беларуси // Наука и инновации. 2018. № 7(185). С. 20–25.

Туманов И. Л. Биологические особенности хищных млекопитающих России. СПб.: Наука, 2003. 448 с.

Унжаков А. Р., Тютюнник Н. Н. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы в тканях енотовидных собак *Nyctereutes procyonoides* в осенний период // Биофизика. 2016. Т. 61, № 4. С. 758–765.

Халилов Р. А., Джафарова А. М., Хизриева С. И., Абдуллаев В. Р. Кинетические и термодинамические характеристики лактатдегидрогеназы скелетных мышц гомойо- и гетеротермных животных при

низких температурах тела // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2018. Т. 54, № 6. С. 413–420. doi: 10.1134/S0044452918060062

Чашухин В. А. Ондатра: причины и следствия биологической инвазии. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2007. 141 с.

Bakovic D., Valic Z., Eterovic D., Vukovic I., Obad A., Marinovic-Terzic I., Dujic Z. Spleen volume and blood flow response to repeated breath-hold apneas // *J. Appl. Physiol.* 2003. Vol. 95, no. 4. P. 1460–1466. doi: 10.1152/jappphysiol.00221.2003

Cabanac A., Folkow L. P., Blix A. S. Volume capacity and contraction control of the seal spleen // *J. Appl. Physiol.* 1997. Vol. 82, no. 6. P. 1989–1994. doi: 10.1152/jappphysiol.1997.82.6.1989

Doherty T. S., Glen A. S., Nimmo D. G., Ritchie E. G., Dickman C. R. Invasive predators and global biodiversity loss // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. Vol. 113, no. 40. P. 11261–11265. doi: 10.1073/pnas.1602480113

Gross M. How to stop species invasions // *Curr. Biol.* 2022. Vol. 32, no. 40. P. R1325–R1328. doi: 10.1016/j.cub.2022.11.065

Hochachka P., Somero G. Biochemical adaptation. New-York: Oxford Univ. Press, 2002. 466 p.

Mezzetto D., Dartora F., Mori E. Feeding plasticity and temporal behavior of the alien American mink in Europe // *Acta Oecol.* 2021. Vol. 110, no. 5. Art. 103700. doi: 10.1016/j.actao.2020.103700

Nentwig W., Bacher S., Kumschick S., Pysek P., Vila M. More than “100 worst” introduced species in Europe // *Biol. Invasions.* 2018. Vol. 20, no. 6. P. 1611–1621. doi: 10.1007/s10530-017-1651-6

Pyšek P., Hulme P. E., Simberloff D., Bacher S., Blackburn T. M., Carlton J. T., Dawson W., Essl F., Foxcroft L. C., Genovesi P., Jeschke J. M., Kühn I., Liebhold A. M., Mandrak N. E., Meyerson L. A., Pauchard A., Pergl J., Roy H. E., Seebens H., van Kleunen M., Vilà M., Wingfield M. J., Richardson D. M. Scientists’ warning on invasive alien species // *Biol. Rev.* 2020. Vol. 95, no. 6. P. 1511–1534. doi: 10.1111/brv.12627

Renault D., Hess M. C. M., Braschi J., Cuthbert R. N., Sperandii M. G., Bazzichetto M., Chabrierie O., Thiébaud G., Buisson E., Grandjean F., Bittebiere A.-K., Mouchet M., Massol F. Advancing biological invasion hypothesis testing using functional diversity indices // *Sci. Total Environ.* 2022. Vol. 834. Art. 155102. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.155102

Rui L. Energy metabolism in the liver // *Comp. Physiol.* 2014. Vol. 4, no. 1. P. 177–197. doi: 10.1002/cphy.c130024

Schagatay E., Andersson J. P., Hallen M., Pals-son B. Selected contribution: role of spleen emptying in prolonging apneas in humans // *J. Appl. Physiol.* 2001. Vol. 90, no. 4. P. 1623–1629. doi: 10.1152/jappphysiol.2001.90.4.1623

Sergina S., Antonova E., Ilyukha V., Lapinski S., Lis M., Niedbala P., Unzhakov A., Belkin V. Biochemical adaptations to dive-derived hypoxia/reoxygenation in semiaquatic rodents // *Comp. Biochem. Physiol.* 2015. Vol. 190, no. 1. P. 37–45. doi: 10.1016/j.cbpb.2015.08.012

Wieme R. Studies on agar-gel electrophoresis, Techniques – Affidications. Brussels: Arsacia Uitgaven N. V. Publ., 1959. 531 p.

References

Bakhmet O. N., Kravchenko A. V., Kuznetsov O. L., Mikhailova N. V., Polevoi A. V. (eds.). Invasive plants and animals of Karelia. Petrozavodsk: PIN; 2021. 223 p. (In Russ.)

Bakovic D., Valic Z., Eterovic D., Vukovic I., Obad A., Marinovic-Terzic I., Dujic Z. Spleen volume and blood flow response to repeated breath-hold apneas. *J. Appl. Physiol.* 2003;95(4):1460–1466. doi: 10.1152/jappphysiol.00221.2003

Cabanac A., Folkow L. P., Blix A. S. Volume capacity and contraction control of the seal spleen. *J. Appl. Physiol.* 1997;82(6):1989–1994. doi: 10.1152/jappphysiol.1997.82.6.1989

Chashchukhin V. A. Muskrat: causes and consequences of biological invasion. Moscow: KMK; 2007. 141 p.

Danilov P. I. Game animals of Karelia: ecology, resources, management, and protection. Petrozavodsk: KarRC RAS; 2017. 388 p. (In Russ.)

Danilov P. I. New mammals in the European North of Russia. Petrozavodsk: KarRC RAS; 2009. 308 p. (In Russ.)

Dgebuadze Yu. Yu. Invasions of alien species in Holarctic: some results and perspective of investigations. *Russian Journal of Biological Invasions.* 2014;7(1):2–8. (In Russ.)

Doherty T. S., Glen A. S., Nimmo D. G., Ritchie E. G., Dickman C. R. Invasive predators and global biodiversity loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(40):11261–11265. doi: 10.1073/pnas.1602480113

Eprintsev A. T., Bondareva I. R., Selivanova N. V. Expression levels and activity of rat liver lactate dehydrogenase isoenzymes in alloxan diabetes. *Biochemistry (Moscow). Series B: Biomedical Chemistry.* 2022;68(1):32–38. (In Russ.)

Gross M. How to stop species invasions. *Curr. Biol.* 2022;32(40):R1325–R1328. doi: 10.1016/j.cub.2022.11.065

Hochachka P., Somero G. Biochemical adaptation. New-York: Oxford Univ. Press; 2002. 466 p.

Khalilov R. A., Dzhaferova A. M., Khizriyeva S. I., Abdullaev V. R. Kinetic and thermodynamic characteristics of lactate dehydrogenase in skeletal muscles of homeo- and heterothermic animals at low body temperatures. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2018;54(6):413–420. doi: 10.1134/S0044452918060062

Mezzetto D., Dartora F., Mori E. Feeding plasticity and temporal behavior of the alien American mink in Europe. *Acta Oecol.* 2021;110(5):103700. doi: 10.1016/j.actao.2020.103700

Nentwig W., Bacher S., Kumschick S., Pysek P., Vila M. More than “100 worst” introduced species in Europe. *Biol. Invasions.* 2018;20(6):1611–1621. doi: 10.1007/s10530-017-1651-6

Petrosyan V. G., Dgebuadze Yu. Yu., Khlyap L. A. (eds.). The most dangerous invasive species in Russia (Top-100). Moscow: KMK; 2018. 688 p. (In Russ.)

Puchkovskii S. V. Status of recent biodiversity is evolution continuation. *Biology Bulletin Reviews.* 2016;136(5):449–459. (In Russ.)

Ryder K., Taylor K. Isoenzymes. Moscow: Mir; 1983. 106 p. (In Russ.)

Pyšek P., Hulme P. E., Simberloff D., Bacher S., Blackburn T. M., Carlton J. T., Dawson W., Essl F., Foxcroft L. C., Genovesi P., Jeschke J. M., Kühn I., Liebhold A. M., Mandrak N. E., Meyerson L. A., Pauchard A., Pergl J., Roy H. E., Seebens H., van Kleunen M., Vilà M., Wingfield M. J., Richardson D. M. Scientists' warning on invasive alien species. *Biol. Rev.* 2020;95(6):1511–1534. doi: 10.1111/brv.12627

Renault D., Hess M. C. M., Braschi J., Cuthbert R. N., Sperandii M. G., Bazzichetto M., Chabrierie O., Thiébaud G., Buisson E., Grandjean F., Bittebiere A.-K., Mouchet M., Massol F. Advancing biological invasion hypothesis testing using functional diversity indices. *Sci. Total Environ.* 2022;834:155102. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.155102

Rui L. Energy metabolism in the liver. *Comp. Physiol.* 2014;4(1):177–197. doi: 10.1002/cphy.c130024

Schagatay E., Andersson J. P., Hallen M., Pals-son B. Selected contribution: role of spleen emptying in prolonging apneas in humans. *J. Appl. Physiol.* 2001;90(4):1623–1629. doi: 10.1152/jappl.2001.90.4.1623

Physiol. 2001;90(4):1623–1629. doi: 10.1152/jappl.2001.90.4.1623

Semenchenko V. Alien animal species in the natural ecosystems of Belarus. *Science and Innovations.* 2018;7(185):20–25. (In Russ.)

Sergina S., Antonova E., Ilyukha V., Lapinski S., Lis M., Niedbala P., Unzhakov A., Belkin V. Biochemical adaptations to dive-derived hypoxia/reoxygenation in semiaquatic rodents. *Comp. Biochem. Physiol.* 2015;190(1):37–45. doi: 10.1016/j.cbpb.2015.08.012

Tumanov I. L. Biological features of predatory mammals in Russia. St. Petersburg: Nauka; 2003. 448 p. (In Russ.)

Unzhakov A. R., Tyutyunnik N. N. The isozyme spectra of lactate dehydrogenase in the tissues of the raccoon dog nyctereutes procyonoides in the autumn. *Biophysic.* 2016;61(4):640–646.

Wieme R. Studies on agar-gel electrophoresis, Techniques – Affidations. Brussels: Arscia Uitgaven N. V. Publ.; 1959. 531 p.

Поступила в редакцию / received: 07.09.2023; принята к публикации / accepted: 05.10.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Унжаков Алексей Рудольфович

канд. биол. наук, научный сотрудник

e-mail: al.unzhakov@yandex.ru

Антонова Екатерина Петровна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: antonova88ep@mail.ru

Калинина Светлана Николаевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: cvetnick@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Unzhakov, Alexey

Cand. Sci. (Biol.), Researcher

Antonova, Ekaterina

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Kalinina, Svetlana

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

УДК 577.152.3:594.124+574.24:[556.114.6:546.74+556.114.5]

УЧАСТИЕ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ГЛИКОЗИДАЗ В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* L. К ВОЗДЕЙСТВИЮ НИКЕЛЯ ПРИ ИЗМЕНЯЮЩЕЙСЯ СОЛЕННОСТИ ВОДЫ

Р. У. Высоцкая*, Е. А. Буэй, И. Н. Бахмет, С. А. Мурзина

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *vysotskayaru@gmail.com

В аквариальном эксперименте изучено влияние никеля на активность лизосомальных гликозидаз в мягких тканях одного из самых распространенных на литорали Белого моря моллюсков – мидий съедобной (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758). Мидий, собранных с коллекторов для их выращивания, в течение двух недель акклиматизировали к условиям лаборатории при разной солености (25 и 15 ‰). Затем моллюсков выдерживали в течение 1, 3 и 10 суток в воде с разными концентрациями катионов никеля (10, 100 и 500 мкг/л). В гепатопанкреасе и жабрах мидий определяли активность четырех лизосомальных гликозидаз (α -гликозидазы, β -гликозидазы, β -галактозидазы и β -глюкуронидазы). Показано, что оба фактора (распреснение и экотоксикант) по отдельности и в сочетании вызывали значительное изменение активности изученных ферментов. Повышение активности практически всех гликозидаз в органах мидий при пониженной до 15 ‰ солености свидетельствует об использовании в адаптивных реакциях в качестве основного энергетического источника гликогена, а также о возможном их участии в биосинтезе необходимых в этот момент веществ, регулирующих метаболизм. При нормальной солености (25 ‰) влияние никеля проявлялось как снижением, так и повышением активности α - и β -гликозидаз в зависимости от концентрации и времени воздействия металла. Активность β -глюкуронидазы в большинстве случаев под влиянием никеля повышалась, что позволяет предположить участие данного фермента в детоксикации и выведении токсиканта из организма. Выявлена разнонаправленная реакция лизосомального аппарата гепатопанкреаса и жабр на присутствие в среде этого металла. Обсуждается фазовый характер адаптивных перестроек метаболизма у мидий в условиях экологического стресса.

Ключевые слова: лизосомальные ферменты; беломорские мидии *Mytilus edulis*; влияние никеля; соленость; адаптации

Для цитирования: Высоцкая Р. У., Буэй Е. А., Бахмет И. Н., Мурзина С. А. Участие лизосомальных гликозидаз в адаптивных реакциях мидий *Mytilus edulis* L. к воздействию никеля при изменяющейся солености воды // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 61–72. doi: 10.17076/eb1831

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (FMEN-2022-0006, № г.р. 122032100052-8).

R. U. Vysotskaya*, E. A. Buoy, I. N. Bakhmet, S. A. Murzina. PARTICIPATION OF LYSOSOMAL GLYCOSIDASES IN ADAPTIVE RESPONSES OF MUSSELS *MYTILUS EDULIS* L. TO THE IMPACT OF NICKEL UNDER VARIABLE WATER SALINITY

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *vysotskayaru@gmail.com*

The impact of nickel on the activity of lysosomal glycosidases in soft tissues of one of the most common littoral mollusks was studied in an aquarium experiment. Mussels sampled from culture ropes were acclimated for two weeks to laboratory conditions at different salinities (25 and 15 ‰). Then, the shellfish were kept for 1, 3, and 10 days in water with different concentrations of nickel cations (10, 100, and 500 µg/l). The activity of four lysosomal glycosidases (α-glucosidase, β-glucosidase, β-galactosidase, and β-glucuronidase) was determined in the hepatopancreas and gills of the mussels. Both factors (desalination and the ecotoxicant), individually and together, proved to induce a significant change in the activity of the enzymes. The increase in the activity of almost all glycosidases in the organs of mussels at a salinity reduced to 15 ‰ indicates that the main energy source in the adaptive reactions is glycogen and that glycosidases are likely involved in the biosynthesis of metabolism regulating substances required during this period. At normal salinity (25 ‰), the effect of nickel was manifested in both a decrease and an increase in the activity of α- and β-glucosidases, depending on the concentration and duration of exposure to the metal. The activity of glucuronidase in most cases increased under nickel impact, suggesting this enzyme is involved in the detoxification and elimination of toxicants from the body. A multidirectional response of the lysosomal apparatus of the hepatopancreas and gills to the presence of this metal in the environment was revealed. The phase pattern of adaptive metabolic changes in mussels under environmental stress is discussed.

Keywords: lysosomal enzymes; White Sea mussels *Mytilus edulis*; nickel impact; salinity; adaptation

For citation: Vysotskaya R. U., Buoy E. A., Bakhmet I. N., Murzina S. A. Participation of lysosomal glycosidases in adaptive responses of mussels *Mytilus edulis* L. to the impact of nickel under variable water salinity. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 61–72. doi: 10.17076/eb1831

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS (FMEN-2022-0006, No. 122032100052-8).

Введение

Важнейшими задачами современной экотоксикологии являются изучение влияния различных химических веществ на объекты окружающей среды, распределение, превращение отдельных химических соединений, их накопление и передача по трофическим цепочкам, а также определение рисков для организмов, находящихся на высших трофических уровнях природных экосистем [Гелашвили и др., 2016]. В современном мире в списке наиболее опасных экотоксикантов находятся тяжелые металлы [Исидоров, 1997]. Большинство элементов, входящих в эту группу, являются жизненно необходимыми, поскольку выполняют важную биологическую роль в живых организмах. Многие входят в состав ферментов и их активаторов, ответственны за синтез компонентов, составляющих живую материю, участвуют в энергообеспечении и регуляции метаболических процессов. Потребность в указанных элементах для орга-

низмов невелика, от нескольких миллиграммов до их долей, но в избыточных количествах они могут быть высокотоксичными. Поступление тяжелых металлов в окружающую среду происходит в результате как естественных процессов (образование морского и вулканического аэрозоля, выветривание почв и горных пород), так и в результате антропогенных выбросов. Следует отметить, что в последнее время техногенные потоки загрязняющих окружающую среду веществ в индустриально развитых районах по количеству существенно превосходят природные источники [Гелашвили и др., 2016]. Из группы особо опасных тяжелых металлов наиболее хорошо изучено влияние на живые объекты Hg, Pb, Cd, Zn, Cu, Co, Mn [Marigómes et al., 1990; Немова, 2005; Титов, Таланова, 2009; Ковековдова, 2011; Голованова, Урванцева, 2014; Zaid et al., 2020]. Значительно меньше внимания уделяется такому элементу, как никель, хотя этот металл наряду со свинцом и цинком количественно преобладает в загрязняющих среду техногенных

выбросах [Исидоров, 1997]. Кроме того, остается недостаточно изученной биологическая роль данного микроэлемента в организмах разных трофических уровней. Известно, что никель участвует в процессах кроветворения, в активации ферментов дегидрогеназ и растительных уреаз, у некоторых организмов он выполняет важную роль в окислительно-восстановительных реакциях, в структурной организации и функционировании нуклеиновых кислот и ряда белков, есть указания на его участие в усвоении ряда витаминов и минералов [Кашулин и др., 1999; Дмитриева и др., 2002; Gencic, Grahame, 2003; Krüger et al., 2003; Boer et al., 2014; Гелашвили и др., 2016; Катханова, 2019; Alfano, Cavazza, 2020]. Токсичность избыточных количеств никеля в среде обитания проявляется снижением темпов роста и продолжительности жизни организмов, подавлением иммунитета, нарушением функций дыхательной и сердечно-сосудистой систем, развитием аллергических реакций и злокачественных новообразований [Вредные..., 1977; Кашулин и др., 1999; Kienle et al., 2009; Zheng et al., 2014; Blewett, Leonard, 2017; Бахмет, Екимов, 2020]. Никель широко используется при производстве аккумуляторных батарей, для получения легированных сталей и сплавов, в гальванотехнике, в керамической и стекольной промышленности, в качестве катализатора в химических производствах и многих новых технологиях [Вредные..., 1977; Millward et al., 2012]. В соответствии с расширением областей использования возрастают объемы выбросов этого элемента и его соединений в окружающую среду. Кроме того, источниками поступления никеля в почву, атмосферный воздух и водоемы являются продукты сгорания ископаемого топлива, минеральные удобрения, отходы сельского и жилищно-бытового хозяйства. В некоторых регионах отмечается довольно высокое содержание данного токсичного металла. В частности, одним из таких районов является северо-запад европейской территории России, где сосредоточены предприятия по добыче и обогащению полезных ископаемых [Кашулин и др., 1999; Моисеенко, 2009; Терентьев и др., 2019]. С территории водосбора с тальми и дождевыми водами соединения никеля попадают в водоемы, а далее со стоками рек поступают в прибрежные воды северных морей. Показано, что река Поной в Мурманской области ежегодно приносит в Белое море до 25 т, а реки Архангельской области до 322 т соединений никеля [Белое..., 2007].

При проведении мониторинга состояния экосистем Белого моря установлено, что воды Кандалакшского залива содержат более высокие концентрации никеля и меди по сравнению

с другими акваториями водоема. Это связывают с металлогенической специализацией района и повышенным поступлением данных элементов со стоком рек и атмосферных выпадений [Чернова, 1993]. И хотя в настоящий момент концентрация никеля в Кандалакшском заливе не превышает ПДК, учитывая длительность воздействия и способность некоторых представителей биоты накапливать этот элемент в организме, его содержание может достигать высоких значений и вместе с другими загрязнителями представлять опасность для экосистемы прибрежной зоны. В качестве объектов-индикаторов при изучении влияния экотоксикантов в морских системах давно и успешно используются двустворчатые моллюски рода *Mytilus* [Goldberg, 1986; Farrington et al., 2016; Azizi et al., 2018]. В частности, многие эколого-токсикологические исследования на Белом море проводятся на мидии съедобной *Mytilus edulis* L. Этот фильтрующий сестонофаг ведет прикрепленный образ жизни, повсеместно распространен на литорали и верхней сублиторали побережья моря, хорошо приспособлен к переживанию часто меняющихся условий окружающей среды [Бергер, Луканин, 1985; Наумов, 2006; Фокина и др., 2020]. В процессах адаптации гидробионтов к воздействию неблагоприятных факторов, как правило, происходит переключение метаболизма с аэробного на анаэробное обеспечение энергией за счет внутриклеточных резервов. Важной особенностью мидий является использование для этих целей прежде всего гликогена и других углеводсодержащих компонентов [Горомосова, Шапиро, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988; Фокина и др., 2011]. В метаболизме углеводов принимают участие многочисленные гликозидазы, в том числе лизосомальные гликолитические ферменты, активные при кислых значениях pH [Высоцкая, Немова, 2008; Наумов, 2011]. Степень участия отдельных кислых гликозидаз в этих процессах изучена недостаточно.

Целью настоящей работы являлось изучение активности основных лизосомальных гликозидаз в органах мидий при воздействии на них никеля в условиях нормальной и пониженной солености морской воды.

Материалы и методы

Для определения влияния никеля на моллюсков были проведены эксперименты на Беломорской биологической станции «Картеш» им. О. А. Скарлато Зоологического института РАН. Мидий (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) собирали с установок для выращивания моллюсков с глубины около 2 метров в Кандалакшском заливе

Белого моря (66°17'09" с.ш. 34°22'53" в.д.). Температура морской воды во время сбора материала составляла 10 °С, соленость была 25 ‰. При проведении данной работы использовали моллюсков возрастом 6+, длина раковины которых составляла в среднем $65,4 \pm 1,12$ мм.

Схема эксперимента. Собранных для эксперимента мидий (более 200 особей) в течение двух недель акклимировали к лабораторным условиям. Их содержали по 15 экземпляров в аквариумах из оргстекла (объемом 20 л) при температуре 10 °С и постоянной аэрации воды. При этом одну группу содержали в воде соленостью 25 ‰, вторую – при пониженной до 15 ‰ солености, для чего природную морскую воду разбавляли дистиллированной. Выбор данного показателя обусловлен тем, что с таким распреснением мидии сталкиваются в реальности при сезонных изменениях солености и выпадении осадков. Кроме того, он близок к нижнему пределу осмотической толерантности, при котором у мидий еще не срабатывает изолирующий рефлекс схлопывания створок раковины. Изоляция организма от внешней среды у беломорских мидий происходит при солености 12–14 ‰ [Бергер, Луканин, 1985]. Половину объема воды в аквариумах (10 л) заменяли ежедневно. По окончании акклимации из обоих вариантов отбирали моллюсков для определения исходного уровня активности ферментов у них при разной солености (табл. 1). Далее проводили эксперимент по воздействию на мидий растворов хлорида никеля ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Для этого подопытных животных, акклимированных к нормальной и пониженной солености, разделяли на 4 подгруппы (из каждого варианта) и выдерживали в воде с разными концентрациями экотоксиканта: 0 (контроль), 10 (соответствует ПДК для рыбохозяйственных водоемов [Перечень..., 1999]), 100 и 500 мкг/л в пересчете на катион никеля. В течение всего эксперимента проводили замену растворов хлорида никеля, воду аэрировали, дополнительного питания моллюски не получали. Закрытия раковин у моллюсков в ходе эксперимента не зарегистрировано, гибели животных не происходило. Отбор проб осуществляли через 1, 3 и 10 суток. На биохимический анализ брали мягкие ткани мидий (жабры и гепатопанкреас), которые замораживали и держали до проведения анализов при температуре –80 °С.

Определение биохимических показателей. Аналитические работы выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук». Навески исследуемых тканей подвергали гомогенизации в 0,25М растворе сахарозы (рН 7,4), содержащем 0,001 М ЭДТА и 0,1 % неионного детергента тритона X-100. Соотношение вес/объем составляло 1 : 9. Гомогенаты центрифугировали при 10 000 g на центрифуге с охлаждением Allegra 64R (Beckman Coulter, США). В надосадочной жидкости определяли активность четырех лизосомальных гидролаз (α -глюкозидазы, β -глюкозидазы, β -галактозидазы, β -глюкуронидазы) и содержание белка.

Определение активности кислой β -глюкозидазы (КФ 3.2.1.21) проводили по методу Покровского с соавторами [1971], используя в качестве субстрата раствор *пара*-нитрофенил- β ,D-глюкопиранозида в цитратном буфере (рН 5). Учитывая, что это мембраносвязанный фермент, в реакционную смесь добавляли дополнительное количество детергента тритона X-100 для разрыва связи с мембраной. Активность α -глюкозидазы (КФ 3.2.1.20), β -галактозидазы (3.2.1.23) и β -глюкуронидазы (КФ 3.2.1.31) выявляли методом, предложенным Барретом и Хитом [1980]. Субстратами служили растворы *пара*-нитрофенил- α ,D-глюкопиранозида (рН 4), *пара*-нитрофенил- β ,D-галактопиранозида (рН 4) и *пара*-нитрофенил- β ,D-глюкуронида (рН 5) на цитратном буфере соответственно. Активность изученных гликозидаз выражали в микромолях (мкМ) *пара*-нитрофенола, образующегося в результате реакции, в расчете на мг белка в час. Количество растворимого белка в гомогенатах определяли по Лоури.

Полученные результаты обработаны общепринятыми методами вариационной статистики и представлены в работе в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$). Сравнение биохимических показателей между группами моллюсков проводили с применением непараметрического критерия U Вилкоксона – Манна – Уитни [Гублер, Генкин, 1969]. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Изменение нормальной для Белого моря солености морской воды (25 ‰) в сторону снижения вызывало повышение активности практически всех лизосомальных гликозидаз в обоих органах мидий (табл. 1). Наиболее значимо повышалась активность β -глюкуронидазы в гепатопанкреасе и β -галактозидазы в жабрах. При понижении солености в изученных органах на более высоком уровне была активность α -глюкозидазы.

Под воздействием никеля активность α -глюкозидазы, как правило, заметно снижалась

Таблица 1. Исходный уровень активности лизосомальных ферментов в органах беломорских мидий *Mytilus edulis* при разной солености ($M \pm m$; $n = 5$)

Table 1. Initial level of activity of lysosomal enzymes in the organs of the White Sea mussels *Mytilus edulis* at different salinity ($M \pm m$; $n = 5$)

Орган Organ	Фермент Enzyme	Соленость, ‰ Salinity, ‰	
		25	15
Гепатопанкреас Hepatopancreas	α -глюкозидаза α -glucosidase	1,452 \pm 0,145	1,800 \pm 0,141
	β -глюкозидаза β -glucosidase	0,584 \pm 0,047	0,628 \pm 0,047
	β -галактозидаза β -galactosidase	1,227 \pm 0,048	1,438 \pm 0,027*
	β -глюкуронидаза β -glucuronidase	0,274 \pm 0,011	0,412 \pm 0,004*
Жабры Gills	α -глюкозидаза α -glucosidase	0,272 \pm 0,019	0,328 \pm 0,038
	β -глюкозидаза β -glucosidase	0,066 \pm 0,001	0,083 \pm 0,006*
	β -галактозидаза β -galactosidase	0,294 \pm 0,016	0,412 \pm 0,020*
	β -глюкуронидаза β -glucuronidase	0,063 \pm 0,003	0,058 \pm 0,003

Примечание. *Различия в условиях разной солености статистически значимы при $p \leq 0,05$.

Note. *The differences in conditions of different salinity are statistically significant at $p \leq 0.05$.

в гепатопанкреасе, при этом эффект был более выраженным с повышением концентрации никеля в среде обитания моллюсков (табл. 2). В жабрах присутствие никеля в первые сутки эксперимента вызывало активацию данного фермента даже при высокой концентрации металла, что сохранялось и после 10 суток воздействия. При совместном влиянии токсиканта и распреснения воды отмечена значительная активация α -глюкозидазы в гепатопанкреасе по мере нарастания концентрации никеля на третьи сутки эксперимента. В жабрах же происходило угнетение этой гликозидазы практически во всех вариантах опыта.

Изменение активности β -глюкозидазы носило несколько иной характер (табл. 3). При нормальной солености в гепатопанкреасе активность фермента значимо возрастала в трехсуточном эксперименте, снижаясь при низких и высоких концентрациях никеля. В жабрах, напротив, отмечено плавное снижение активности этой гидролазы при увеличении концентрации металла на третьи сутки. Воздействие никеля на моллюсков при понижении солености воды до 15 ‰ вызывало активацию β -глюкозидазы в обоих органах при экспозиции 1 и 3 суток и заметное снижение к концу эксперимента.

Сходные результаты наблюдались по влиянию изученных факторов на активность β -галактозидазы: при солености 25 ‰ – плав-

ное возрастание с ростом концентрации никеля при экспозиции 3 суток в гепатопанкреасе и угнетение в жабрах (табл. 4). В других случаях для фермента выявлено как повышение, так и снижение активности в обоих органах, но при максимальной концентрации никеля чаще происходило угнетение фермента по сравнению с контролем.

На этом фоне выделяется реакция β -глюкуронидазы на присутствие в среде обитания никеля. При нормальной солености уже после первых суток эксперимента отмечалось достоверное повышение активности фермента ($p \leq 0,05$) при всех концентрациях токсиканта и в гепатопанкреасе, и в жабрах (табл. 5). Аналогичная зависимость выявлена в обоих органах при 3-суточной экспозиции. В жабрах наиболее значительное повышение активности β -глюкуронидазы отмечено при самой высокой концентрации никеля (500 мкг/л) к концу эксперимента.

При воздействии токсиканта в условиях пониженной до 15 ‰ солености установлено повышение активности β -глюкуронидазы в органах моллюска практически во всех вариантах опыта. Исключением были жабры мидий при трехсуточном выдерживании животных в условиях опыта, где наблюдалось значительное снижение этого фермента, особенно при высокой концентрации никеля.

Таблица 2. Активность α -глюкозидазы в органах *M. edulis* (мкМ пара-нитрофенола / мг белка в час) под влиянием никеля при разной солености ($M \pm m$; $n = 5$)

Table 2. A-glucosidase activity (μM para-nitrophenol / mg protein per hour) in the organs of *M. edulis* under the influence of nickel at different salinity ($M \pm m$; $n = 5$)

Орган Organ	Экспозиция, сут Exposition, day	Концентрация Ni, мкг/л Ni concentration, $\mu\text{g/l}$	Соленость, ‰ Salinity, ‰	
			25	15
Гепатопанкреас Hepatopancreas	1	0 (контроль / control)	2,306 \pm 0,042 ^a	1,966 \pm 0,073 ^b
		10	1,823 \pm 0,055 ^{c,d}	1,951 \pm 0,028 ^b
		100	2,354 \pm 0,072	2,203 \pm 0,073 ^c
		500	1,591 \pm 0,078 ^c	1,397 \pm 0,015 ^{b,c}
	3	0 (контроль / control)	1,282 \pm 0,056 ^d	1,022 \pm 0,021 ^{b,d}
		10	1,403 \pm 0,015 ^d	1,413 \pm 0,010 ^{c,d}
		100	1,211 \pm 0,019 ^d	2,434 \pm 0,057 ^{b,c,d}
		500	1,003 \pm 0,011 ^d	3,399 \pm 0,052 ^{b,c,d}
	10	0 (контроль / control)	2,024 \pm 0,029	1,311 \pm 0,013 ^{b,d}
		10	1,460 \pm 0,020 ^{c,d}	1,347 \pm 0,068 ^d
		100	1,551 \pm 0,033 ^{c,d}	1,105 \pm 0,021 ^{b,c,d}
		500	1,627 \pm 0,033 ^c	1,540 \pm 0,010 ^{c,d}
Жабры Gills	1	0 (контроль / control)	0,391 \pm 0,004 ^a	0,891 \pm 0,026 ^{a,b}
		10	0,648 \pm 0,045	0,614 \pm 0,017 ^c
		100	0,278 \pm 0,034 ^c	0,658 \pm 0,016 ^{b,c}
		500	0,798 \pm 0,019 ^c	0,434 \pm 0,007 ^{b,c}
	3	0 (контроль / control)	0,456 \pm 0,009 ^d	0,495 \pm 0,010 ^{b,d}
		10	0,283 \pm 0,023 ^{c,d}	0,395 \pm 0,015 ^{b,c,d}
		100	0,520 \pm 0,005 ^{c,d}	0,418 \pm 0,013 ^{b,c,d}
		500	0,399 \pm 0,017 ^{c,d}	0,394 \pm 0,014 ^{c,d}
	10	0 (контроль / control)	0,308 \pm 0,008 ^d	0,409 \pm 0,023 ^{b,d}
		10	0,401 \pm 0,011 ^{c,d}	0,363 \pm 0,016 ^d
		100	0,497 \pm 0,014 ^{c,d}	0,512 \pm 0,001 ^{c,d}
		500	0,480 \pm 0,015 ^{c,d}	0,406 \pm 0,038

Примечание. Здесь и далее различия статистически значимы: ^a по сравнению с исходным уровнем (табл. 1); ^b в условиях различной солености; ^c в зависимости от концентрации никеля; ^d в зависимости от времени воздействия никеля; при $p \leq 0,05$.

Note. Hereinafter the differences are statistically significant: ^a in comparison with the initial level (Table 1); ^b under different salinity conditions; ^c depending on nickel concentration; ^d depending on the nickel exposure time; at $p \leq 0.05$.

Таблица 3. Активность β -глюкозидазы в органах *M. edulis* (мкМ пара-нитрофенола / мг белка в час) под влиянием никеля при разной солености ($M \pm m$; $n = 5$)

Table 3. B-glucosidase activity (μM para-nitrophenol / mg protein per hour) in the organs of *M. edulis* under the influence of nickel at different salinity ($M \pm m$; $n = 5$)

Орган Organ	Экспозиция, сут Exposition, day	Концентрация Ni, мкг/л Ni concentration, $\mu\text{g/l}$	Соленость, ‰ Salinity, ‰	
			25	15
Гепатопанкреас Hepatopancreas	1	0 (контроль / control)	0,994 \pm 0,057 ^a	0,605 \pm 0,013 ^b
		10	0,787 \pm 0,020 ^c	0,721 \pm 0,015 ^{c,b}
		100	0,530 \pm 0,010	0,718 \pm 0,048 ^{c,b}
		500	0,279 \pm 0,007 ^c	0,686 \pm 0,063 ^b
	3	0 (контроль / control)	0,440 \pm 0,014 ^d	0,858 \pm 0,029 ^{b,d}
		10	0,522 \pm 0,007 ^{c,d}	0,569 \pm 0,020 ^{b,c,d}
		100	0,569 \pm 0,008 ^{c,d}	1,108 \pm 0,036 ^{b,c,d}
		500	0,908 \pm 0,024 ^{c,d}	1,131 \pm 0,022 ^{b,c,d}
	10	0 (контроль / control)	0,749 \pm 0,020 ^d	0,536 \pm 0,011 ^{b,d}
		10	0,598 \pm 0,013 ^{c,d}	0,658 \pm 0,025 ^{b,c,d}
		100	0,586 \pm 0,012 ^c	0,438 \pm 0,007 ^{b,c,d}
		500	0,467 \pm 0,015 ^{c,d}	0,438 \pm 0,014 ^{c,d}
Жабры Gills	1	0 (контроль / control)	0,070 \pm 0,004	0,089 \pm 0,003 ^b
		10	0,150 \pm 0,014 ^c	0,137 \pm 0,009 ^c
		100	0,072 \pm 0,003	0,142 \pm 0,022 ^c
		500	0,106 \pm 0,005 ^c	0,089 \pm 0,010
	3	0 (контроль / control)	0,132 \pm 0,002 ^d	0,087 \pm 0,007 ^b
		10	0,137 \pm 0,011	0,105 \pm 0,009 ^{b,d}
		100	0,087 \pm 0,007 ^c	0,111 \pm 0,008 ^{b,c}
		500	0,078 \pm 0,005 ^{c,d}	0,126 \pm 0,008 ^{b,c}
	10	0 (контроль / control)	0,076 \pm 0,003	0,090 \pm 0,002
		10	0,090 \pm 0,003 ^d	0,086 \pm 0,004 ^d
		100	0,118 \pm 0,003	0,084 \pm 0,001 ^{b,c,d}
		500	0,160 \pm 0,002	0,076 \pm 0,001 ^{b,c,d}

Таблица 4. Активность β-галактозидазы в органах *M. edulis* (мкМ пара-нитрофенола / мг белка в час) под влиянием никеля при разной солености (M ± m; n = 5)

Table 4. B-galactosidase activity (μM para-nitrophenol / mg protein per hour) in the organs of *M. edulis* under the influence of nickel at different salinity (M ± m; n = 5)

Орган Organ	Экспозиция, сут Exposition, day	Концентрация Ni, мкг/л Ni concentration, μg/l	Соленость, ‰ Salinity, ‰	
			25	15
Гепатопанкреас Hepatopancreas	1	0 (контроль / control)	2,132 ± 0,047 ^a	1,085 ± 0,052 ^{a,b}
		10	1,626 ± 0,115 ^c	1,494 ± 0,037 ^c
		100	2,268 ± 0,012 ^c	1,560 ± 0,024 ^{b,c}
		500	1,289 ± 0,050 ^c	1,697 ± 0,025 ^{b,c}
	3	0 (контроль / control)	1,149 ± 0,042	1,448 ± 0,032 ^b
		10	1,130 ± 0,013 ^d	1,821 ± 0,048 ^{b,c,d}
		100	1,311 ± 0,025 ^{c,d}	2,254 ± 0,025 ^{b,c,d}
		500	1,896 ± 0,019 ^{c,d}	3,136 ± 0,099 ^{b,c,d}
	10	0 (контроль / control)	1,959 ± 0,077 ^d	1,527 ± 0,017 ^b
		10	1,366 ± 0,101 ^c	1,667 ± 0,064 ^{b,c}
		100	1,426 ± 0,040 ^{c,d}	1,643 ± 0,039 ^{b,c}
		500	1,592 ± 0,064 ^{c,d}	1,300 ± 0,032 ^{b,c,d}
Жабры Gills	1	0 (контроль / control)	0,560 ± 0,027 ^a	0,793 ± 0,054 ^b
		10	0,978 ± 0,057 ^c	0,928 ± 0,042 ^c
		100	0,411 ± 0,024 ^c	0,715 ± 0,027 ^b
		500	0,794 ± 0,010 ^c	0,540 ± 0,019 ^{b,c}
	3	0 (контроль / control)	0,785 ± 0,020 ^d	0,694 ± 0,017 ^{b,d}
		10	0,469 ± 0,010 ^{c,d}	0,651 ± 0,008 ^{b,c,d}
		100	0,559 ± 0,015 ^c	0,886 ± 0,008 ^{b,c,d}
		500	0,355 ± 0,010 ^{c,d}	1,274 ± 0,046 ^{b,c,d}
	10	0 (контроль / control)	0,562 ± 0,007	0,757 ± 0,039 ^b
		10	0,545 ± 0,009 ^{c,d}	0,544 ± 0,004 ^{c,d}
		100	0,649 ± 0,012	0,487 ± 0,010 ^{b,c,d}
		500	1,257 ± 0,021	0,570 ± 0,016 ^{b,c}

Таблица 5. Активность β-глюкуронидазы в органах *M. edulis* (мкМ пара-нитрофенола / мг белка в час) под влиянием никеля при разной солености (M ± m; n = 5)

Table 5. B-glucuronidase activity (μM para-nitrophenol / mg protein per hour) in the organs of *M. edulis* under the influence of nickel at different salinity (M ± m; n = 5)

Орган Organ	Экспозиция, сут Exposition, day	Концентрация Ni, мкг/л Ni concentration, μg/l	Соленость, ‰ Salinity, ‰	
			25	15
Гепатопанкреас Hepatopancreas	1	0 (контроль / control)	0,398 ± 0,024 ^a	0,207 ± 0,019 ^{a,b}
		10	0,588 ± 0,017 ^c	0,228 ± 0,014 ^b
		100	0,527 ± 0,006 ^c	0,186 ± 0,009 ^b
		500	0,512 ± 0,017 ^c	0,399 ± 0,026 ^{b,c}
	3	0 (контроль / control)	0,209 ± 0,005 ^d	0,303 ± 0,008 ^{b,d}
		10	0,231 ± 0,010 ^{c,d}	0,274 ± 0,012 ^{b,c,d}
		100	0,255 ± 0,021 ^{c,d}	0,467 ± 0,011 ^{b,c,d}
		500	0,357 ± 0,015 ^{c,d}	0,396 ± 0,021 ^c
	10	0 (контроль / control)	0,496 ± 0,004 ^d	0,249 ± 0,003 ^b
		10	0,268 ± 0,003 ^{c,d}	0,455 ± 0,018 ^{b,c,d}
		100	0,281 ± 0,003 ^{c,d}	0,346 ± 0,001 ^{b,c,d}
		500	0,479 ± 0,010 ^c	0,294 ± 0,001 ^{b,c,d}
Жабры Gills	1	0 (контроль / control)	0,060 ± 0,005	0,138 ± 0,007 ^b
		10	0,224 ± 0,017 ^c	0,146 ± 0,016 ^b
		100	0,213 ± 0,025 ^c	0,176 ± 0,005 ^{b,c}
		500	0,145 ± 0,006 ^c	0,111 ± 0,013 ^{b,c}
	3	0 (контроль / control)	0,251 ± 0,013 ^d	0,486 ± 0,022 ^{b,d}
		10	0,252 ± 0,005	0,300 ± 0,007 ^{b,c}
		100	0,361 ± 0,020 ^{c,d}	0,301 ± 0,006 ^{b,c,d}
		500	0,444 ± 0,021 ^{c,d}	0,194 ± 0,003 ^{b,c,d}
	10	0 (контроль / control)	0,088 ± 0,003 ^d	0,201 ± 0,006 ^b
		10	0,212 ± 0,002 ^{c,d}	0,219 ± 0,013
		100	0,130 ± 0,008 ^d	0,355 ± 0,025 ^{b,c}
		500	0,308 ± 0,006 ^{c,d}	0,355 ± 0,002 ^{b,c}

Обсуждение

Мидии, как и другие обитатели приливно-отливной зоны, обладают мощными механизмами адаптивных приспособлений к часто и резко изменяющимся условиям среды обитания [Хочачка, Сомеро, 1988; Moore et al., 2007; Moore, 2008]. Одной из таких важных особенностей двустворчатых моллюсков на биохимическом уровне является накопление в их тканях больших запасов энергетических материалов, которые легко мобилизуются при наступлении неблагоприятных условий [Горомосова, Шапиро, 1984]. В период полового покоя в органах мидий гликоген может составлять до 30–40 % от сухой массы [Сухотин, Регель, 2010]. Как упоминалось выше, в метаболизме резервных углеводов активное участие принимают различные гликозидазы, в том числе кислые гидролитические ферменты лизосом [Высоцкая, Немова, 2008]. Природными субстратами α -гликозидазы являются гликоген и другие полисахариды, в которых остатки глюкозы соединены $\alpha(1\rightarrow4)$ связями. Выявленное в настоящем исследовании значительное повышение активности α -гликозидазы в условиях сниженной солености, а также в гепатопанкреасе при совместном влиянии умеренных и высоких концентраций никеля и распреснения, было вполне ожидаемо. Другие лизосомальные гликозидазы обладают довольно широкой субстратной специфичностью и при истощении запасов гликогена могут отщеплять остатки моносахаридов от других сложных соединений, с тем чтобы использовать их для энергозатратных процессов адаптации и синтеза регулирующих обмен веществ компонентов. Большинство лизосомальных гликозидаз обладают, кроме гидролитической, еще и трансгликозилазной активностью [Winchester, 2005; Наумов, 2011]. При их участии синтезируются сложные углеводсодержащие соединения, регулирующие метаболизм, такие как содержащие галактозу гликолипиды и протеогликаны. Это значительно расширяет возможности лизосомальных гликозидаз как инструмента биохимической адаптации.

Ранее было показано, что при воздействии тяжелых металлов на рыб и моллюсков в жабрном эпителии и пищеварительной железе наблюдалась активация лизосомального аппарата, в лизосомах отмечалось наличие плотных гранул, увеличивались их размеры [Marigómes et al., 1990; Немова, Высоцкая, 2004]. Решающую роль в защите моллюсков от экотоксикантов играют гемоциты – особые клетки крови, способные к фагоцитозу.

Гемоцитами богаты ткани мантии, пищеварительного тракта и жабр [Livingstone, Pipe, 1992]. В гемоцитах аккумулируются различные загрязняющие вещества, в том числе тяжелые металлы. Обезвреживание тяжелых металлов осуществляется путем взаимодействия с металлотионеинами или с участием лизосомального фермента β -глюкуронидазы. Основной функцией этого фермента является защита организма от токсического действия ксенобиотиков и эндогенных метаболитов [Naz et al., 2013]. β -глюкуронидаза осуществляет расщепление β ,D-глюкуронидов, а образующийся остаток глюкуроновой кислоты вступает в реакцию конъюгации с обезвреживаемым компонентом. В виде конъюгатов эти вещества выводятся из клетки, а затем из организма.

Выявленный в наших исследованиях высокий уровень активности β -глюкуронидазы в мягких тканях мидий под влиянием никеля при нормальной солености свидетельствует о высокой токсичности этого металла для мидий. Следует отметить, однако, что воздействие органических поллютантов, например сырой нефти, вызывало более сильную ответную реакцию лизосомальных гликозидаз, чем влияние этого тяжелого металла. Так, активность β -глюкуронидазы в жабрах мидий под влиянием сырой нефти возрастала в 12 раз по сравнению с контролем, а под воздействием никеля – в 3,5 раза [Высоцкая и др., 2022]. Возможно, в этом случае следует учитывать особенности аккумуляции токсикантов в организме мидий. Показано, что накопление и выведение тяжелых металлов в тканях моллюсков, как и функционирование лизосомального аппарата клетки, носит фазовый характер [Marigómes et al., 1990; Высоцкая, Немова, 2008]. Кроме того, есть данные, указывающие на видовую специфику накопления металлов в тканях гидробионтов. Показано, что Ni в мягких тканях мидий накапливается в значительно меньших количествах, чем Cu, Zn, Mn, Cd и Fe [Ковековдова, 2011]. Эти и другие вопросы, возникающие при обсуждении данной темы, требуют проведения дальнейших исследований.

При совместном влиянии распреснения и никеля можно говорить о некотором снижении адаптивного потенциала моллюсков к концу эксперимента и при высоких концентрациях никеля. Эти изменения не являются критическими, поскольку снижение солености до 15 ‰ не выходит «за пределы диапазона осмотической толерантности» мидий [Бергер, Луканин, 1985].

Заключение

Проведенные исследования показали, что в ответной реакции на воздействие никеля и распреснение морской воды активное участие принимают лизосомальные гликозидазы мягких тканей мидий. При снижении обычной для Белого моря солености с 25 до 15 ‰ отмечено повышение активности изученных ферментов в гепатопанкреасе и жабрах. Влияние разных концентраций никеля и сочетанное воздействие обоих факторов вызывало более сложную реакцию со стороны гликолитических ферментов лизосом, в которой проявлялась функциональная специфика отдельных гликозидаз. Так, α -глюкозидаза, осуществляющая расщепление основного энергетического резерва моллюсков – гликогена, обеспечивала организм материалом для энергетических трат на адаптивные перестройки. Другие гликозидазы также участвуют в процессах отщепления остатков моносахаридов от углеводсодержащих соединений и использования их в качестве энергетического и пластического материала для построения необходимых в этот момент организму компонентов, в том числе являющихся регуляторами метаболизма. Выявленный в эксперименте высокий уровень активности β -глюкуронидазы при воздействии никеля позволяет предположить, что лизосомальная система является основной мишенью этого вида загрязнения и играет важную роль в детоксикации и выведении токсиканта из организма. Жабры проявляют более высокую чувствительность к воздействию испытанного экотоксиканта. В гепатопанкреасе отмечена наибольшая ответная реакция со стороны лизосомальных гликозидаз при экспозиции 3 суток как под влиянием никеля, так и при воздействии обоих факторов.

Таким образом, показано активное участие лизосомальных гликозидаз в адаптивных перестройках метаболизма в органах мидий, связанных с экологическим стрессом, индуцированным влиянием никеля и понижением солености воды. Изменения активности ферментов зависели от функциональной специфики отдельных ферментов и органов мидий, концентрации катионов никеля, солености морской воды и экспозиции моллюсков в условиях опыта.

Авторы благодарят руководство и сотрудников Беломорской биологической станции «Картеш» ЗИН РАН за предоставленную возможность проводить исследования и за помощь в постановке экспериментов.

Литература

Баррет А. Дж., Хит М. Ф. Лизосомальные ферменты // Лизосомы. Методы исследования. М.: Мир, 1980. С. 25–56.

Бахмет И. Н., Екимов Д. А. Влияние ионов никеля на сердечную активность мидии *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 // Труды Карельского научного центра РАН. 2020. № 11. С. 64–69. doi: 10.17076/eb1226

Белое море и его водосбор под влиянием климатических и антропогенных факторов / Под ред. Н. Н. Филатова, А. Ю. Тержевика. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 335 с.

Бергер В. Я., Луканин В. В. Адаптивные реакции мидии Белого моря на изменения солености среды // Исследование мидии Белого моря: Сб. трудов (Проект «Белое море») / Гл. ред. О. А. Скарлато. Л.: ЗИН АН СССР, 1985. С. 4–21.

Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Изд. 7-е, пер. и доп. В трех томах. Т. III. Неорганические и элементарноорганические соединения / Ред. Н. В. Лазарев, И. Д. Гадаскина. Л.: Химия, 1977. С. 543–554.

Высоцкая Р. У., Немова Н. Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.

Высоцкая Р. У., Бахмет И. Н., Мурзина С. А. Активность лизосомальных ферментов в органах беломорских мидий *Mytilus edulis* L. под воздействием сырой нефти в условиях различной солености // Труды Карельского научного центра РАН. 2022. № 8. С. 50–56. doi: 10.17076/eco1719

Гелашвили Д. Б., Безель В. С., Романова Е. Б., Безруков М. Е., Силкин А. А., Нижегородцев А. А. Принципы и методы экологической токсикологии / Ред. Д. Б. Гелашвили. Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2016. 702 с.

Голованова И. Л., Урванцева Г. А. Влияние свинца на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника рыб // Труды Карельского научного центра РАН. 2014. № 5. С. 195–199.

Горомосова С. А., Шапиро А. З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. М.: Легк. и пищ. пром-ть, 1984. 120 с.

Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. М.: Медицина, 1969. 29 с.

Дмитриева А. Г., Кожанова О. Н., Дронина Н. Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2002. 160 с.

Исидоров В. А. Введение в курс химической экотоксикологии. Учебное пособие. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 1997. 88 с.

Катханова О. А. Синергизм и антагонизм компонентов эссенциальных микронутриентов в лечении диффузного поредения волос // Клиническая дерматология и венерология. 2019. Т. 18, № 2. С. 225–234. doi: 10.17116/klinderma 201918021225

Кашулин Н. А., Лукин А. А., Амундсен Р.-А. Рыбы пресных вод Субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты: ИППЭС КНЦ РАН, 1999. 142 с.

Ковековдова Л. Т. Микроэлементы в морских промысловых объектах Дальнего Востока России: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Владивосток, 2011. 40 с.

Моисеенко Т. И. Водная токсикология: теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука; 2009. 400 р.

Наумов А. Д. Двустворчатые моллюски Белого моря. Опыт эколого-фаунистического анализа. СПб.: ЗИН РАН, 2006. 367 с.

Наумов Д. Г. Иерархическая классификация гликозил-гидролаз // Биохимия. 2011. Т. 76, вып. 6. С. 764–780.

Немова Н. Н. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб. М.: Наука, 2005. 165 с.

Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 216 с.

Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды, водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: Всерос. науч.-исслед. ин-т рыб. хоз-ва и океанографии, 1999. 304 с.

Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А. Исследование активности ферментов лизосом при действии афлатоксина и митомицина С // Биохимия. 1971. Т. 36, вып. 4. С. 690–696.

Сухотин А. А., Регель К. В. Сезонные изменения биохимического состава тканей мидий как кормового объекта водоплавающих птиц // Отчетная научная сессия по итогам работ 2009 г.: Тезисы докл. СПб.: ЗИН РАН, 2010. С. 32–33.

Терентьев П. М., Зубова Е. М., Кашулин Н. А., Королева И. М. Особенности накопления тяжелых металлов в рыбах малых озер Зеленого пояса Фенноскандии (на территории Мурманской области) // Труды Карельского научного центра РАН. 2019. № 5. С. 39–55. doi: 10.17076/eco1083

Титов А. Ф., Таланова В. В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. 206 с.

Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Биохимические адаптации морских двустворчатых моллюсков к аноксии (обзор) // Труды Карельского научного центра РАН. 2011. № 3. С. 121–130.

Фокина Н. Н., Руоколайнен Т. Р., Бахмет И. Н., Немова Н. Н. Модифицирующий эффект пониженной солености на изменения липидного состава мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на действие никеля // Известия РАН. Сер. биол. 2020. № 6. С. 656–664. doi: 10.31857/S0002332920060053

Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1988. 586 с.

Чернова Е. Н. Оценка химико-экологической ситуации в Белом море по содержанию микроэлементов в обыкновенной мидии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1993. 24 с.

Alfano M., Cavazza C. Structure, function, and biosynthesis of nickel-dependent enzymes // Protein Sci. 2020. Vol. 29, no. 5. P. 1071–1089. doi: 10.1002/pro.3836

Azizi G., Akodad M., Baghour M., Layachi M., Moumen A. The use of *Mytilus* spp. mussels as bioindicators of heavy metal pollution in the coastal environment. A review // J. Mater. Environ. Sci. 2018. Vol. 9, no. 4. P. 1170–1181. doi: 10.26872/jmes.2018.9.4.129

Blewett T. A., Leonard E. M. Mechanisms of nickel toxicity to fish and invertebrates in marine and estuarine waters // Environ. Poll. 2017. Vol. 223. P. 311–322.

Boer J. L., Mulrooney S. B., Hausinger R. P. Nickel-dependent metalloenzymes // Arch. Biochem. Biophys. 2014. Vol. 544. P. 142–152. doi: 10.1016/j.abb.2013.09.002

Farrington J. W., Tripp B. W., Tanabe S., Subramanian A., Sericano J., Wade T. L., Knap A. H. Edward D. Goldberg's proposal of "the Mussel Watch": Reflections after 40 years // Mar. Pollut. Bull. 2016. Vol. 110, no. 1. P. 501–510. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.05.074

Gencic S., Grahame D. A. Nickel in subunit beta of the acetyl-CoA decarbonylase/synthase multienzyme complex in methanogens. Catalytic properties and evidence for a binuclear Ni-Ni site // J. Biol. Chem. 2003. Vol. 278, no. 8. P. 6101–6110. doi: 10.1074/jbc.M210484200

Goldberg E. D. The Mussel Watch concept // Environ. Monit. Assess. 1986. Vol. 7. P. 101–125. doi: 10.1007/BF00398031

Kienle C., Köhler H.-R., Gerhardt A. Behavioural and developmental toxicity of chlorpyrifos and nickel chloride to zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2009. Vol. 72. P. 1740–1747.

Krüger M., Meyerdielks A., Glockner F. O., Amann R., Widdel F., Kube M., Reinhardt R., Kahnt J., Böcher R., Thauer R. K., Shima S. A conspicuous nickel protein in microbial mats that oxidize methane anaerobically // Nature. 2003. Vol. 426, no. 6968. P. 878–881. doi: 10.1038/nature02207

Livingstone D. R., Pipe R. K. Mussel and environmental contaminants: molecular and cellular aspects / Ed. E. Gosling. The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture. Amsterdam; New York: Elsevier, 1992. P. 425–456.

Marigómes I., Ireland M. P., Angulo E. Correlation of cadmium shell-weight index with environmental stress indicators at the cellular and organismic levels in *Littorina littorea* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1990. Vol. 67, no. 2. P. 170–176. doi: 10.3354/meps067171

Millward G. E., Kadam S., Jha A. N. Tissue-specific assimilation, depuration and toxicity of nickel in *Mytilus edulis* // Environ. Poll. 2012. Vol. 162. P. 406–412. doi: 10.1016/j.envpol.2011.11.034

Moore M. N. Autophagy as second level protective process in conferring resistance to environmentally induced oxidative stress // Autophagy. 2008. Vol. 4, no. 2. P. 254–256. doi: 10.4161/auto.5528

Moore M. N., Viarengo A., Donkin P., Hawkins A. J. Autophagic and lysosomal reactions to stress in the hepatopancreas of blue mussels // Aquat. Toxicol. 2007. Vol. 84. P. 80–91. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.06.007

Naz H., Islam A., Waheed A., Sly W. S., Ahmad F., Hassan M. I. Human β -glucuronidase: structure, function, and application in enzyme replacement therapy // Rejuvenation Res. 2013. Vol. 16, no. 5. P. 352–363. doi: 10.1089/rej.2013.1407

Winchester B. Lysosomal metabolism of glycoproteins // Glycobiol. 2005. Vol. 15, no. 6. P. 1R–15R. doi: 10.1093/glycob/cwi041

Zaid A., Mohammad F., Fariduddin Q. Plant growth regulators improve growth, photosynthesis, mineral nutrient and antioxidant system under cadmium stress in menthol mint (*Mentha arvensis* L.) // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2020. Vol. 26, no. 1. P. 25–39.

Zheng G. H., Liu C. M., Sun J. M., Feng Z. J., Cheng C. Nickel-induced oxidative stress and apoptosis in *Carassius auratus* liver by JNK pathway // *Aquat. Toxicol.* 2014. Vol. 147. P. 105–111.

References

Alfano M., Cavazza C. Structure, function, and biosynthesis of nickel-dependent enzymes. *Protein Sci.* 2020;29(5):1071–1089. doi: 10.1002/pro.3836

Azizi G., Akodad M., Baghour M., Layachi M., Moumen A. The use of *Mytilus* spp. mussels as bioindicators of heavy metal pollution in the coastal environment. A review. *J. Mater. Environ. Sci.* 2018;9(4):1170–1181. doi: 10.26872/jmes.2018.9.4.129

Bakhmet I. N., Ekimov D. A. Effect of nickel ions on cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of Karelian Research Centre RAS.* 2020;11:64–69. doi: 10.17076/eb1226 (In Russ.)

Barrett A. J., Heat M. F. Lysosomal enzymes. *J. T. Dingle (ed.). Lysosomes, a Laboratory Handbook.* Amsterdam-NY-Oxford: North-Holland Publ. Comp; 1977.

Berger V. Ya., Lukanin V. V. Adaptive reactions of the White Sea mussels to changes in environmental salinity. *Issledovanie midii Belogo morya: Sb. trudov (Proekt Beloe more) = Study of the White Sea mussels. Proceedings (White Sea Project).* Leningrad: ZIN AN SSSR; 1985. P. 4–21. (In Russ.)

Blewett T. A., Leonard E. M. Mechanisms of nickel toxicity to fish and invertebrates in marine and estuarine waters. *Environ. Poll.* 2017;223:311–322.

Boer J. L., Mulrooney S. B., Hausinger R. P. Nickel-dependent metalloenzymes. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014;544:142–152. doi: 10.1016/j.abb.2013.09.002

Chernova E. N. Assessment of the chemical-ecological situation in the White Sea based on the content of microelements in the common mussel: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Vladivostok; 1993. 24 p. (In Russ.)

Dmitrieva A. G., Kozhanova O. N., Dronina N. L. Physiology of plant organisms and the role of metals. Moscow: Moscow Univ. Publ.; 2002. 160 p. (In Russ.)

Farrington J. W., Tripp B. W., Tanabe S., Subramanian A., Sericano J., Wade T. L., Knap A. H. Edward D. Goldberg's proposal of "the Mussel Watch": Reflections after 40 years. *Mar. Pollut. Bull.* 2016;110(1):501–510. doi: 10.1016/j.marpollbul.2016.05.074

Filatov N. N., Terzhevskiy A. Yu. (eds.). The White Sea and its catchment under the influence of climate and antropogenic impact. Petrozavodsk: KarRC RAS; 2007. 335 p. (In Russ.)

Fokina N. N., Nefedova Z. A., Nemova N. N. Biochemical adaptations of the marine bivalves to anoxic conditions (review). *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of Karelian Research Centre RAS.* 2011;3:121–130. (In Russ.)

Fokina N. N., Ruokolainen T. R., Bakhmet I. N., Nemova N. N. Modifying effect of low salinity on changes in the lipid composition of mussels *Mytilus edulis* L. in response to nickel effect. *Izvestiya RAN. Ser. Biol. = Biology Bulletin.* 2020;6:656–664. doi: 10.31857/S0002332920060053 (In Russ.)

Gelashvili D. B., Bezel V. S., Romanova E. B., Bezrukov M. E., Silkin A. A., Nizhegorodtsev A. A. Principles and methods of ecological toxicology. Nizhny Novgorod: Nizhny Novgorod State Univ. Publ.; 2016. 702 p. (In Russ.)

Gencic S., Grahame D. A. Nickel in subunit beta of the acetyl-CoA decarbonylase/synthase multienzyme complex in methanogens. Catalytic properties and evidence for a binuclear Ni-Ni site. *J. Biol. Chem.* 2003;278(8):6101–6110. doi: 10.1074/jbc.M210484200

Goldberg E. D. The Mussel Watch concept. *Environ. Monit. Assess.* 1986;7:101–125. doi: 10.1007/BF00398031

Golovanova I. L., Urvantseva G. A. Effect of lead on glycosidase activity in intestinal mucosa in fish. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of Karelian Research Centre RAS.* 2014;5:195–199. (In Russ.)

Goromosova S. A., Shapiro A. Z. Main features of the biochemistry of energy metabolism in mussels. Moscow: Light and food industry; 1984. 120 p. (In Russ.)

Gubler E. V., Genkin A. A. Application of criteria of nonparametric statistics for estimating differences between two study groups in biomedical research. Moscow: Meditsina; 1969. 29 p. (In Russ.)

Hochachka P., Somero G. N. Biochemical adaptation strategy. Moscow: Mir; 1988. 586 p. (In Russ.)

Isidorov V. A. Introduction to the course of chemical ecotoxicology. A tutorial. St. Petersburg: St. Petersburg Univ. Publ.; 1997. 88 p. (In Russ.)

Kashulin N. A., Lukin A. A., Amundsen P.-A. Fish of Subarctic freshwater system as bioindicators of industrial pollution. Apatity: INEP KSC RAS; 1999. 142 p. (In Russ.)

Katphanova O. A. Synergism and antagonism of the components of essential micronutrients in the treatment of diffuse hair loss. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venerology.* 2019;18(2):225–234. doi: 10.17116/klinderma201918021225 (In Russ.)

Kienle C., Köhler H.-R., Gerhardt A. Behavioural and developmental toxicity of chlorpyrifos and nickel chloride to zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. *Eco-toxicol. Environ. Safety.* 2009;72:1740–1747.

Krüger M., Meyerdierks A., Glockner F. O., Amann R., Widdel F., Kube M., Reinhardt R., Kahnt J., Böcher R., Thauer R. K., Shima S. A conspicuous nickel protein in microbial mats that oxidize methane anaerobically. *Nature.* 2003;426(6968):878–881. doi: 10.1038/nature02207

Kovekovdova L. T. Microelements in marine fishing objects of the Russian Far East: Summary of DSc. (Dr. of Biol.) thesis. Vladivostok; 2011. 40 p. (In Russ.)

Lazarev N. V., Gadaskina I. D. (eds.). Harmful substances in industry. Handbook for chemists, engineers and doctors. 7th, ed., rev. and enlarged. Vol. III. Inorganic and organoelement compounds. Leningrad: Chemistry; 1977. P. 543–554. (In Russ.)

Livingstone D. R., Pipe R. K. Mussel and environmental contaminants: molecular and cellular aspects. *E. Gosling (ed.). The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and culture.* Amsterdam-NY: Elsevier; 1992. P. 425–456.

List of fishery standards: maximum permissible concentrations (MAC) and approximately safe exposure levels (SAEL) of harmful substances for water, water bodies of fishery importance. Moscow: VNIRO; 1999. 304 p. (In Russ.)

Marigómes I., Ireland M. P., Angulo E. Correlation of cadmium shell-weight index with environmental stress indicators at the cellular and organismic levels in *Littorina littorea*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1990;67(2):170–176. doi: 10.3354/meps067171

Millward G. E., Kadam S., Jha A. N. Tissue-specific assimilation, depuration and toxicity of nickel in *Mytilus edulis*. *Environ. Poll.* 2012;162:406–412. doi: 10.1016/j.envpol.2011.11.034

Moiseenko T. I. Aquatic ecotoxicology: Theoretical and applied aspects. Moscow: Nauka; 2009. 400 p. (In Russ.)

Moore M. N. Autophagy as second level protective process in conferring resistance to environmentally induced oxidative stress. *Autophagy*. 2008;4(2):254–256. doi: 10.4161/auto.5528

Moore M. N., Viarengo A., Donkin P., Hawkins A. J. Autophagic and lysosomal reactions to stress in the hepatopancreas of blue mussels. *Aquat. Toxicol.* 2007;84:80–91. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.06.007

Naumov A. D. Clams of the White Sea ecological and faunistic analysis. St. Petersburg: ZIN RAN; 2006. 367 p. (In Russ.)

Naumov D. G. Hierarchical classification of glycoside hydrolases. *Biokhimiya = Biochemistry*. 2011;76(6):764–780. (In Russ.)

Naz H., Islam A., Waheed A., Sly W. S., Ahmad F., Hassan M. I. Human β -glucuronidase: structure, function, and application in enzyme replacement therapy. *Rejuvenation Res.* 2013;16(5):352–363. doi: 10.1089/rej.2013.1407

Nemova N. N. Biochemical effects of mercury accumulation in fish. Moscow: Nauka; 2005. 165 p. (In Russ.)

Nemova N. N., Vysotskaya R. U. Biochemical indication of fish state. Moscow: Nauka; 2004. 216 p. (In Russ.)

Pokrovskii A. A., Kravchenko L. V., Tutelyan V. A. Study of the activity of lysosomal enzymes under the action of aflatoxin and mitomycin C. *Biokhimiya = Biochemistry*. 1971;36(4):690–696. (In Russ.)

Sukhotin A. A., Regel' K. V. Seasonal changes in the biochemical composition of mussel tissues as food for waterfowl. *Reporting scientific session on the results of work in 2009: Abstracts*. St. Petersburg: ZIN RAN; 2010. P. 32–33. (In Russ.)

Terent'ev P. M., Zubova E. M., Kashulin N. A., Koroleva I. M. Patterns of heavy metals accumulation in fish in lakes of the Fennoscandian Green Belt (in the Murmansk Region). *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of Karelian Research Centre RAS*. 2019;5:39–55. doi: 10.17076/eco1083 (In Russ.)

Titov A. F., Talanova V. V. Plant resistance and phytohormones. Petrozavodsk: KarRC RAS; 2009. 206 p. (In Russ.)

Vysotskaya R. U., Nemova N. N. Fish lysosomes and lysosomal enzymes. Moscow: Nauka; 2008. 284 p. (In Russ.)

Vysotskaya R. U., Bakhmet I. N., Murzina S. A. The activity of lysosomal enzymes in organs of the White Sea mussel *Mytilus edulis* L. under crude oil impact in different salinity conditions. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of Karelian Research Centre RAS*. 2022(8):50–64. doi: 10.17076/eco1719 (In Russ.)

Winchester B. Lysosomal metabolism of glycoproteins. *Glycobiol.* 2005;15(6):1R–15R. doi: 10.1093/glycob/cwi041

Zaid A., Mohammad F., Fariduddin Q. Plant growth regulators improve growth, photosynthesis, mineral nutrient and antioxidant system under cadmium stress in menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2020;26(1):25–39.

Zheng G. H., Liu C. M., Sun J. M., Feng Z. J., Cheng C. Nickel-induced oxidative stress and apoptosis in *Carassius auratus* liver by JNK pathway. *Aquat. Toxicol.* 2014;147:105–111.

Поступила в редакцию / received: 30.10.2023; принята к публикации / accepted: 13.11.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Высоцкая Римма Ульяновна

д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник

e-mail: vysotskayar@gmail.com

Буэй Елизавета Андреевна

младший научный сотрудник

e-mail: elizaveta.vdovichenko@gmail.com

Бахмет Игорь Николаевич

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: igor.bakhmet@gmail.com

Мурзина Светлана Николаевна

д-р биол. наук, заведующая лабораторией экологической биохимии

e-mail: murzina.svetlana@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Vysotskaya, Rimma

Dr. Sci. (Biol.), Professor, Leading Researcher

Buoy, Elizaveta

Junior Researcher

Bakhmet, Igor

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Murzina, Svetlana

Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory

УДК 639.3.043.2

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ФЛАВОМИЦИН 80» ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ В СИСТЕМЕ ЗАМКНУТОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

С. В. Матросова^{1*}, Н. А. Сидорова¹, Т. Ю. Кучко¹, И. В. Каменев¹,
Г. Д. Преображенский², Е. В. Празднова³

¹ Петрозаводский государственный университет (просп. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *matrosovasv@ya.ru

² Представительство ООО «Хювефарма» (Болгария) в г. Москве (4-й Рощинский пр-д, 19, МО Даниловский, Москва, Россия, 115191)

³ Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского Южного федерального университета (просп. Стачки, 194/1, Ростов-на-Дону, Россия, 344090)

Приведены результаты оценки эффективности применения препарата «Флавомицин 80» в кормах для радужной форели породы камлоопс при выращивании в установке с системой замкнутого водоснабжения. Показано, что данная кормовая добавка приводит к улучшению рыбоводно-биологических показателей у годовиков форели и к снижению концентрации в кишечнике рыб бактерий группы кишечной палочки, *Proteus* и *Mycota*. Применение препарата в дозировке 44 мг/кг способствовало снижению интенсивности поражения форели возбудителями бактериозов различной этиологии. Доказан положительный бактериостатический эффект кормовой добавки «Флавомицин 80» на развитие условно-патогенной микрофлоры кишечника рыб.

Ключевые слова: Флавомицин 80; флавофосфолипид; радужная форель; кормовая добавка; микрофлора кишечника, энтеробактерии

Для цитирования: Матросова С. В., Сидорова Н. А., Кучко Т. Ю., Каменев И. В., Преображенский Г. Д., Празднова Е. В. Опыт применения кормовой добавки «Флавомицин 80» при выращивании радужной форели в системе замкнутого водоснабжения // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 73–82. doi: 10.17076/eb1803

S. V. Matrosova^{1*}, N. A. Sidorova¹, T. Yu. Kuchko¹, I. V. Kamenev¹, G. D. Preobrazhensky², E. V. Prazdnova³. EXPERIENCE OF USING THE FEED ADDITIVE FLAVOMYCIN 80 IN REARING RAINBOW TROUT IN A RECYCLING WATER SYSTEM (RVC)

¹ Petrozavodsk State University (33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *matrosovasv@ya.ru

² Moscow Office of the LLC "Huvefarma", Bulgaria (4th Roshchinsky Ave., 19, Danilovsky Municipal District, 115191 Moscow, Russia)

³ D. I. Ivanovsky Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University (194/1 Prospekt Stachki Ave., 344090 Rostov-on-Don, Russia)

The article presents the results of evaluation of the efficacy of Flavomycin 80 drug added to feed for Kamloops breed rainbow trout reared in a plant with a closed water supply system. It is shown that this feed additive augments the viability of trout yearlings and improves the breeding and biological indicators of the fish. Supplementation of the drug at a dosage of 44 mg/kg reduced the damage to trout caused by bacterial pathogens of various etiologies. The feed additive Flavomycin 80 is proven to have a positive bacteriostatic effect of on the development of opportunistic pathogenic gut microbiota in fish.

Keywords: Flavomycin 80; flavophospholipol; rainbow trout; feed additive; gut microbiota; enterobacteria

For citation: Matrosova S. V., Sidorova N. A., Kuchko T. Yu., Kamenev I. V., Preobrazhensky G. D., Prazdnova E. V. Experience of using the feed additive Flavomycin 80 in rearing rainbow trout in a recycling water system (RVC). *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 73–82. doi: 10.17076/eb1803

Введение

Форелеводство является одним из ведущих направлений агропромышленного комплекса Республики Карелия, которое интенсивно развивается с применением новых технологий по выращиванию рыбы в установках с замкнутым водоснабжением (УЗВ) [Аквакультура...].

Для оптимизации технологии выращивания рыб в промышленных масштабах основной акцент делается на качестве кормления, что предполагает разработку новых рецептур комбикормов с биодобавками различного функционального значения. В качестве биодобавок производители рыбных кормов активно используют разнообразные витаминно-минеральные премиксы (П 110-1 форель, ПФ-1М для молоди и др.) и белково-витаминные добавки на основе гидролизата дрожжей (эпирин, меприн, Левабон Румен и др.), содержащие в своем составе необходимые витамины и микроэлементы для нормального развития организма рыб [Рыжков и др., 2020]. Широкое применение в производстве комбикормов получили про- и пребиотики (Ветом 1 на основе молочнокислых бактерий (LAB), виды *Bacillus*, виды *Vibrio*, виды *Pseudomonas*, а также глюканы и другие полисахаридные соединения), которые способствуют поддержанию разнообразия полезной кишечной микрофлоры и улучшению работы пищеварительной системы рыб [Sidorova et al., 2021]. Активно используются фитобиотики («Сангровит», «Фитобиотикс», «Дигестаром П.Е.П» и другие), способные подавлять развитие возбудителей бактериальных инфекций в желудочно-кишечном тракте рыб.

Особый интерес в рыбоводстве вызывают природные антибактериальные препараты, которые не только подавляют патогенную и условно-патогенную микрофлору, но и не приводят к развитию микробной резистентности к

антибиотикам в процессе применения [Черкашина и др., 2011]. Одним из таких препаратов может стать «Флавомицин 80», содержащий флавофосфолипол, который вместе с бамбермицинами входит в группу структурно сходных фосфогликолипидных антибиотиков, продуцируемых несколькими видами *Streptomyces*, включая *S. bambergiensis*, *S. ghanaensis*, *S. geysiriensis* и *S. ederensis* [Welzel, 2005]. Группа фосфогликолипидных антибиотиков является разрешенной добавкой к кормам в ЕС (регистрационный № E 712) [Commission...] и в США [Eichhorn, Aga, 2005].

В России флавофосфолипол был разрешен к применению в качестве кормовой добавки в 2016 году для увеличения продуктивности животных и известен под торговым наименованием «Флавомицин 80». Препарат содержит активный ингредиент флавофосфолипол в количестве 80 мг/г и вспомогательные компоненты в виде карбоната кальция и диоксида кремния. В работах А. Kissel [1998], Р. Butaye с соавторами [2003] и М. Pfaller [2006] сообщается, что флавофосфолипол может полностью подавлять грампозитивных возбудителей инфекций, оказывать избирательное бактериостатическое действие на представителей негативной бактериофлоры, таких как *Salmonella* spp., *Clostridium* spp. *Campylobacter* spp., и не угнетать лакто- и бифидобактерий. К положительным свойствам флавофосфолипола относят также отсутствие эмбриотоксических и гепатотоксических свойств, совместимость с другими лекарственными препаратами и кормовыми добавками, низкий уровень абсорбции в органах и тканях.

Положительный опыт использования флавофосфолипола в аквакультуре был получен при экспериментальном кормлении форели на рыбной ферме в Колумбии и выращивании карпов в НИИ кормления животных Сычуань-

ского сельскохозяйственного университета в Китае [He et al., 2010]. В исследовании Сусюй Хэ с соавторами [He et al., 2010] флавофосфолипид использован в комбинации с флорфениколом для оценки воздействия на автохтонную кишечную микробиоту гибридной тилапии. В результате проведенного исследования обнаружено снижение интенсивности развития кишечных бактерий и избирательность действия флавофосфолипида на представителей типа *Fusobacteria*.

Целью настоящего исследования является анализ действия кормовой добавки «Флавомицин 80» на организм годовиков форели, выращиваемых в условиях УЗВ.

Материалы и методы

Состав кормов. Опытный и контрольный образцы корма были изготовлены на предприятии «ПК Русло» (г. Санкт-Петербург) по одинаковой рецептуре, удовлетворяющей все необходимые потребности радужной форели по основным питательным веществам: белок 46–48 %, жир 16–18 %, клетчатка 0,5–1,0 %, зола 6,0–8,0 %, фосфор 1,5–2,0 %, БЭВ (безазотистые экстрактивные вещества) 8,0–10 %, а также витамины С и В, астаксантин и другие физиологически активные добавки. В опытный образец корма дополнительно был добавлен «Флавомицин 80», концентрация которого составила 44 мг/кг. Дозировка препарата подбиралась согласно рекомендациям производителя.

Схема эксперимента и отбор проб. Исследование выполнено на базе научно-исследовательского центра по аквакультуре Петрозаводского государственного университета (НИЦ по аквакультуре ПетрГУ) в 2022 году.

Для постановки аквариального эксперимента использованы годовики форели породы камлоопс, предварительно содержавшиеся в одном бассейне линии УЗВ в течение 8 недель. Рыб кормили два раза в сутки продукционным кормом Сорренс, суточная норма которого составила 2,0 % от массы тела рыб. По истечении 8 недель 10 особей форели отловили для анализа состояния внутренних органов. Еще 120 рыб рассадил в два одинаковых бассейна объемом 2,7 м³ линии УЗВ по 60 особей в каждый.

Для эксперимента были отобраны особи форели со средней массой 375 ± 12 г и длиной 32,6 ± 0,51 см, внешне здоровые, без каких-либо повреждений на коже, с ненарушенным чешуйчатым покровом, покрытым слизью в пределах нормы, жабры у всех особей имели ярко-красный цвет. Перевод рыб на экспериментальный корм проводили в течение 7 суток, смешивая

его с продукционным кормом Сорренс, которым кормили рыб до начала опыта: в первые двое суток – в соотношении 2:1, третьи и четвертые сутки – 1:1, пятые и шестые сутки – 1:2, на седьмые сутки – 1:4. Начиная с 8 дня форель в опытной и контрольной группах получала полностью экспериментальный корм (два раза в сутки, из расчета 2,0 % от массы тела рыб). Продолжительность эксперимента составила 60 суток. На протяжении всего эксперимента условия содержания рыб соответствовали оптимальным требованиям для форели: температура воды 16,0–16,5 °С, содержание растворенного в воде кислорода 10,9–11,5 мг/л, уровень pH 6,8–7,2. Контроль за гидрохимическими параметрами осуществляли ежедневно с использованием капельных тест-систем НИЛПА и термооксиметра Hanna HI9142.

Через каждые две недели эксперимента у всех особей форели контрольной и опытной групп определяли индивидуальную массу тела с использованием объемного метода без применения анестезии (рис. 1). По завершении эксперимента из каждого бассейна случайным образом было отловлено по 10 особей, которых вводили в глубокий наркоз с помощью гвоздичного масла высокой концентрации, после чего у рыб проводили оценку морфометрических показателей, анализ внутренних органов на наличие патологий и забор содержимого кишечника для микробиологического анализа. Все ихтиологические исследования выполнены по стандартным методикам [Правдин, 1966; Рыжков и др., 2013].

Качественное и количественное определение микрофлоры кишечника исследуемых групп форели выполняли согласно [ГОСТ 10444.11-89; ГОСТ 10444.12-88; ГОСТ 30518-97/ГОСТ Р 50474-93] и рекомендациям по особенностям изучения представителей симбионтного пищеварения у гидробионтов [Шивокене, 1989]. Для этого у рыбы в стерильных условиях отбирали содержимое кишечника, гомогенизировали и помещали в среду Мюллера – Хитона. В качестве исследуемых групп бактерий учитывали общее количество БГКП (бактерии группы кишечной палочки), полноценных в ферментированном отношении (в %); присутствие гемолитических БГКП (в %); условно-патогенных бактерий (в %); ассоциаций грамотрицательных бактерий и плазмакоагулирующего стафилококка; бактерий рода *Proteus* spp.; микроскопических грибов и ассоциаций аэробных и анаэробных бактерий.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью программы Statistica 6.0. При сравнении состава исследуемых групп энтеробактерий в опыте и контроле

применяли непараметрический U-критерий Манна – Уитни при $p < 0,01$. Для работы с электронной базой данных использовали офисный пакет приложений MS Excel с использованием базовых функций.

Результаты

В ходе эксперимента форель обеих групп активно потребляла корм. По результатам промежуточных взвешиваний наблюдалась положительная динамика увеличения массы рыб (рис. 1).

Показатели относительных приростов массы тела рыб и значения кормовых коэффициентов за 60 суток эксперимента в обеих исследуемых группах достоверно не отличались ($p \geq 0,5$). При этом для своего возраста годовики форели имели достаточно высокие значения среднесуточных приростов массы тела: 8,4 г в опытной группе и 9,3 г в контрольной, что свидетельствует

об эффективной конверсии корма в организме рыб. Существенных различий в смертности годовиков форели, связанной с кормлением или содержанием в условиях УЗВ, также не зафиксировано. Однако в опытной группе рыб, где применяли кормовую добавку «Флавомицин 80», в ходе эксперимента выживаемость рыб была выше, чем в контрольной группе (табл. 1).

Клинический осмотр рыб после эксперимента при общем внешнем благополучии выявил у годовиков форели из опытной и контрольной групп наличие признаков гиперемии на нижней челюсти и у основания грудных и брюшных плавников, что может быть проявлением бактериального заражения и нередко встречается в системах с замкнутым водоснабжением (рис. 2). Однако частота проявления воспалительных процессов у рыб из опытной группы, получавших корм с препаратом «Флавомицин 80», была значительно ниже по сравнению

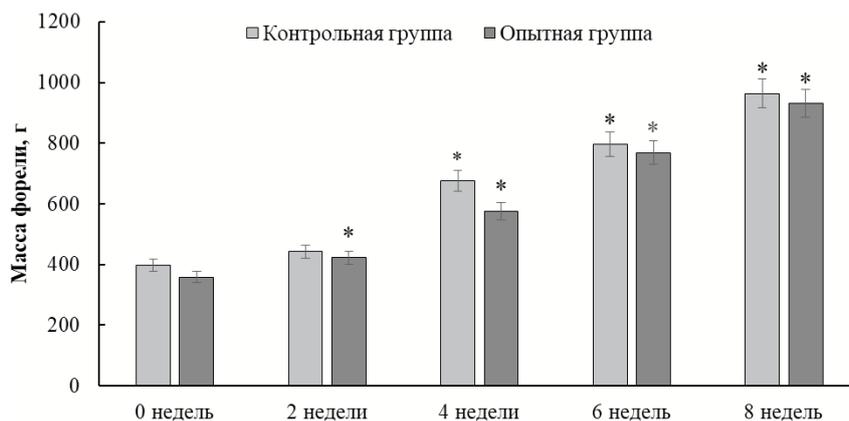


Рис. 1. Динамика массы форели на протяжении эксперимента.

* Статистически значимые отличия от первого взвешивания внутри группы $p < 0,01$

Fig. 1. Trout mass dynamics during the experiment.

* Statistically significant differences from the first weighing within the group $p < 0.01$

Таблица 1. Рыбоводно-биологические показатели форели после 60 суток эксперимента

Table 1. Fish-breeding and biological indicators of trout after 60 days of experiment

Показатель Index	Опытная группа Test group	Контрольная группа Control group
Количество рыб в выборке, шт. Number of fish in the sample, pcs.	60	60
Средняя живая масса одной рыбы в начале выращивания, г Average live weight of one fish at the beginning of cultivation, g	366,5 + 43,4	387,7 + 16,2
Средняя живая масса одной рыбы в конце выращивания, г Average live weight of one fish at the end of cultivation, g	870,4 + 69,1	945,6 + 51,8
Абсолютный прирост массы тела одной рыбы за период выращивания, г Absolute body weight gain of one fish during the growing period, g	503,8 + 48,4	557,5 + 25,7
Относительный прирост массы тела одной рыбы за период выращивания, % Relative body weight gain of one fish during the growing period, %	137,5	143,8
Отход, шт. Waste, pcs	3 (5 %)	5 (8 %)
Кормовой коэффициент Feed conversion ratio	0,96	0,95

с контрольной группой: 25 и 41 % соответственно, что может быть связано с антимикробными свойствами препарата.

В результате патоморфологического осмотра всех годовиков форели, исследованных как до начала эксперимента, так и после его окончания, отмечено отсутствие патологий жабр, сердца, почек, желудка и пилорических при-

датков. Все они имели нормальные размеры, структуру и цвет для данной возрастной группы рыб. В то же время выявлены изменения в печени, проявляющиеся анемичностью органа и наличием геморрагий, застой желчи в желчном пузыре, изменение структуры селезенки и воспалительные процессы заднего отдела кишечника (рис. 3).

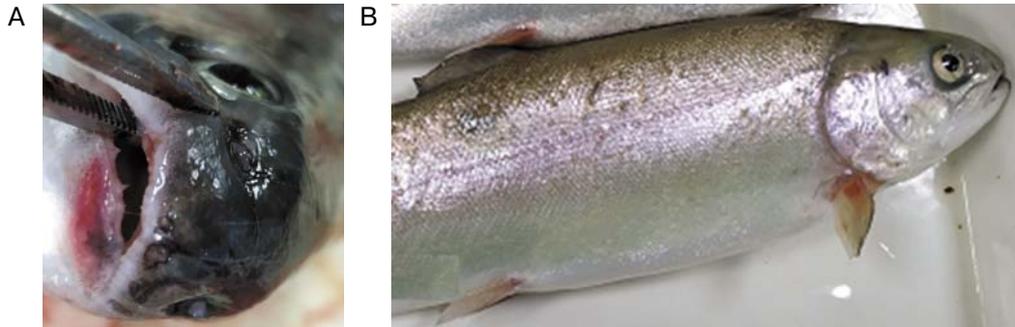


Рис. 2. Форель с признаками гиперемии: А – на нижней челюсти; В – у основания грудных и брюшных плавников

Fig. 2. Trout with signs of hyperemia: A – on the lower jaw; B – at the base of the pectoral and ventral fins

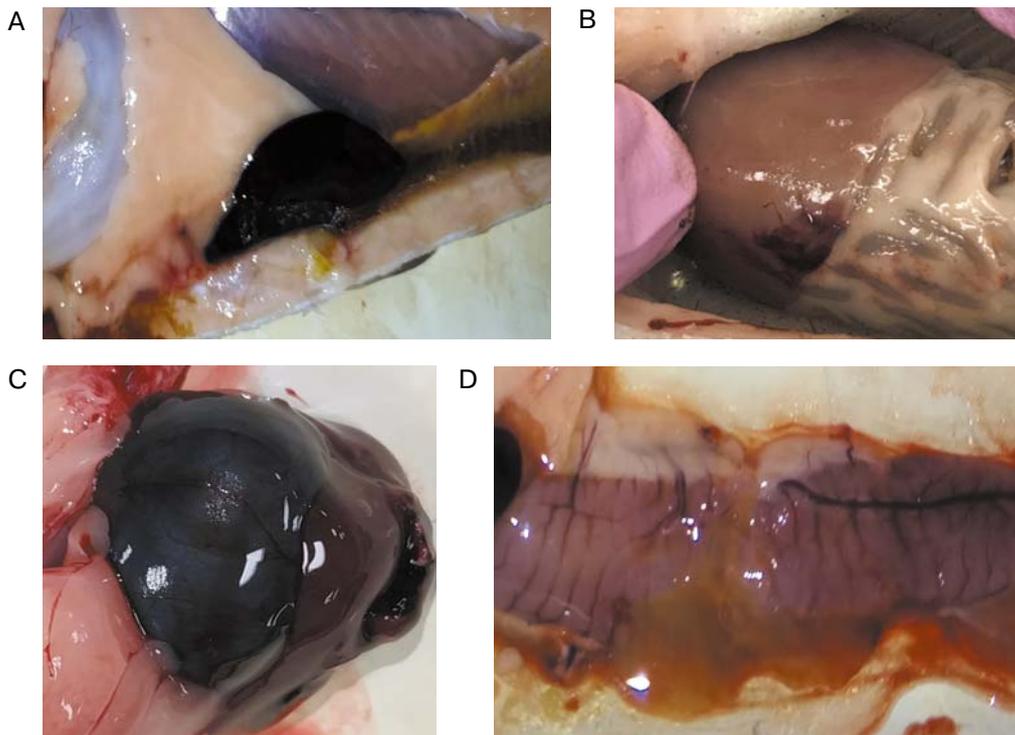


Рис. 3. Патологии внутренних органов форели: А – воспалительные процессы селезенки: увеличение размеров и рыхлая структура; В – воспалительные процессы печени: анемия и геморрагии; С – воспаление желчного пузыря (застой желчи); D – воспаление заднего отдела кишечника

Fig. 3. Pathologies of trout internal organs: A – inflammatory processes of the spleen: increase in size and loose structure; B – inflammatory processes of the liver: anemia and hemorrhages; C – inflammation of the gallbladder (stagnation of bile); D – inflammation of the posterior intestine

Распределение частоты встречаемости вышеуказанных патологий представлено в таблице 2.

Большинство выявленных у годовиков форели патологий внутренних органов (за исключением селезенки) встречается достаточно часто у рыб, выращиваемых с использованием искусственных кормов, и связаны они с нарушениями липидного обмена из-за интенсивного кормления высококалорийными комбикормами [Vapirov et al., 2022]. В связи с этим они не рассматривались как последствие применения флавомицина при выращивании форели в УЗВ. Обращает на себя внимание, что количество геморрагий на печени до эксперимента было больше, чем в конце опыта, а так как в период эксперимента переменным

фактором был только корм, можно предположить, что новая рецептура как в опытной, так и в контрольной группе оказалась более щадящей, что благоприятно отразилось на состоянии печени.

О положительном влиянии препарата «Флавомицин 80» можно говорить в отношении кишечного тракта форели. По окончании эксперимента у рыб опытной группы воспалительные процессы заднего отдела кишечника не выявлены (табл. 2). Это может быть связано со способностью кормовой добавки подавлять рост условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике рыб. Полученные результаты также подтверждаются анализом состава энтеральной микрофлоры кишечника форели через 60 суток эксперимента (рис. 4).

Таблица 2. Количество патологий внутренних органов (n = 10)

Table 2. Number of pathologies of internal organs (n = 10)

Показатель Index	До опыта Before the experiment	Опытная группа Test group	Контрольная группа Control group
Увеличенная селезенка, % Enlarged spleen, %	10	10	10
Анемия печени, % Anemia of liver, %	50	50	55
Геморрагии в печени, % Hemorrhages in liver, %	40	20	15
Застой желчи, % Stagnation of bile, %	0	15	0
Воспаление кишечника, % Inflammation of intestine, %	20	0	10

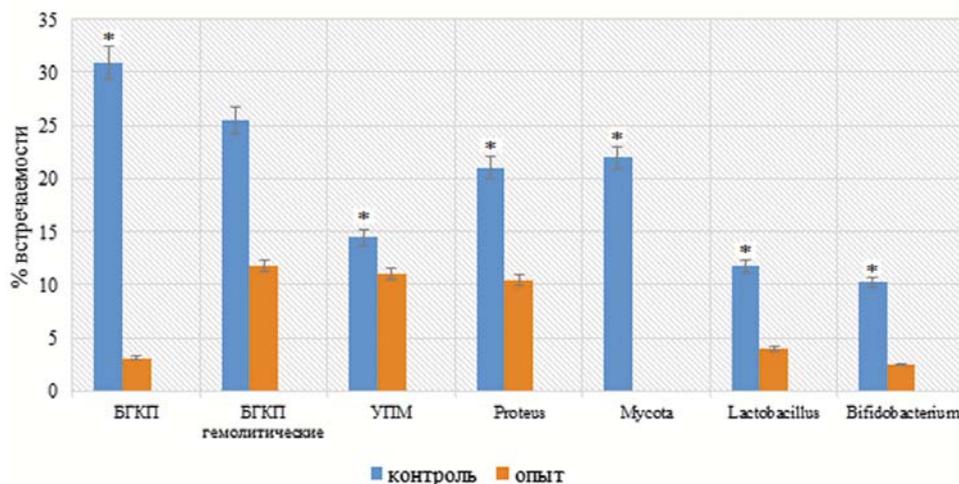


Рис. 4. Состав кишечной микрофлоры рыб после 60 суток эксперимента: БГКП – бактерии группы кишечной палочки, УПМ – условно-патогенные микроорганизмы.

* Различия достоверны при $p < 0,01$

Fig. 4. Composition of intestinal microflora of fish after 60 days of experiment: BECG – bacteria of the Escherichia coli group, CPM – conditionally pathogenic microorganisms.

* $p < 0.01$

Встречаемость энтеробактерий в контрольной группе составила 30,9 %, что оказалось в 9,8 раза выше по сравнению с опытной группой рыб, получавших в составе рациона 44 мг/кг флавомицина. Данное различие было статистически значимо при $p < 0,01$. На фотографиях культурального роста энтеробактерий на дифференциально-диагностической среде Эндо (рис. 5) показаны результаты бактериологического анализа встречаемости энтеробактерий в составе микрофлоры кишечника рыб опытной и контрольной групп.

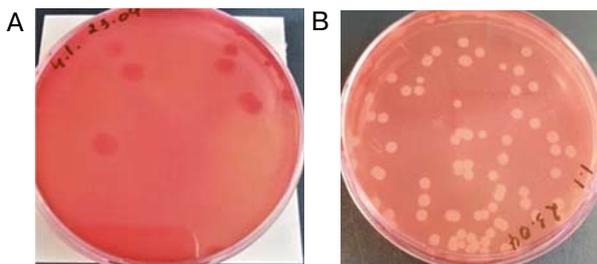


Рис. 5. Культуральный рост энтеробактерий на дифференциально-диагностической среде Эндо в опыте (А) и контроле (Б)

Fig. 5. Cultural growth of enterobacteria on the differential diagnostic environment of Endo in the experiment (A) and control (B)

Количественные показатели гемолитических форм энтеробактерий в составе энтеральной микрофлоры кишечника контрольной группы радужной форели были превышены в 2,2 раза по сравнению с опытной группой, однако полученные значения не являются статистически значимыми ($p = 0,104$). Вероятно, полученный результат связан с неучтенным посторонним фактором, а именно с биологическими особенностями гемолитиков, способных секретировать в окружающую среду экзотоксины, которые могут быть хелаторами для молекул фосфогликолипидных соединений. Согласно результатам исследований В. С. Ostash с соавторами [2022], фосфогликолипиды активно взаимодействуют с различными экзотоксинами бактерий, такими как липополисахариды, токсины типа «А-В», цитолизины и гемолизины. Также они могут участвовать в связывании и транспортировке липополисахаридов через мембрану клетки-хозяина, что способствует инфицированию бактериями. Некоторые экзотоксины, такие как цитолизины, могут взаимодействовать с фосфогликолипидами в мембране клетки-хозяина, что приводит к нарушению ее целостности

и гибели клетки. Несмотря на это, в отношении гемолитических форм энтеробактерий можно констатировать выраженный бактериостатический эффект со стороны исследуемого антибактериального препарата, сопровождающийся торможением роста и размножения данной группы бактерий.

Встречаемость условно-патогенных бактерий в контрольной группе форели составила 14,5 %, а в группе, получавшей с кормом флавомицин, – 11,1 % ($p < 0,01$).

Необходимо отметить, что в результате кормления форели кормом с кормовой добавкой «Флавомицин 80» в два раза сократилась доля гнилостной микрофлоры. Также обнаружено полное подавление развития плесневых грибов, которые присутствовали в составе микрофлоры кишечника форели контрольной группы. Представители молочнокислых бактерий – лактобактерии и бактерии бифидус присутствовали во всех образцах содержимого кишечника и пристеночной микрофлоры, что позволяет констатировать способность препарата в заданных концентрациях (44 мг/кг) поддерживать количество пробиотических форм бактерий на оптимальном для усвоения корма уровне.

Заключение

Полученные в ходе эксперимента результаты позволяют говорить о том, что применение кормовой добавки «Флавомицин 80» в рационе радужной форели в концентрации 44 мг/кг препятствует развитию возбудителей бактериозов и позволяет избирательно контролировать патогенную и условно-патогенную микрофлору в желудочно-кишечном тракте рыб.

В опытных группах годовиков форели «Флавомицин 80» оказал явный бактериостатический эффект на развитие условно-патогенной микрофлоры.

Флавофосфолипид, входящий в состав кормовой добавки, разрушает стенки клеток грамположительных бактерий и не оказывает тормозящего действия по отношению к пробиотическим микроорганизмам, важным для пищеварения и здоровья рыб, таким как лактобактерии и бактерии бифидус, поддерживая их на оптимальном для усвоения корма уровне [Pfaller, 2006].

Снижение численности молочнокислых бактерий в опыте в 3 и 4 раза по сравнению с контрольными значениями может быть связано с субстратными предпочтениями лакто- и бифидобактерий, которые во многом зависят от химического состава корма, используемого

в эксперименте. Несмотря на субстратное ограничение и действие антибактериального препарата, лакто- и бифидобактерии сохранились в составе интестинальной микрофлоры кишечника в количестве, достаточном для дальнейшего восстановления популяции данной группы микроорганизмов с последующим выполнением хелперной функции.

Таким образом, проведенные исследования по практическому применению «Флавомицина 80» при кормлении радужной форели подтверждают, что его включение в рацион приводит к изменению динамики численности микрофлоры кишечника рыб и играет важную роль в улучшении рыбоводно-биологических показателей, конверсии корма и устойчивости к возбудителям бактериальных заболеваний радужной форели, выращиваемой в УЗВ.

Литература

Аквакультура РФ – итоги I квартала 2023 года: объемы, география, динамика [Электронный ресурс]. URL: <https://xn--90acg2bbi1ff.xn--p1ai/news/67-deals/463-fishgov> (дата обращения: 05.08.2023).

ГОСТ 10444.11-89. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. М.: Стандартинформ, 2010. 294 с.

ГОСТ 10444.12-88. Продукты пищевые. Методы определения дрожжей и плесневых грибов [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200021096> (дата обращения: 05.08.2023).

ГОСТ 30518-97/ГОСТ Р 50474-93. Группа Н09. Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). МКС 07.100.30. ОКСТУ 9109. Дата введения 1994-01-01.

Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1966. 376 с.

Рыжков Л. П., Дзюбук И. М., Кучко Т. Ю. Ихтиологические исследования на водоемах. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. 72 с.

Рыжков Л. П., Кучко Т. Ю., Дзюбук И. М. Основы рыбоводства. СПб.: Лань, 2020. 528 с.

Черкашина Н. В., Дроздова Л. И., Махортов В. Л., Васильев П. Г., Щербakov М. Г., Демина Л. В., Ильязов А. А., Сирик М. С. Анализ современного состояния проблемы использования антибиотиков в качестве кормовой добавки // Аграрный вестник Урала. 2011. № 3(82). С. 39–42.

Шивокене Я. С. Симбионтное пищеварение у гидробионтов и насекомых. Вильнюс: Мокслас, 1989. 221 с.

Butaye P., Devriese L. A., Haesebrouck F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well-known antibiotics on Gram-positive bacteria // Clin. Microbiol. Rev. 2003. Vol. 16. P. 175–188. doi: 10.1128/CMR.16.2.175-188.2003

Commission of the European Communities. Update (Situation as of 30 April 2004) of the List of the Authorized Additives in Feeding Stuffs Published in Application of Article 9t.b of Council Directive 70/524/EEC Concerning Additives in Feeding Stuffs.

Eichhorn P., Aga D. S. Characterization of moenomycin antibiotics from medicated chicken feed by ion-trap mass spectrometry with electrospray ionization // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005. No. 19. P. 2179–2186. doi: 10.1002/rcm.2044

He S., Zhou Zh., Cao Y., Liu Y. Effects of the antibiotic growth promoters flavomycin and florfenicol on the autochthonous intestinal microbiota of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) // Arch. Microbiol. 2010. No. 192(12). P. 985–994. doi: 10.1007/s00203-010-0627-z

Kissel A. In vitro efficacy of salinomycin sodium and flavophospholipol against bacterial isolates from the gastrointestinal tract of different target species // Hoechst Roussel Vet. 1998. Vol. 1. P. 1–17.

Ostas B., Makitrynsky R., Ostas R., Yushchuk O., Fedorenko V. Structural diversity, bioactivity, and biosynthesis of phosphoglycolipid family antibiotics: recent advances // BBA Advances. 2022. No. 17(2). P. 106–125. doi: 10.1016/j.bbadva.2022.100065

Pfaller M. A. Flavophospholipol use in animals: Positive implications for antimicrobial resistance based on its microbiologic properties // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2006. Vol. 56. P. 115–121. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2006.03.014

Sidorova N. A., Kuchko T. Yu., Matrosova S. V., Vasilieva A. V. Influence of *Lactobacillus Brevis* 2k. Cv Lactic acid bacteria strain as part of Biomar feed on physiological condition of juvenile *Parasalmo mykiss* trout // Annals of the Romanian Society for Cell Biology. 2021. Vol. 25, iss. 4. P. 17232–1724.

Vapirov V., Matrosova S., Kuchko T. Nutrient composition of feeds as a polyvalent factor determining status characteristics of industrially raised rainbow trout // AIP Conference Proceedings. 2022. Vol. 2636(1). Art. 020011. doi: 10.1063/5.0105343

Welzel P. Syntheses around the transglycosylation step in peptidoglycan biosynthesis // Chem. Rev. 2005. No. 105. P. 4610–4660. doi: 10.1021/cr040634e

References

Aquaculture of the Russian Federation – results of the first quarter of 2023: volumes, geography, dynamics. URL: <https://xn--90acg2bbi1ff.xn--p1ai/news/67-deals/463-fishgov> (accessed: 05.08.2023). (In Russ.)

Butaye P., Devriese L. A., Haesebrouck F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well-known antibiotics on Gram-positive bacteria. Clin. Microbiol. Rev. 2003;16:175–188. doi: 10.1128/CMR.16.2.175-188.2003

Cherkashina N. V., Drozdova L. I., Makhortov V. L., Vasil'ev P. G., Shcherbakov M. G., Demina L. V., Il'yazov A. A., Sirik M. S. Analysis of the current state of the problem of the antibiotics use as a feed additive. Agrarian Bulletin of the Urals. 2011;3(82):39–42. (In Russ.)

Commission of the European Communities. Update (Situation as of 30 April 2004) of the List of the Authorized Additives in Feeding Stuffs Published in Application of Article 9t.b of Council Directive 70/524/EEC Concerning Additives in Feeding Stuffs.

Eichhorn P., Aga D. S. Characterization of moenomycin antibiotics from medicated chicken feed by ion-trap mass spectrometry with electrospray ionization. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2005;19:2179–2186. doi: 10.1002/rcm.2044

GOST 10444.11-89. Food products. Methods for determination of the lactic acid bacteria. Moscow: Standartinform; 2010. 294 p. (In Russ.)

GOST 10444.12-88. Food products. Method for determination of yeast and mould. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200021096> (accessed: 05.08.2023). (In Russ.)

GOST 30518-97/GOST R 50474-93 Group N09. Interstate standard Food products. Methods for detection and quantity determination of coliformes. MKS 07.100.30 OKSTU 9109. Date of introduction 1994-01-01. (In Russ.)

He S., Zhou Zh., Cao Y., Liu Y. Effects of the antibiotic growth promoters flavomycin and florfenicol on the autochthonous intestinal microbiota of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂). *Arch. Microbiol.* 2010;192(12):985–994. doi: 10.1007/s00203-010-0627-z

Kissel A. In vitro efficacy of salinomycin sodium and flavophospholipol against bacterial isolates from the gastrointestinal tract of different target species. *Hoechst Roussel Vet.* 1998;1:1–17.

Ostash B., Makitrynsky R., Ostash R., Yushchuk O., Fedorenko V. Structural diversity, bioactivity, and

biosynthesis of phosphoglycolipid family antibiotics: recent advances. *BBA advances.* 2022;17(2):106–125. doi: 10.1016/j.bbadv.2022.100065

Pfaller M. A. Flavophospholipol use in animals: Positive implications for antimicrobial resistance based on its microbiologic properties. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2006;56:115–121. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2006.03.014

Pravdin I. F. Guide to the study of fish. Moscow: Food industry; 1966. 376 p. (In Russ.)

Ryzhkov L. P., Dzyubuk I. M., Kucko T. Yu. Ichthyological studies on reservoirs. Petrozavodsk: PetrSU; 2013. 72 p. (In Russ.)

Ryzhkov L. P., Kucko T. Yu., Dzyubuk I. M. Fundamentals of fish farming. St. Petersburg: Lan'; 2020. 528 p. (In Russ.)

Shivokene Ya. S. Symbiont digestion in hydrobionts and insects. Vilnius: Mokslas; 1989. 221 p. (In Russ.)

Sidorova N. A., Kuchko T. Yu., Matrosova S. V., Vasilieva A. V. Influence of *Lactobacillus Brevis* 2k. Cv Lactic acid bacteria strain as part of Biomar feed on physiological condition of juvenile *Parasalmo mykiss* trout. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology.* 2021;25(4):17232–1724.

Vapirov V., Matrosova S., Kuchko T. Nutrient composition of feeds as a polyvalent factor determining status characteristics of industrially raised rainbow trout. *AIP Conference Proceedings.* 2022;2636(1):020011. doi: 10.1063/5.0105343

Welzel P. Syntheses around the transglycosylation step in peptidoglycan biosynthesis. *Chem. Rev.* 2005;105:4610–4660. doi: 10.1021/cr040634e

Поступила в редакцию / received: 07.08.2023; принята к публикации / accepted: 03.11.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Матросова Светлана Владимировна

директор НИЦ по аквакультуре Института биологии, экологии и агротехнологий

e-mail: matrosovasv@yandex.ru

Кучко Тамара Юрьевна

канд. биол. наук, доцент, директор Института биологии, экологии и агротехнологий

e-mail: t_kuchko70@mail.ru; kuchko@petrsu.ru

Сидорова Наталья Анатольевна

канд. биол. наук, доцент кафедры зоологии и экологии Института биологии, экологии и агротехнологий

e-mail: fagafon@yandex.ru

Каменев Иван Владимирович

аспирант кафедры зоотехнии, рыбоводства, агрономии и землеустройства Института биологии, экологии и агротехнологий

e-mail: vanya.kamenev.97@mail.ru

CONTRIBUTORS:

Matrosova, Svetlana

Director of Aquaculture Research Center, Institute of Biology, Ecology and Agricultural Technologies

Kuchko, Tamara

Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Director of the Institute of Biology, Ecology and Agricultural Technologies

Sidorova, Natal'ya

Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Zoology and Ecology, Institute of Biology, Ecology and Agricultural Technologies

Kamenev, Ivan

Doctoral Student, Department of Animal Breeding, Fishery and Merchandizing, Institute of Biology, Ecology and Agricultural Technologies

Преображенский Георгий Дмитриевич

продакт-менеджер по ветеринарным продуктам

e-mail: georgiy.preobrazhenskiy@huvapharma.com

Празднова Евгения Валерьевна

д-р биол. наук, заведующая лабораторией молекулярной
генетики микробных консорциумов

e-mail: prazdnova@sfedu.ru

Preobrazhenskii, Georgii

Veterinary Product Manager

Prazdnova, Evgeniya

Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of Molecular Genetics
of Microbial Consortia

УДК 57.02; 576.31; 576.367; 616-091.818; 619

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПЕСЦОВ, *VULPES LAGOPUS* (LINNAEUS, 1758), POST-MORTEM

М. А. Перевозчикова*, И. А. Домский, А. А. Сергеев,
Ю. А. Березина, О. Ю. Беспярых, А. С. Сюткина

Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства
и звероводства имени профессора Б. М. Житкова (ул. Преображенская, 79, Киров,
Россия, 610000), *mperevozchikova@mail.ru

Представлены результаты экспериментальных исследований изменений гематологических параметров у песцов (*Vulpes lagopus* (Linnaeus, 1758), происходящих в первые сутки после смерти животных. Образцы крови вуалевых песцов (самцы в возрасте 7 месяцев, $n = 35$) были взяты при жизни и постмортально спустя 1, 3, 6, 12 и 24 часа после убоя. Общепринятыми методами определяли общее количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, среднее содержание и концентрацию гемоглобина в эритроците, относительную ширину распределения эритроцитов по объему, средний объем тромбоцитов, относительную ширину распределения тромбоцитов по объему, тромбоциты, общее количество тромбоцитов, общее количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, а также параметры эритроцитов (площадь, периметр, диаметр, толщину, индекс сферичности). Показано, что параметры крови, полученной при жизни и в первые 3 часа после смерти, идентичны и не утрачивают значения для диагностики физиологического состояния животного, выявления патологий крови, установления влияния факторов окружающей среды. В постмортальной крови через 6 часов достоверно ($p < 0,05$) снижается количество сегментоядерных нейтрофилов и за счет этого происходит сдвиг в лейкоцитарной формуле в сторону лимфоцитов. Количество палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов не изменяется. Через 6 часов после смерти встречаются единичные разрушенные нейтрофилы, а через 12 часов происходит их достоверное ($p < 0,05$) снижение. Установлена идентичность параметров эритроцитов прижизненной и постмортальной крови песцов в первые 3 часа после смерти. Через 6 часов отмечены достоверные ($p < 0,05$) отличия между прижизненными и постмортальными образцами в площади, периметре, диаметре и индексе сферичности эритроцита. При определении количества эритроцитов на одно поле зрения микроскопа и изучении параметров этих клеток в прижизненных и постмортальных образцах крови установлено, что в мазках из постмортальной крови сложнее найти пригодные поля зрения по причине их худшего качества для идентификации и морфометрии по сравнению с образцами от живых животных. Таким образом, представляется необходимым исследовать большее количество полей зрения для получения достоверных результатов. Полученные данные свидетельствуют, что периферическую постмортальную кровь можно использовать как для изучения прижизненных показателей, так и для оценки постмортального интервала у млекопитающих.

Ключевые слова: кровь; псовые; постморальные изменения; эритроциты; гематологические параметры

Для цитирования: Перевозчикова М. А., Домский И. А., Сергеев А. А., Березина Ю. А., Беспятых О. Ю., Сюткина А. С. Исследование гематологических параметров у песцов, *Vulpes lagopus* (Linnaeus, 1758), post-mortem // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 83–96. doi: 10.17076/eb1743

Финансирование. Исследования выполнены в 2021 году в соответствии с программой фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.), утвержденной распоряжением Правительства РФ от 31 декабря 2020 г. № 3684-р, составляющей основу государственного задания ВНИИОЗ, тема «Разработка технологий содержания, кормления, разведения, профилактики и лечения заболеваний клеточных пушных зверей и охотничьих животных, содержащихся в неволе, полувольных условиях или в искусственно созданной среде обитания» (FZSS-2019-0002).

M. A. Perevozchikova*, I. A. Domskiy, A. A. Sergeev, Yu. A. Berezina, O. Yu. Bespyatykh, A. S. Syutkina. A STUDY OF POST-MORTEM HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF ARCTIC FOXES, *VULPES LAGOPUS* (LINNAEUS, 1758)

*Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming (79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia), *mperevozchikova@mail.ru*

The results of experimental studies of changes in blood hematological parameters of Arctic foxes (*Vulpes lagopus* (Linnaeus, 1758)) occurring in the first 24 hours after death are presented. In vivo blood samples were taken from 7-months-old male Arctic foxes (veil color) (n = 35), and then postmortem blood samples were taken from the bodies of the animals 1, 3, 6, 12 and 24 hours after death. In each blood sample, the total red blood cell count, hemoglobin concentration, hematocrit, mean red blood cell volume, mean hemoglobin content and concentration per red blood cell, red blood cell distribution width (RDW-CV), mean platelet volume, platelet distribution width, plateletcrit, total platelet count, total leukocyte count, the leukocyte formula, as well as the parameters of red blood cells (area, perimeter, diameter, thickness, sphericity index). The study showed that the morphometric parameters of the blood drawn from a living animal and from its corpse within the first 3 hours after death were identical and retained their significance for diagnosing the physiological state of the animal, identifying pathologies and impacts of environmental factors. Post-mortem blood 6 hours after death underwent a significant decrease ($p < 0.05$) in the number of segmented neutrophils so that the leukocyte formula shifted towards lymphocytes. The number of rod-shaped neutrophils and eosinophils did not change. Six hours after death, there appeared singular degraded neutrophil, and their significant decline ($p < 0.05$) occurred after 12 hours. The parameters of red blood cells in intra-vital and post-mortem blood of Arctic foxes remained identical in the first 3 hours after death. After 6 hours, the area, perimeter, diameter, and sphericity index of red blood cells differed significantly ($p < 0.05$) between the samples taken intra-vital vs post-mortem. It is more difficult to find visual fields suitable for measurement in microscopic examination of red blood cells from cadaveric blood. Apparently, a larger number of visual fields have to be examined to obtain reliable results. Our results indicate that peripheral post-mortem blood can be used both for studying intra-vital parameters and for assessing the post-mortem interval in mammals.

Keywords: blood; canines; post-mortem changes; erythrocytes; hematological parameters

For citation: Perevozchikova M. A., Domskiy I. A., Sergeev A. A., Berezina Yu. A., Bespyatykh O. Yu., Syutkina A. S. A study of post-mortem hematological parameters of Arctic foxes, *Vulpes lagopus* (Linnaeus, 1758). *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 83–96. doi: 10.17076/eb1743

Funding. The studies were carried out in 2021 conformant to the Long-term (2021–2030) program for basic research in the Russian Federation endorsed by RF Government

ordinance #3684-r of December 31, 2020, which underpins the government assignment to the Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, research theme "Developing techniques for keeping, feeding, breeding, disease prevention and treatment of cage-reared fur animals and game animals kept in captivity, semi-free-ranging, or living in man-made habitats" (FZSS-2019-0002).

Введение

Изучение многих биологических параметров диких животных в естественной среде обитания сложно и проблематично, так как требует применения дорогостоящих и сложных методов сбора биологического материала. В зарубежных странах отбор биопроб чаще всего производят у животных, иммобилизованных при помощи химических средств, таких как эторфин, тиофентанил, карфентанил, медетомидин, кетамин [Arnemo, 1995; Becker et al., 2010; Rostal et al., 2012; Miller et al., 2013]. Применение этих препаратов, а также сильнейший стресс, неизбежно возникающий у диких (или содержащихся в искусственно созданной среде) животных при животоотлове и обездвиживании, могут оказывать существенное воздействие на физиологические параметры объектов исследований. В отечественной практике приобретение и использование указанных препаратов существенно осложняется необходимостью их строгого учета и отчетности в соответствии с требованиями законодательства РФ [Постановление..., 1998] и, по сути, возможно только для исследования популяций малочисленных и редких видов животных при решении особо важных практических и научных задач.

По этим причинам подавляющее большинство гематологических, физиологических, биохимических исследований осуществляется на материале от диких животных, добытых в ходе специализированных видов охоты, например в научно-исследовательских целях. В этой связи возникает вопрос соответствия исследуемых параметров трупного биоматериала прижизненным показателям на фоне постмортальных изменений в градиенте времени.

Полное понимание физических и химических изменений, происходящих в организме после смерти, и факторов, влияющих на них, в свою очередь, поможет в оценке посмертного интервала. Этот показатель крайне важен во многих исследованиях гибели животных, включая расследования случаев незаконной охоты, дорожно-транспортных происшествий, обстоятельств смерти охотничьих, редких и исчезающих видов животных в неволе и в дикой природе и др.

Методы определения посмертного интервала включают изучение степени трупного окоченения и разложения тела с применением морфологической оценки, термометрию, исследования изменений офтальмотонуса, гистологические изменения, оценку степени деградации белков скелетных мышц, изменение концентрации метаболитов, микробный и энтомологический анализ, рентгенографию и другие. Несмотря на многие десятилетия научного поиска, точность оценки наступления времени смерти до сих пор остается очень сложной задачей, поскольку на него влияют множество факторов окружающей среды. После смерти происходят изменения в различных органах и тканях организма, включая кровь. Данные изменения также могут быть использованы при установлении наступления времени смерти [Dokgöz et al., 2001; Ahmed, 2018; Das et al., 2019; Jat et al., 2019].

Большинство исследований в этой области было проведено на человеческих останках, и ветеринарный патологоанатом должен проявлять большую осторожность при попытке экстраполировать данные и применять формулы, предназначенные для использования на людях [Brooks, 2016; Ahmed, 2018; Pittner et al., 2020]. В современной ветеринарной практике широко применяются гематологические исследования. Для оценки состояния здоровья животных как на индивидуальном, так и на популяционном уровне используют показатели периферической крови, отличающиеся высокой чувствительностью к меняющимся условиям среды обитания. Комплекс этих показателей может быть использован для установления физиологического состояния организма, в качестве маркеров различных патологий, разработки системы экологического мониторинга и др. [Асташкина, Власов, 2006; Rousseau et al., 2018; Тютиков, 2021].

В этой связи сравнительные исследования гематологических параметров живой и постмортальной крови диких животных представляются актуальными и практически значимыми.

В представленной работе впервые установлена гемограмма, лейкоцитарные формулы, параметры эритроцитов, а также количество

эритроцитов на одно поле зрения микроскопа в постмортальных образцах крови песцов в сравнении с аналогичными параметрами живых животных.

Цель исследования: сравнительное изучение гематологических параметров в прижизненных и постмортальных образцах модельного вида в градиенте времени для оценки возможности их использования в научно-исследовательской и лабораторной деятельности.

Материалы и методы

В качестве модельного вида для исследования использованы самцы песцов, *Vulpes lagopus* (Linnaeus, 1758), вуалевого окраса в возрасте 7 месяцев ($n = 35$). Масса тела песцов варьировала от 7,45 до 10,3 кг и составила в среднем $9,01 \pm 0,94$ кг.

Для исследований собраны образцы крови от 10 живых и 25 мертвых животных. Формирование групп для исследования осуществляли следующим образом: 1 группа – образцы крови живых животных; 2 группа – кровь этих же животных через 1 час после смерти; 3 группа – кровь живых животных; 4, 5, 6 и 7 группы – образцы крови этих же животных через 3, 6, 12 и 24 часа (соответственно) после смерти. Взятие проб крови и хранение трупов осуществлялось при температуре окружающей среды $+14$ °С.

Пробоотбор проводили у живых животных из латеральной подкожной вены голени (*v. saphena lateralis*), а также от тушек зверей после их убоя из яремной вены (*v. jugularis*) через 1 и 3 часа после смерти и каудальной полой вены (*v. cava caudalis*) через 6, 12 и 24 часа после смерти.

Взятие проб крови для лабораторных исследований производили в вакуумные пробирки UNIVAC по 4 мл с антикоагулянтом дикалий этилендиаминтетрауксусная кислота (K_2 ЭДТА). Отбор, взятие, хранение и подготовку трупного биоматериала осуществляли согласно регламенту, изложенному в приказе Минздрава от 12.05.2010 № 346н [Приказ..., 2010], адаптированному к диким видам животных [Кошурникова, Домский, 2022].

Определение гематологических параметров производили с использованием автоматического анализатора «MicroCC-20 Plus» ветеринарная версия (High Technology, Inc., США) сразу после взятия крови. Лейкоцитарную формулу подсчитывали на свежеприготовленных и окрашенных мазках крови при помощи светового микроскопа (MEIJI TECHNO, Япония).

В каждом образце крови определяли общее количество эритроцитов, концентрацию

гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците, относительную ширину распределения эритроцитов по объему, средний объем тромбоцитов, относительную ширину распределения тромбоцитов по объему, тромбоцит, общее количество тромбоцитов, общее количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, а также параметры эритроцитов (площадь, периметр, диаметр, толщину, индекс сферичности).

Для определения параметров эритроцитов (площадь, периметр, диаметр) из каждого мазка крови анализировали 10–20 четких полей зрения с адекватной их морфологией. Параметры измерялись с использованием программного обеспечения для обработки изображений для медицины и биологии (Vision Bio (Epi), Австрия). Всего определены параметры более 15 000 эритроцитов.

Индекс сферичности эритроцитов (ИСЭ) определяли по общепринятой формуле: $ИСЭ = D/T$, где $T = V/S$ (D – средний диаметр эритроцитов, мкм; T – средняя толщина эритроцитов, мкм; V – средний объем эритроцитов, фл; S – средняя площадь основания эритроцитов, мкм).

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения MS Excel (Office 2019) и Statgraphics (19-X64) общепринятыми методами [Ивантер, Коросов, 2005]. Для описания выборок определяли медиану (Me), 25% и 75% процентиля. Для сравнения достоверности различий показателей применяли непараметрический критерий (U) Манна – Уитни. Взаимосвязь между параметрами оценивалась посредством корреляционного анализа с применением коэффициентов Спирмена. Для оценки влияния временного фактора на морфологические показатели применяли однофакторный дисперсионный анализ, а также непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа – критерий Краскела – Уоллиса. Влияние фактора считалось достоверно значимым при $p < 0,05$.

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации.

Результаты и обсуждение

Результаты морфологических исследований образцов крови от живых животных и крови песцов после убоя представлены в табл. 1.

Таблица 1. Морфологические параметры образцов прижизненной и постмортальной крови песцов

Table 1. Morphological parameters of samples of intravital and post-mortal blood of Arctic foxes

Параметры Parameters	1 группа Group 1	2 группа Group 2	3 группа Group 3	4 группа Group 4	5 группа Group 5
	Живые Live animals (n=5) min-max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 1 Time after death (h) 1 (n=5) min - max Me 25%-75%	Живые Live animals (n=5) min - max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 3 Time after death (h) 3 (n=5) min - max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 6 Time after death (h) 6 (n=3) min - max Me 25%-75%
Количество эритроцитов, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /l	9,06–10,54 9,61 9,24–9,66	8,76–10,20 8,96 8,90–9,00	9,33–10,43 9,97 9,67–10,05	7,60–9,96 9,17 9,01–9,52	6,00–8,40 6,27 ^E 6,13–7,33
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	164,00–184,00 172,00 166,00–174,00	161,00–178,00 166,00 162,00–170,00	169,00–188,00 173,00 170,00–179,00	155,00–180,00 160,00 158,00–168,00	116,00–162,00 121,00 ^E 118,50–141,50
Гематокрит, % Hematocrit, %	52,60–59,50 54,30 52,70–55,00	49,70–57,60 52,50 52,10–54,10	53,40–61,00 55,20 53,80–57,10	42,70–58,50 50,00 49,40–53,40	35,50–51,40 35,70 ^F 35,60–43,55
Средний объем эритроцита, фл Mean corpuscular volume, fl	56,30–58,20 57,00 56,50–57,30	55,90–58,70 56,80 56,50–58,60	55,00–58,50 57,30 55,70–57,30	54,60–58,80 56,10 54,90–56,30	56,70–61,30 59,60 58,15–60,45
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг Mean hemoglobin concentration, pg	17,40–18,10 17,90 17,80–18,10	17,40–18,60 18,00 17,70–18,30	17,20–18,10 17,90 17,50–18,00	16,90–18,40 17,70 17,60–18,00	19,20–19,30 19,20 ^{C, E} 19,20–19,25
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л Mean corpuscular hemoglobin concentration, g/l	309,00–316,00 315,00 311,00–316,00	308,00–323,00 314,00 309,00–318,00	308,00–316,00 313,00 313,00–315,00	307,00–327,00 314,00 310,00–323,00	315,00–340,00 324,00 319,50–332,00
Относительная ширина распределения эритроцитов по объему, % Red blood cells distribution width (standard deviation), %	12,70–14,10 13,70 13,30–13,80	13,00–15,00 14,10 13,50–14,70	13,20–14,10 14,00 13,80–14,10	13,80–15,30 14,10 13,90–15,00	11,80–13,50 12,10 ^C 11,95–12,80
Средний объем тромбоцитов, фл Mean platelet volume, fl	7,00–7,90 7,50 7,10–7,80	6,00–7,30 6,80 ^A 6,30–7,00	7,00–8,10 7,70 7,50–7,80	5,30–6,60 6,20 ^{B, D} 6,10–6,30	5,30–7,0 6,60 ^E 5,95–6,80
Относительная ширина распределения тромбоцитов по объему, % Platelet distribution width, %	15,00–15,40 15,00 15,00–15,30	15,00–17,70 16,00 15,10–17,60	14,90–15,30 15,00 15,00–15,10	14,60–17,10 16,80 15,90–16,80	16,00–17,40 17,40 ^E 16,70–17,40
Тромбокрит, % Plateletcrit, %	0,23–0,38 0,35 0,33–0,37	0,03–0,13 0,06 ^A 0,06–0,06	0,33–0,39 0,37 0,35–0,39	0,08–0,18 0,09 ^{B, D} 0,08–0,12	0,16–0,19 0,17 ^E 0,17–0,18
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л Platelets, 10 ⁹ /l	330,00–491,00 477,00 477,00–482,00	61,00–130,00 91,00 ^A 88,00–96,00	433,00–561,00 461,00 461,00–527,00	122,00–299,00 151,00 ^{B, D} 147,00–235,00	238,00–330,00 253,00 ^E 245,50–291,50
Количество лейкоцитов, 10 ⁹ /л White blood cells, 10 ⁹ /l	9,50–11,60 10,90 10,90–11,10	8,80–9,20 9,00 8,90–9,20	9,20–13,90 12,90 10,90–13,00	7,10–12,60 10,80 10,20–11,90	7,50–9,40 8,50 ^E 8,00–8,95

Примечание. А – по сравнению с живыми животными и животными через 1 час после смерти (p < 0,05); В – по сравнению с животными через 1 и 3 часа после смерти (p < 0,05); С – по сравнению с животными через 3 и 6 часов после смерти (p < 0,05); D – по сравнению с живыми животными и животными через 3 часа после смерти (p < 0,05); E – по сравнению с живыми животными и животными через 6 часов после смерти (p < 0,05).

Note. A – compared with live animals and animals 1 hour after death (p < 0.05); B – compared with animals 1 and 3 hours after death (p < 0.05); C – compared with animals 3 and 6 hours after death (p < 0.05); D – compared with live animals and animals 3 hours after death (p < 0.05); E – compared with live animals and animals 6 hours after death (p < 0.05).

Установлена сильная отрицательная корреляция между количеством эритроцитов у живых животных и средним содержанием гемоглобина в эритроците через 1 час после смерти ($r = -1,00$; $p = 0,00$); между средним объемом эритроцитов у живых животных и количеством эритроцитов через 3 часа после смерти ($r = -1,00$; $p = 0,00$), у них же – между средним объемом эритроцитов и гематокритом ($r = -1,00$; $p = 0,00$).

Отмечена сильная положительная корреляция в постмортальных образцах через 1 час после смерти между количеством эритроцитов и гематокритом ($r = 1,00$; $p = 0,00$); в постмортальных образцах через 3 часа после смерти между количеством эритроцитов и гематокритом ($r = 1,00$; $p = 0,00$), а также между тромбоцитом и количеством тромбоцитов ($r = 1,00$; $p = 0,00$).

Следует отметить, что изменение гематологических показателей после смерти животного

определяется временным фактором. Проведенный однофакторный анализ позволил установить влияние времени на показатели крови. Между прижизненными и постмортальными образцами (через 1 час после смерти) выявлено достоверное влияние времени на средний объем тромбоцитов ($p = 0,00$; степень влияния 68,47 %), относительную ширину распределения тромбоцитов по объему ($p = 0,01$; степень влияния 37,33 %), тромбоциты ($p = 0,00$; степень влияния 91,23 %), количество тромбоцитов ($p = 0,00$; степень влияния 90,68 %); лейкоцитов ($p = 0,03$; степень влияния 32,67 %). А также установлено влияние времени в постмортальных образцах (через 1 и 3 часа после смерти) на количество тромбоцитов ($p = 0,02$; степень влияния 49,46 %).

Результаты изменения показателей лейкоцитарных формул крови в прижизненных и постмортальных образцах представлены в табл. 2.

Таблица 2. Изменения лейкоцитарных формул в прижизненной и постмортальной крови песцов

Table 2. Leukocyte formulas of the lifetime and postmortem blood of Arctic foxes

Параметры Parameters	1 группа Group 1	2 группа Group 2	3 группа Group 3	4 группа Group 4	5 группа Group 5	6 группа Group 6	7 группа Group 7
	Живые Live animals (n=5) min-max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 1 Time after death (h) 1 (n=5) min-max Me 25%-75%	Живые Live animals (n=5) min-max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 3 Time after death (h) 3 (n=5) min-max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 6 Time after death (h) 6 (n=5) min-max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 12 Time after death (h) 12 (n=5) min-max Me 25%-75%	Время после наступления смерти (ч) 24 Time after death (h) 24 (n=5) min-max Me 25%-75%
Палочко-ядерные нейтрофилы Rod-shaped neutrophils	0–2 1 0–2	0–3 2 1–2	0–3 0 0–1	0–2 1 1–1	0–2 1 1–1	0–2 0 0–1	0–1 0 0–0
Сегментоядерные нейтрофилы Segmental neutrophils	24–29 26 25–26	18–31 24 20–26	22–32 26 23–30	19–23 22 21–23	20–25 22 ^B 21–22	6–14 7 ^{A, C} 7–14	5–20 12 ^D 9–14
Лимфоциты Lymphocytes	65–71 70 68–71	62–75 74 70–75	60–76 69 67–70	70–75 74 72–75	70–76 74 ^B 73–76	79–90 87 ^{A, C} 80–87	75–94 84 ^D 79–87
Эозинофилы Eosinophils	2–6 4 3–5	1–5 4 3–4	2–8 3 3–5	2–6 4 3–6	2–4 3 3–4	3–7 5 5–6	1–6 4 4–5

Примечание. А – по сравнению с животными через 6 и 12 часов после смерти ($p < 0,05$); В – по сравнению с живыми животными и животными через 6 часов после смерти ($p < 0,05$); С – по сравнению с живыми животными и животными через 12 часов после смерти ($p < 0,05$); D – по сравнению с живыми животными и животными через 24 часа после смерти ($p < 0,05$).

Note. A – compared with animals 6 and 12 hours after death ($p < 0.05$); B – compared with live animals and animals 6 hours after death ($p < 0.05$); C – compared with live animals and animals 12 hours after death ($p < 0.05$); D – compared with live animals and animals 24 hours after death ($p < 0.05$).

В лейкоцитарных формулах установлена сильная отрицательная корреляция между количеством сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов у живых животных ($r = -0,65$; $p = 0,00$) и между их количеством в постмортальных образцах через 24 часа после смерти ($r = -1$; $p = 0,00$).

Изменения в лейкоцитарной формуле также определяются временным фактором. Проведенный однофакторный анализ позволил установить влияние времени на количество сегментоядерных нейтрофилов ($p = 0,00$; степень влияния 76,79 %) и лимфоцитов ($p = 0,00$; степень влияния 67,86 %).

Параметры эритроцитов в прижизненных и постмортальных образцах крови песцов представлены в табл. 3.

Установлена сильная положительная корреляция между показателями прижизненных и постмортальных образцов крови через 1 час

после смерти: между диаметром и толщиной ($r = 1$; $p = 0,00$), между толщиной и индексом сферичности ($r = 1$; $p = 0,00$). Сильная отрицательная корреляция отмечается между диаметром и индексом сферичности ($r = -1$; $p = 0,00$), толщиной ($r = -1$; $p = 0,00$) и индексами сферичности ($r = -1$; $p = 0,00$).

В крови песцов через 1 час после смерти – между толщиной и индексом сферичности ($r = -1$; $p = 0,00$). В крови песцов через 3 часа после смерти – между площадью и периметром ($r = 1$; $p = 0,00$), а также между толщиной и индексом сферичности ($r = -1$; $p = 0,00$).

Тестированием ANOVA выявлено, что в первые 3 часа после смерти животного фактор времени не оказывает значимого влияния на параметры эритроцитов.

Установлено достоверное влияние времени между показателями прижизненных образцов

Таблица 3. Параметры эритроцитов в прижизненных и постмортальных образцах крови песцов

Table 3. Parameters of erythrocytes in the lifetime and postmortem blood samples of Arctic foxes

Параметры Parameters	1 группа Group 1	2 группа Group 2	3 группа Group 3	4 группа Group 4	5 группа Group 5	6 группа Group 6	7 группа Group 7
	Живые Live animals (n=5) min-max Me 25%–75%	Время после наступления смерти (ч) 1 Time after death (h) 1 (n=5) min-max Me 25%–75%	Живые Live animals (n=5) min-max Me 25%–75%	Время после наступления смерти (ч) 3 Time after death (h) 3 (n=5) min-max Me 25%–75%	Время после наступления смерти (ч) 6 Time after death (h) 6 (n=5) min-max Me 25%–75%	Время после наступления смерти (ч) 12 Time after death (h) 12 (n=5) min-max Me 25%–75%	Время после наступления смерти (ч) 24 Time after death (h) 24 (n=5) min-max Me 25%–75%
Площадь, мкм ² Area, mkm ²	27,01–29,29 28,58 27,11–28,75	27,73–30,86 30,25 27,86–30,47	27,44–29,72 29,23 27,64–29,44	27,56–30,79 29,13 27,84–29,49	29,14–32,55 31,67 ^A 30,95–32,43	30,03–32,31 31,12 ^B 30,44–31,79	28,2–31,31 29,06 28,37–30,51
Периметр, мкм Perimeter, mkm	20,61–21,64 21,38 20,87–21,42	21,08–22,59 22,00 21,98–22,43	20,75–21,72 21,57 20,86–21,62	20,99–22,84 21,36 21,11–21,80	21,85–23,34 22,98 ^A 22,62–23,24	21,83–23,23 22,77 22,45–22,95	21,47–23,24 22,06 ^C 21,62–22,43
Диаметр, мкм Diameter, mkm	6,47–6,79 6,68 6,58–6,74	6,66–7,07 6,84 6,74–7,01	6,52–6,81 6,76 6,61–6,78	6,69–7,15 6,74 6,71–6,85	6,85–7,28 7,15 ^A 7,12–7,2	6,91–7,25 7,09 ^B 7,06–7,12	6,77–7,25 6,85 ^C 6,78–7,04
Толщина эритроцита, мкм Thickness of red blood cells, mkm	1,95–2,10 2,02 1,96–2,09	1,84–2,11 1,92 1,86–2,00	1,89–2,08 1,98 1,92–2,00	1,78–2,04 1,96 1,90–2,01	1,88–1,98 1,94 1,91–1,96	-	-
Индекс сферичности эритроцита Erythrocyte sphericity index	3,07–3,47 3,29 3,14–3,42	3,18–3,84 3,64 3,31–3,66	3,16–3,57 3,38 3,27–3,53	3,28–4,00 3,41 3,33–3,60	3,52–3,82 3,59 ^A 3,55–3,71	-	-

Примечание. А – по сравнению с живыми животными и животными через 6 часов после смерти ($p < 0,05$); В – по сравнению с живыми животными и животными через 12 часов после смерти ($p < 0,05$); С – по сравнению с живыми животными и животными через 24 часа после смерти ($p < 0,05$).

Note. A – compared with live animals and animals 6 hours after death ($p < 0.05$); B – compared with live animals and animals 12 hours after death ($p < 0.05$); C – compared with live animals and animals 24 hours after death ($p < 0.05$).

крови и образцов, отобранных после смерти: через 6 часов – на площадь ($p = 0,00$; степень влияния 62,26 %), периметр ($p = 0,00$; степень влияния 72,62 %), диаметр ($p = 0,00$; степень влияния 73,50 %), индекс сферичности эритроцитов ($p = 0,01$; степень влияния 42,18 %); через 12 часов – на площадь ($p = 0,00$; степень влияния 65,31%), периметр ($p = 0,00$; степень влияния 70,30 %), диаметр эритроцитов ($p = 0,00$; степень влияния 74,56 %); через 24 часа – на площадь ($p = 0,11$; степень влияния 18,29 %), периметр ($p = 0,00$; степень влияния 43,72 %), диаметр ($p = 0,00$; степень влияния 43,48 %).

Количество эритроцитов на одно поле зрения микроскопа в прижизненных и постмортальных образцах крови представлено на рисунке.

Кроме того, тестированием ANOVA установлено достоверное влияние времени на количество эритроцитов в одном поле зрения микроскопа ($p = 0,00$; степень влияния 75,25 %). Количество эритроцитов достоверно уменьшается уже через 1 час после смерти ($p = 0,00$; степень влияния 52,54 %) и продолжает уменьшаться через 6 и 12 часов после смерти ($p = 0,03$; степень влияния 43,49 %). В промежутках между 1 и 3, 3 и 6, а также между 12 и 24 часами после смерти количество эритроцитов достоверно не изменяется.

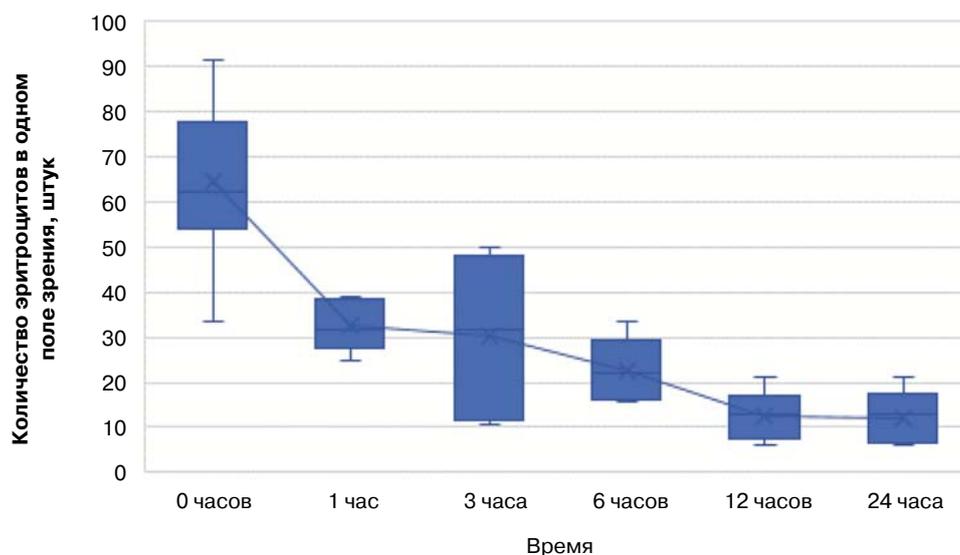
В первые 1 и 3 часа после смерти животного проведенные нами сравнительные исследова-

ния крови из яремной и полых вен не выявили различий. Поэтому исследования через 6, 12 и 24 часа после смерти мы проводили из полых вен, так как кровь была лучшего качества.

При изучении морфологических параметров прижизненной и постмортальной крови песцов нами установлено, что эти параметры сопоставимы в течение первых 3 часов после смерти животного, за исключением тромбоцитарных показателей. Их изменение в данном случае обусловлено тем, что после убоя до момента взятия крови с животных была снята шкура и за счет тромбоцитов происходило закрытие ран при кровотечении путем образования тромба.

В наших исследованиях достоверные ($p < 0,05$) различия в количестве эритроцитов, содержании гемоглобина и количестве лейкоцитов отмечены через 6 часов после смерти.

В настоящее время в научной литературе имеются немногочисленные публикации об особенностях постмортальной крови. Процессы, происходящие в ней, недостаточно изучены у людей и особенно у животных [Бакулев, 1966; Боягина, Сиганкова, 2014; Гильманов и др., 2017; Ahmed, 2018; Jat et al., 2019; Dokgöz et al., 2001; Лазарева, 2020]. По имеющимся же в нашем распоряжении литературным источникам, такая информация представлена в работе S. Das с соавторами [2019], которые изучали изменения крови, тканей сердца, печени и почек у домашних коз в штате Одиша, Индия.



Количество эритроцитов на одно поле зрения микроскопа в прижизненных и постмортальных образцах крови песцов

The number of red blood cells per microscope field of view in the lifetime and postmortem blood samples of Arctic foxes

S. Das с соавторами [2019] изучали изменения крови у домашних коз для оценки времени смерти, сравнивая предсмертные образцы и образцы через 6, 12, 18 и 24 часа после смерти. Установили, что уровень гемоглобина за указанные промежутки времени не имел достоверных отличий. Достоверное ($p < 0,05$) отличие общего количества эритроцитов установлено через 12 часов после смерти. Их количество снизилось через 12 часов после смерти на 25,00 %, через 18 часов – на 40,00 % и через 24 часа – еще на 43,40 %. Общее количество лейкоцитов в эти же промежутки времени снижалось на 8,90, 18,38 и 23,64 % соответственно. Таким образом, по мере увеличения времени после смерти животного происходит лизис и постепенное уменьшение общего количества эритроцитов и лейкоцитов в результате дегенеративных изменений. Данные изменения состава постмортальной крови соответствуют нашим результатам, но отличаются более длительным временем их наступления, что, вероятно, связано как с особенностями взятия крови и видом животного, так и с влиянием различных факторов окружающей среды (прежде всего температуры).

S. D. Kundu [2017] установлено, что гемограмма крови может служить инструментом для оценки постмортального интервала, а общее количество эритроцитов и лейкоцитов сильно отрицательно коррелирует со временем, прошедшим с момента смерти. О. Д. Боягиной и Т. В. Сиганковой [2014] при изучении морфологического состава постмортальной крови у человека установлено, что в крови, отобранной в промежуток 2–7 часов после смерти, наблюдается четко выраженная тенденция к сгущению и отмечается увеличение количества гемоглобина, а также число эритроцитов и лейкоцитов, что, по их мнению, обусловлено выходом из сосудистого русла жидкостной части крови. В наших исследованиях подобное явление у песцов не наблюдалось.

С. Н. Бакулев [1966] указывал на сгущение крови, но в течение первых 2 суток ($p < 0,05$) после смерти, о чем свидетельствуют показания гематокрита, увеличение объема эритроцитов и уменьшение объема плазмы. В это время в капиллярах и мелких кровеносных сосудах происходит прогрессирующее сгущение крови за счет диффузии ее жидкой части через стенки сосудов в окружающие ткани. Диффузия также обусловлена нарушением проницаемости стенок кровеносных сосудов и развивающимся после смерти ацидозом тканей, окружающих эти сосуды. Процессы диффузии наиболее отчетливо выражены в первые 16–18 часов после

смерти и несколько слабее – во вторые сутки. Признаков гемолиза эритроцитов в этот период не наблюдается, что отчетливо отражает гематокрит.

Кроме того, еще в 1928 г. русский хирург профессор В. Н. Шамов и его коллега М. Х. Костюков на III Всеукраинском съезде хирургов доложили о результатах своих успешных опытов на собаках по переливанию трупной крови. Оценивались токсичность и длительность ее жизнеспособности. Было доказано, что восстановить острую массивную кровопотерю с возвращением животного к жизни можно только гемотрансфузией. Обескровленные собаки при введении солевых и коллоидных растворов гибли [Шамов, Костюков, 1929; Лазарева, 2020]. В физиологической лаборатории (рук. профессор И. П. Разенков) Московского института профессиональных болезней установлено, что посмертная кровь сохраняет свои функции газообмена и повышает кислородный фон реципиента, а пересаженные эритроциты живут несколько дней в организме и оказывают стимулирующее действие на ретикуло-эндотелиальную систему реципиента. Разработаны специальные методы по ее забору [Гланц, 1983; Лазарева, 2020].

Исследования А. В. Русакова показали, что кровь от людей, умерших внезапно от травмы (огнестрельное ранение, асфиксия, электротравма, сотрясение мозга) или острой сердечной недостаточности, в пробирке быстро сворачивается, но через 30–90 мин самостоятельно становится жидкой. Напротив, кровь умершего от онко- или инфекционных болезней, сепсиса, а также травмы с продолжительным агональным периодом сворачивается медленно, образуя нерастворимый сгусток [Скудина, Русаков, 1934; Ветшев и др., 2018]. Дальнейшие исследования показали, что изменения в крови внезапно умерших происходят за счет фибриногенолиза. Данное явление наблюдается и в крови живых людей [Андреевко, 1967; Братчик, 1993]. Сегодня в НИИ СП им. Н. В. Склифосовского продолжают активно использовать компоненты и препараты трупной крови [Хватов, 1991, 2013; Хубутя и др., 2015].

Отметим, что лейкоцитарные формулы живой и постмортальной крови песцов идентичны и не имеют различий до 3 часов после смерти включительно. Через 6 часов достоверно ($p < 0,05$) снижается количество сегментоядерных нейтрофилов, и за счет этого происходит процентное увеличение лимфоцитов в формуле. Количество палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов не изменяется. Следует отметить, что через 6 часов после смерти

встречаются единичные разрушенные нейтрофилы, а через 12 часов происходит их достоверное ($p < 0,05$) снижение на 31,00 %.

В доступной нам литературе мы встретили лишь единичные сообщения с подобными исследованиями у людей. Так, при микроскопическом исследовании образцов постмортальной крови человека [Jat et al., 2019; Tyagi et al., 2020] установлено, что лимфоциты оказались более устойчивыми к аутолитическим изменениям после смерти по сравнению с другими клетками лейкоцитов. Статистически значимая корреляция обнаружена в количестве лейкоцитов и тромбоцитов, в то время как все другие клетки (гранулоциты, моноциты и лимфоциты) не показали корреляции со временем, прошедшим после смерти. Полученные нами результаты соответствуют вышесказанному.

S. S. Jat с соавторами [2019], изучавшими постмортальные морфологические изменения лейкоцитов у людей (температура хранения в камере при 4 °C), установлено, что в течение первых 6 часов после смерти морфология всех форм лейкоцитов оставалась неизменной. Через 6–12 часов дисморфические изменения начались во всех типах лейкоцитов. Полный лизис наблюдался в большинстве клеток после 18 часов после смерти и все лейкоциты лизировались через 36–48 часов. Исследования H. Dogköz с соавторами [2001] показали, что нейтрофилы, эозинофилы и моноциты не теряют своей нормальной морфологии в течение первых 6 часов, а лимфоциты – в течение первых 24 часов. Кроме того, у нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов наблюдался пикноз через 6 часов после смерти, а вакуолизация цитоплазмы и ядра – через 12 часов. Фрагментация ядер начиналась через 18 часов у нейтрофилов и эозинофилов и через 24 часа у моноцитов. Распад регистрировали между 48 и 96 часами у нейтрофилов и 48 и 72 часами у эозинофилов и моноцитов. В лимфоцитах набухание ядра и нечеткость цитоплазматической клеточной мембраны наблюдались через 24 часа; пикноз и фрагментация ядра – через 36 и 72 часа соответственно. Лимфоциты идентифицировали через 120 ч и позже.

A. Ahmed [2018] изучал морфологические изменения нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов в постмортальных образцах от людей (температура хранения в камере при 4 °C). Морфологические изменения в нейтрофилах, лимфоцитах, моноцитах и эозинофилах в течение первых 6 часов после смерти в 100 % случаев не регистрировались. Через 6–12 часов после смерти данные клетки были нормальными в 8,33 % и слабо дисморфичными

в 91,66 % случаев. Через 12–24 часа после смерти отмечена сильная дисморфичность нейтрофилов и лимфоцитов. Полный лизис моноцитов и эозинофилов наблюдался через 12 часов после смерти, а нейтрофилов и лимфоцитов – через 24–36 часов.

Нами установлена идентичность параметров эритроцитов прижизненной и постмортальной крови пещеров в первые 3 часа после смерти. Через 6 часов отмечены достоверные ($p < 0,05$) отличия между прижизненными и постмортальными образцами в площади, периметре, диаметре и индексе сферичности эритроцитов. С течением времени в мазках встречалось большое количество эхиноцитов.

S. S. Jat с соавторами [2019] установлено, что после смерти целостность эритроцитов сохранялась до 18–24 часов. Полный их лизис наблюдался через 36 часов после смерти. Форма эритроцитов становилась слабо дисморфичной через 6–12 часов и сильно дисморфичной через 12–24 часа после смерти. Центральная бледность сохранялась до 6 часов и снижалась с 6 до 18 часов, а ее потеря происходила через 18 часов. Гемоглобинизированная периферия клетки четко визуализировалась до 18 часов, бледнела в период с 18 до 36 часов и не распознавалась через 36 часов после смерти в большинстве мазков. Таким образом, изучение посмертных изменений морфологии эритроцитов и лейкоцитов может быть использовано в качестве дополнительных методов определения времени, прошедшего после смерти. Исследования осмотической резистентности эритроцитов С. Н. Бакулевым [1966] также показали их достаточную устойчивость на протяжении первых 2 суток. По его данным, в первые 6 часов после смерти осмотическая резистентность эритроцитов не меняется и удерживается на уровне живого человека. В период от 6 до 12 часов наблюдается ее незначительное снижение – на 0,06 по максимальной и на 0,10 по минимальной. К 24 часам происходит снижение резистентности соответственно на 0,10–0,14 и на 0,12–0,14, через 48 часов – на 0,16–0,18 и на 0,16–0,20. Данная динамика показывает достаточную стойкость эритроцитов и отсутствие заметного их гемолиза в течение первых 2 суток после смерти.

Процессы односторонней диффузии плазмы крови через стенки кровеносных сосудов в окружающие ткани приводят к постепенному ее сгущению. Уменьшение количества жидкой части крови в просвете кровеносных сосудов и капилляров создает условия для лучшей сохранности эритроцитов, поэтому процессы их гемолиза начинают развиваться позднее

2 суток после смерти, обычно с началом развития гнилостных процессов. При благоприятных условиях хранения – при температуре ниже 10 °С – гемолиз эритроцитов может не наступить даже через 10 дней и более [Бакулев, 1966].

В отдельных исследованиях показано, что эритроциты человека в течение 1,7–270,4 часа при температуре +4 °С трансформировались в эхиноциты и сфероциты, но не наблюдалось дебриса или лопнувших клеток [Penttilä, Laiho, 1981].

По данным А. С. Сергеевой с соавторами [2016], у человека в норме индекс сферичности эритроцита составляет 3,4–3,9. Показатель ниже 3,4 означает наличие пула сфероцитарных, шаровидных клеток, выше 3,9 – развитие планоцитоза или приближение формы эритроцитов к плоскому диску. Мы получили сходные результаты по нормальному индексу сферичности эритроцитов и отсутствие достоверных ($p < 0,05$) различий данного параметра у живой и постмортальной крови до 3 часов после смерти.

Важно отметить, что в наших исследованиях в постмортальной крови животных по сравнению с прижизненной для определения параметров эритроцитов сложнее найти четкие и пригодные для изменения поля зрения микроскопа. Количество эритроцитов на одно поле зрения достоверно ($p < 0,05$) снижается на 51 % в постмортальной крови через 1 час после смерти, а затем остается примерно на одном уровне до 6 часов после смерти включительно. Последующее достоверное их снижение на 58 % происходит только через 12 часов после смерти.

Выводы

1. При сравнительном исследовании морфологических параметров прижизненной и постмортальной крови у песцов установлено, что морфологические параметры крови, полученной от живого зверя и в первые 3 часа после его смерти, идентичны. Изменение параметров тромбоцитов в нашем случае связано с развившимся кровотечением в результате снятия шкуры и закрытия ран путем образования тромба. Сравнительные исследования крови из яремной и полой вены, проведенные в первые 1 и 3 часа после смерти животного, не выявили различий морфологических параметров.

2. При сравнительном исследовании лейкоцитарных формул живой и постмортальной крови песцов установлено, что формулы идентичны и не имеют различий в первые 3 часа

после смерти. Через 6 часов после смерти достоверно ($p < 0,05$) снижается количество сегментоядерных нейтрофилов и за счет этого происходит сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону лимфоцитов. Количество палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов не изменяется. Через 6 часов после смерти встречаются единичные разрушенные нейтрофилы, а через 12 часов происходит их достоверное ($p < 0,05$) снижение.

3. Установлена идентичность параметров эритроцитов прижизненной и постмортальной крови песцов в первые 3 часа после смерти животного. Через 6 часов отмечены достоверные ($p < 0,05$) отличия между прижизненными и постмортальными образцами в площади, периметре, диаметре и индексе сферичности эритроцита.

4. При определении количества эритроцитов на одно поле зрения микроскопа и изучении параметров этих клеток в прижизненных и постмортальных образцах крови установлено, что в мазках из постмортальной крови сложнее найти пригодные поля зрения по причине их худшего качества для идентификации и морфометрии по сравнению с образцами от живых животных. Количество эритроцитов на одно поле зрения достоверно ($p < 0,05$) снижается на 51 % через один час после смерти, а затем остается примерно на одном уровне в период до 6 часов после смерти включительно. Последующее достоверное их снижение на 58 % происходит через 12 часов. Представляется необходимым исследовать большее количество полей зрения для получения достоверных результатов.

5. Наши данные свидетельствуют, что периферическая постмортальная кровь, полученная не позднее 3 часов с момента наступления смерти, может быть использована для изучения прижизненных гематологических параметров.

Литература

Андреев Г. В. Химия и физиология процесса. Клиническое применение фибринолизина: монография. М.: Медицина, 1967. 248 с.

Асташкина О. Г., Власов Н. В. Значение и возможности судебно-биохимических исследований при дифференциальной диагностике различных видов патологических состояний // Проблемы экспертизы в медицине. 2006. № 4(24). С. 17–19.

Бакулев С. Н. Об изменениях крови в области трупных пятен при насильственной и скоропостижной смерти // Судебно-медицинская экспертиза. 1966. № 3. Р. 3–6.

Боягина О. Д., Сиганкова Т. В. Сравнительное исследование давности возникновения кровяных

следов, образованных кровью живого человека и трупа // Студенческий научный форум – 2014: Мат-лы VI Международной студенческой научной конференции [Электронный ресурс]. URL: <https://scienceforum.ru/2014/article/2014002070> (дата обращения: 27.04.2022).

Братчик А. М. Клинические проблемы фибринолиза. Киев: Здоровье, 1993. 344 с.

Ветшев П. С., Левчук А. Л., Алистратов Д. И. Хирургия на распутье – к 90-летию статьи профессора С. П. Федорова // Эндоскопическая хирургия. 2018. № 24(1). С. 3–9. doi: 10.17116/endoskop20182413-9

Гильманов А. Ж., Сашков В. А., Павлюшина В. А. Технология отбора ауопсийной крови для судебно-биохимических исследований // Судебная медицина. 2017. № 3(2). С. 47–49. doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-2-47-49.

Гланц Р. М. Нейрогуморальное направление в трансфузиологии / Под ред. В. Н. Черниговского, О. И. Моисеева. Л.: Наука, 1983. 2391 с.

Ивантер Э. В., Коросов А. В. Элементарная биометрия. Петрозаводск: ПетрГУ, 2005. 104 с.

Кошурникова М. А., Домский И. А. Взятие, хранение и лабораторная диагностика биологического материала при добыче диких животных // Труды Карельского научного центра РАН. 2022. № 7. С. 75–84. doi: 10.17076/eb1515

Лазарева Е. Ю. История и пути развития метода переливания трупной крови в хирургии (к 90-летию открытия метода) // Вестник хирургии. 2020. № 179(1). С. 105–109. doi: 10.24884/0042-4625-2020-179-1-105-109

Постановление Правительства РФ от 30 июня 1998 г. N 681 «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации» (с изменениями и дополнениями).

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 12 мая 2010 г. № 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации».

Сергеева А. С., Пивоваров Ю. И., Бабушкина И. В., Дмитриева Л. А. Связь показателя сферичности эритроцитов с мембранными белками красных клеток крови у больных артериальной гипертензией // Российский кардиологический журнал. 2016. № 4(132). С. 52–58. doi: 10.15829/1560-4071-2016-4-52-58

Скудина М. Г., Русаков А. В. Переливание трупной крови без стабилизаторов // Советская хирургия. 1934. № 2-3. С. 194–198.

Тютиков С. Ф. Биологический мониторинг. Использование диких животных в биогеохимической индикации: учебник для вузов. М.: Юрайт, 2021. 230 с.

Хватов В. Б. Медико-биологические аспекты использования посмертной крови // Вестник АМН СССР. 1991. № 9. С. 18–24.

Хватов В. Б. Биологические свойства и использование компонентов посмертной крови // Неотложная медицинская помощь. 2013. № 3. С. 64–70.

Хубутя М. Ш., Кабанова С. А., Богопольский П. П., Глянец С. П., Гуляев В. А. Переливание кадаверной крови – выдающееся достижение российской трансплантологии и трансфузиологии (к 85-летию создания метода) // Трансплантология. 2015. № 4. С. 61–73.

Шамов В. Н., Костюков М. Х. К изучению гомопластики с трупа – переливание крови от трупа // Труды 3-го Всеукраинского съезда хирургов (9–14 сентября 1929 г.). Днепропетровск, 1929. С. 184–188.

Ahmed A. To assess the time since death on morphological changes of neutrophils, lymphocyte, monocytes & eosinophils: an autopsy based study // Int. J. Med. Res. Prof. 2018. Vol. 4, no. 4. P. 125–128. doi: 10.21276/ijmrp

Arnemo J. M. Immobilization of free-ranging moose (*Alces alces*) with medetomidine-ketamine and remobilization with atipamezole // Rangifer. 1995. Vol. 15, no. 1. P. 19–25. doi: 10.7557/2.15.1.1153

Brooks J. W. Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval // Vet. Pathol. 2016. Vol. 53, no. 5. P. 929–940. doi: 10.1177/0300985816629720.

Becker S. A., Kauffman M. J., Anderson S. H. Nutritional condition of adult female Shiras moose in northwest Wyoming // Alces. 2010. Vol. 46. P. 151–166.

Das S., Panda S. K., Acharya A. P., Mishra U. K., Kundu A. K., Mohanty B. N., Ali I. Postmortem blood and tissue changes for estimation of time of death // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2019. Vol. 8, no. 9. P. 43–53. doi: 10.20546/ijcmas.2019.809.007

Dokgöz H., Arican N., Elmas I., Fincanci S. K. Comparison of morphological changes in white blood cells after death and in vitro storage of blood for the estimation of postmortem interval // Forensic Sci. Int. 2001. Vol. 124, no. 1. P. 25–31. doi: 10.1016/s0379-0738(01)00559-x

Jat S. S., Punia R. K., Khichi M. K., Sharma S. Effect of time since death on morphological changes of red and white blood cells-an autopsy based study at SMS medical college & attached group of hospitals, Jaipur during the year 2016-2017 // Medico-legal Update. 2019. Vol. 19, no. 2. P. 145–150. doi: 10.5958/0974-1283.2019.00162.2.29

Kundu S. D. Changes in haemogram in subjects after death as a tool to estimate time passed since death // IOSR J. Dent. Med. Sci. 2017. Vol. 16, no. 10. P. 19–27.

Miller A. L., Alina L. E., Oystein O., Arnemo J. M. Biochemical and hematologic reference values for free-ranging, chemically immobilized wild Norwegian Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) during early winter // J. Wildl. Dis. 2013. Vol. 49, no. 2. P. 221–228. doi: 10.7589/2012-04-115

Penttilä A., Laiho K. Autolytic changes in blood cells of human cadavers. II. Morphological studies // Forensic Sci. Int. 1981. Vol. 17, no. 2. P. 121–132.

Pittner S., Bugelli V., Weitgasser K., Zissler A., Sanit S., Lutz L., Monticelli F., Campobasso C. P., Steinbacher P., Amendt J. A field study to evaluate PMI estimation methods for advanced decomposition stages // Int. J. Legal Med. 2020. Vol. 134, no. 4. P. 1361–1373. doi: 10.1007/s00414-020-02278-0

Rostal M. K., Evans A. L., Solberg E. J. Hematology and serum chemistry reference ranges of free-ranging moose in Norway // *J. Wildl. Dis.* 2012. Vol. 48, no. 3. P. 548–559. doi: 10.7589/0090-3558-48.3.548

Rousseau G., Bergerat N., Drevin G., Reynier P., Jousset N. Thanatobiochemistry: post mortem study of the vitreous humor for the diagnosis of diabetic ketoacidosis death // *Annales de Biologie Clinique.* 2018. Vol. 76, no. 3. P. 245–250. doi: 10.1684/abc.2018.1348

Tyagi A., Garg Sh., Chawla H. Estimation of post-mortem interval by evaluating autolytic changes in morphology of different white blood cells // *Int. J. Med. Toxicol. Legal Med.* 2020. Vol. 23, no. 3-4. P. 199–204. doi: 10.5958/0974-4614.2020.00068.6

References

Andreenko G. V. Chemistry and physiology of the process. Clinical use of fibrinolysin: A monograph. Moscow: Meditsina; 1967. 248 p. (In Russ.)

Ahmed A. To assess the time since death on morphological changes of neutrophils, lymphocyte, monocytes & eosinophils: an autopsy based study. *Int. J. Med. Res. Prof.* 2018;4(4):125–128. doi: 10.21276/ijmrrp

Arnemo J. M. Immobilization of free-ranging moose (*Alces alces*) with medetomidine-ketamine and remobilization with atipamezole. *Rangifer.* 1995;15(1):19–25. doi: 10.7557/2.15.1.1153

Astashkina O. G., Vlasova N. V. Forensic biochemical analysis for differential diagnostic of pathological states. *Medical Examination Problems.* 2006;4(24):17–19. (In Russ.)

Bakulev S. N. On changes in blood in the area of cadaveric spots during violent and sudden death. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza = Forensic Medical Examination.* 1966;3:3–6. (In Russ.)

Becker S. A., Kauffman M. J., Anderson S. H. Nutritional condition of adult female Shiras moose in northwest Wyoming. *Alces.* 2010;46:151–166.

Boyagina O., Sigankova T. Comparative research of age of blood stains formed by blood of a living person and a corpse. *Studencheskii nauchnyi forum – 2014: Mat-ly VI Mezhdunarodnoi studencheskoi nauchnoi konferentsii = Student Scientific Forum – 2014: Proceedings of the VI International student scientific conference.* URL: <https://scienceforum.ru/2014/article/2014002070> (accessed: 27.04.2022). (In Russ.)

Bratchik A. M. Clinical problems of fibrinolysis. Kiev: Zdorov'e; 1993. 344 p. (In Russ.)

Brooks J. W. Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval. *Vet. Pathol.* 2016;53(5):929–940. doi: 10.1177/0300985816629720

Das S., Panda S. K., Acharya A. P., Mishra U. K., Kundu A. K., Mohanty B. N., Ali I. Postmortem blood and tissue changes for estimation of time of death. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2019;8(9):43–53. doi: 10.20546/ijcmas.2019.809.007

Decree of the Government of the Russian Federation dated June 30, 1998 No. 681 'On approval of the list of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors subject to control in the Russian Federation' (with amendments and additions). (In Russ.)

Dokgöz H., Arican N., Elmas I., Fincanci S. K. Comparison of morphological changes in white blood cells after death and in vitro storage of blood for the estimation of postmortem interval. *Forensic Sci. Int.* 2001;124(1): 25–31. doi: 10.1016/s0379-0738(01)00559-x

Gilmanov A. Zh., Sashkov V. A., Pavlyushina V. A. Technologies of selection of autopsy blood for forensic biochemistry research. *Russian Journal of Forensic Medicine.* 2017;3(2):47–49. doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-2-47-49 (In Russ.)

Glants R. M. Neurohumoral direction in transfusiology. Leningrad: Nauka; 1983. 2391 p. (In Russ.)

Ivanter E. V., Korosov A. V. Fundamentals of biometrics. Petrozavodsk: PetrGU; 2005. 104 p. (In Russ.)

Jat S. S., Punia R. K., Khichi M. K., Sharma S. Effect of time since death on morphological changes of red and white blood cells—an autopsy based study at SMS medical college & attached group of hospitals, Jaipur during the year 2016–2017. *Medico-legal Update.* 2019;19(2): 145–150. doi: 10.5958/0974-1283.2019.00162.2.29

Khvatov V. B. Medical and biological aspects of the use of post-mortem blood. *Vestnik AMN SSSR = Vestnik AMS USSR.* 1991;9:18–24. (In Russ.)

Khvatov V. B. Biological properties, preparation and use of the components of posthumous blood. *Russian Sklifosovsky Journal Emergency Medical Care.* 2013;3:64–70. (In Russ.)

Khubutiya M. Sh., Kabanova S. A., Bogopol'skiy P. M., Glyantsev S. P., Gulyaev V. A. Transfusion of cadaveric blood: an outstanding achievement of Russian transplantation, and transfusion medicine (to the 85th anniversary since the method establishment). *Transplantologiya = Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation.* 2015;4:61–73. (In Russ.)

Koshurnikova M. A., Domskiy I. A. Sample collection, storage and laboratory analysis of biological material derived from hunter harvested wild animals. *Trudy Kareli'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS.* 2022;7:75–84. doi: 10.17076/eb1515 (In Russ.)

Kundu S. D. Changes in haemogram in subjects after death as a tool to estimate time passed since death. *IOSR J. Dent. Med. Sci.* 2017;16(10):19–27.

Lazareva E. Yu. History and development of the cadaveric blood transfusion method in surgery (on the 90th anniversary of the discovery of the method). *Grekov's Bulletin of Surgery.* 2020;179(1):105–109. doi: 10.24884/0042-4625-2020-179-1-105-109 (In Russ.)

Miller A. L., Alina L. E., Oystein O., Arnemo J. M. Biochemical and hematologic reference values for free-ranging, chemically immobilized wild Norwegian Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) during early winter. *J. Wildl. Dis.* 2013;49(2):221–228. doi: 10.7589/2012-04-115

Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation dated May 12, 2010 No. 346n 'On approval of the Procedure for organizing and conducting forensic medical examinations in state forensic institutions of the Russian Federation'. (In Russ.)

Penttilä A., Laiho K. Autolytic changes in blood cells of human cadavers. II. Morphological studies. *Forensic Sci. Int.* 1981;17(2):121–132.

Pittner S., Bugelli V., Weitgasser K., Zissler A., Sanit S., Lutz L., Monticelli F., Campobasso C. P., Steinbacher P., Amendt J. A field study to evaluate PMI estimation methods for advanced decomposition stages. *Int. J. Legal Med.* 2020;134(4):1361–1373. doi: 10.1007/s00414-020-02278-0

Rostal M. K., Evans A. L., Solberg E. J. Hematology and serum chemistry reference ranges of free-ranging moose in Norway. *J. Wildl. Dis.* 2012;48(3):548–559. doi: 10.7589/0090-3558-48.3.548

Rousseau G., Bergerat N., Drevin G., Reynier P., Jousset N. Thanatobiochemistry: post mortem study of the vitreous humor for the diagnosis of diabetic ketoacidosis death. *Annales de Biologie Clinique.* 2018;76(3):245–250. doi: 10.1684/abc.2018.1348

Sergeeva A. S., Pivovarov Yu. I., Babushkina I. V., Dmitrieva L. A. The relation of erythrocyte sphericity with membrane proteins in arterial hypertension. *Russian Journal of Cardiology.* 2016;4(132):52–58. (In Russ.)

Shamov V. N., Kostyukov M. Kh. To the study of homoplasty from a corpse – blood transfusion from

a corpse. *Trudy 3-go Vseukrainskogo s"ezda khirurgov (9–14 sentyabrya 1929 g.) = Proceedings of the 3rd All-Ukrainian Congress of Surgeons (September 9–14, 1929).* Dnepropetrovsk; 1929. P. 184–188. (In Russ.)

Skudina M. G., Rusakov A. V. Transfusion of cadaveric blood without stabilizers. *Sovetskaya khirurgiya = Soviet Surgery.* 1934;2-3:194–198. (In Russ.)

Tyutikov S. F. Biological monitoring. Use of wild animals in biogeochemical indication. Moscow: Jurajt; 2021. 230 p. (In Russ.)

Tyagi A., Garg Sh., Chawla H. Estimation of post-mortem interval by evaluating autolytic changes in morphology of different white blood cells. *Int. J. Med. Toxicol. Legal Med.* 2020;23(3-4):199–204. doi: 10.5958/0974-4614.2020.00068.6

Vetshev P. S., Levchuk A. L., Alistratov D. I. 'Surgery at a crossroads' – to the 90th anniversary of the article by Professor S. P. Fedorov. *Endoscopic Surgery.* 2018;24(1):3–9. doi: 10.17116/endoskop20182413-9 (In Russ.)

Поступила в редакцию / received: 23.01.2023; принята к публикации / accepted: 04.07.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Перевозчикова Мария Александровна

канд. вет. наук, старший научный сотрудник

e-mail: mperevozchikova@mail.ru

Домский Игорь Александрович

член-корр. РАН, д-р вет. наук, профессор, директор, главный научный сотрудник

e-mail: igordomsky@mail.ru

Сергеев Алексей Анатольевич

канд. биол. наук, заместитель директора по научной работе

e-mail: metalbird@mail.ru

Березина Юлия Анатольевна

канд. вет. наук, старший научный сотрудник

e-mail: uliya180775@bk.ru

Беспярых Олег Юрьевич

д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник

e-mail: oleg-bp@mail.ru

Сюткина Анна Сергеевна

канд. вет. наук, старший научный сотрудник

e-mail: sannetochka@mail.ru

CONTRIBUTORS:

Perevozchikova, Maria

Cand. Sci. (Vet.), Senior Researcher

Domskiy, Igor

RAS Corr. Academician, Dr. Sci. (Vet.), Professor, Director, Chief Researcher

Sergeev, Alexey

Cand. Sci. (Biol.), Deputy Director for Science

Berezina, Yulia

Cand. Sci. (Vet.), Senior Researcher

Bespyatykh, Oleg

Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher

Syutkina, Anna

Cand. Sci. (Vet.), Senior Researcher

УДК 615.326, 615.272.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА, СОДЕРЖАЩЕГО КАЛЬЦИЙ, МАГНИЙ, ЦИНК, СЕЛЕН

И. А. Виноградова¹, Д. В. Варганова^{1*}, Ю. П. Матвеева¹,
О. В. Жукова¹

*Петрозаводский государственный университет (просп. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *zhurakhovskaya@mail.ru*

Проведена оценка острой токсичности мультиминерального комплекса для профилактики и коррекции региональных микроэлементозов у жителей северных территорий, содержащего кальций, магний, цинк, селен. Персонализированный минеральный комплекс разработан на основании анализа элементного «портрета» жителей Республики Карелия. Эксперимент выполнен на 80 крысах Wistar (самки и самцы). Животные были разделены на четыре равные группы: контрольная и опытные группы, получавшие однократно минеральный комплекс в десятикратной, тридцатикратной, пятидесятикратной средней эффективной дозе. Минеральный комплекс вводили перорально с кормом индивидуально каждому экспериментальному животному. В течение двух недель наблюдения за животными не зафиксировано ни одной гибели. Все животные были клинически здоровы, поведение и общее состояние во всех исследуемых группах были схожими и соответствовали половозрастным особенностям. Определить значения ЛД₅₀ и ЛД₁₀₀ для групп самцов и самок крыс не представляется возможным. Различий в динамике прироста массы тела в опытных и контрольной группах животных не выявлено. Оценка суточного диуреза и биохимический анализ мочи не выявили негативного влияния минерального комплекса на функцию почек. Через две недели все животные были подвергнуты эвтаназии, проведен макроскопический анализ внутренних органов, биохимический анализ крови. Патологических изменений внутренних органов во всех исследуемых группах животных не установлено. Оценка биохимических показателей крови не выявила негативных изменений у крыс со стороны функции печени и почек. Согласно полученным результатам, исследуемый минеральный комплекс может быть отнесен к 4-му классу опасности и классифицирован как малоопасный (ГОСТ 12.1.007-76).

Ключевые слова: минеральный комплекс; острая токсичность; крысы; масса тела; биохимические показатели; дисэлементоз; Север; доклинические исследования

Для цитирования: Виноградова И. А., Варганова Д. В., Матвеева Ю. П., Жукова О. В. Исследование острой токсичности минерального комплекса, содержащего кальций, магний, цинк, селен // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 97–105. doi: 10.17076/eb1843

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 22-25-20216 (<https://rscf.ru/project/22-25-20216/>), проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).

I. A. Vinogradova, D. V. Varganova*, Yu. P. Matveeva, O. V. Zhukova.
A STUDY OF THE ACUTE TOXICITY OF A MINERAL COMPLEX CONTAINING
CALCIUM, MAGNESIUM, ZINC, SELENIUM

Petrozavodsk State University (33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia),
**zhurakhovskaya@mail.ru*

The acute toxicity of a multimineral complex for the prevention and correction of regional microelementoses in residents of northern territories, containing calcium, magnesium, zinc, and selenium was studied. The mineral complex was composed based on the elemental portrait of Republic of Karelia inhabitants. Eighty Wistar rats (females and males) were used for the experiment. The animals were divided into four equal groups: the control and experimental groups, which received the mineral complex once in ten-fold, thirty-fold, fifty-fold average effective dosages. The mineral complex was administered perorally with food individually to each experimental animal. During 2 weeks of observation not a single death was recorded. All animals were clinically healthy, the behavior and general condition in all the study groups were similar and corresponded to normal gender and age characteristics. Determination of LD50 and LD100 values for male and female rats was not possible. There were no differences in the dynamics of body weight gain in the experimental and control groups. Daily diuresis assessment and urine biochemical analysis revealed no negative effect of the mineral complex on renal function. After 2 weeks of observation, all animals were euthanized, macroscopic analysis of internal organs and a biochemical blood test were performed. No pathological changes in internal organs were observed in any of the studied groups. The assessment of biochemical blood parameters did not reveal any negative changes in liver and kidney function in experimental rats compared to the control. According to the results, the mineral complex can be classified as hazard class 4 (low-hazard) (GOST 12.1.007-76).

Keywords: mineral complex; acute toxicity; rats; body weight; biochemical parameters; dyselementosis; the North; preclinical studies

For citation: Vinogradova I. A., Varganova D. V., Matveeva Yu. P., Zhukova O. V. A study of the acute toxicity of a mineral complex containing calcium, magnesium, zinc, selenium. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 97–105. doi: 10.17076/eb1843

Funding. The research is implemented with financial support from the Russian Science Foundation, project no. 22-25-20216 (<https://rscf.ru/project/22-25-20216/>) jointly with the Republic of Karelia and funding from the Venture Investment Fund of the Republic of Karelia (VIF RK).

Введение

Территории Европейского Севера, в том числе Республики Карелия, существенно отличаются от центральных районов России природно-климатическими, биогеохимическими и адаптационными характеристиками. Продолжающийся отток населения и его отрицательный естественный прирост на северных территориях остро ставят вопросы сохранения человеческого потенциала, поэтому пристального внимания требуют проблемы упреждающей и текущей профилактики заболеваний у северян [Горбачев и др., 2016]. Перспективным направлением современной медицины и экологии является изучение элементного «портрета» населения отдельных биогеохимических регионов с целью научной разработки и внедрения мероприятий по устранению выявленных микроэлементозов [Горбачев, 2019].

Оценка элементного статуса жителей Республики Карелия показала их значительное отличие по содержанию макро- и микроэлементов от населения средней полосы России, что свидетельствует о необходимости персонализированного подхода к профилактике и коррекции региональных дисэлементозов [Варганова и др., 2018; Виноградова и др., 2021]. Минеральный комплекс для коррекции дисэлементоза у жителей Карелии должен включать в себя соединения кальция, магния, цинка и селена, при этом содержание кальция и магния должно быть достаточным для восполнения глубокого элементного дефицита, выявленного у населения региона. Стандартизированные минеральные комплексы, особенно импортного производства, не учитывают особенности элементного «портрета» населения различных регионов России и не всегда могут эффективно скорректировать

региональные дисэлементозы [Виноградова и др., 2022]. Разработка подобного персонализированного минерального комплекса, его экспериментальное апробирование и внедрение в клиническую практику является актуальной задачей для сохранения здоровья населения Севера и развития отечественного фармацевтического рынка минеральных комплексов.

Обязательным этапом доклинических исследований фармакологических веществ является тестирование безопасности на лабораторных животных [Сухачев и др., 2019]. Целью доклинических токсикологических исследований является установление характера и выраженности повреждающего действия фармакологического вещества на организм экспериментальных животных. Исследование общетоксического действия подразделяется на оценку острой и хронической токсичности. Острая токсичность – это вредное воздействие вещества, проявляющееся после его однократного применения [Руководство..., 2005]. Оценка токсичности при однократном введении является важной частью доклинического изучения безопасности фармакологических веществ, поскольку позволяет определить класс токсичности соединения, основные органы-мишени, прогнозировать дозы для изучения специфических видов токсичности и токсичности при многократном введении, а также соотнести терапевтические и токсические дозы [Авдеева и др., 2018]. Целью данного исследования является оценка острой токсичности мультиминерального комплекса для профилактики и коррекции региональных микроэлементозов у жителей северных территорий, содержащего кальций, магний, цинк, селен, в эксперименте на лабораторных крысах.

Материалы и методы

Исследования выполнены согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава РФ от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики») и «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [2005], а также в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Объектом исследования был персонализированный минеральный комплекс, изготовленный согласно Патенту на изобретение RU 2688682 С1 «Мультиминеральный комплекс для профилактики и коррекции региональных микроэлементозов у жителей северных территорий» [Варганова, Виноградова, 2019]. Исследуемый минераль-

ный комплекс, согласно описанию, включает в себя кальций 400,0 мг, магний 175,0 мг, цинк 5,0 мг, селен 0,030 мг. Для оценки острой токсичности расчет дозировок минерального комплекса проводился на единицу массы тела животного исходя из рекомендуемой авторами дозировки для человека.

Согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», в случае использования мелких лабораторных животных (крысы, мыши, хомяки) в каждой группе должно быть не менее 5 самцов и 5 самок. При выборе пути введения обязательно использовать тот путь, который предполагается для клинического изучения [Руководство..., 2005]. Эксперимент был выполнен на 80 крысах Wistar (самки и самцы), поступивших из питомника «Рапполово» (Ленинградская область) в возрасте 13–14 недель. Животные находились на стандартном рационе питания с использованием полнорационного гранулированного сухого корма для грызунов и получали местную питьевую водопроводную воду без ограничения. При содержании животных соблюдался 12-часовой режим день/ночь, температура воздуха в помещении 20–25 °С. Животные были разделены на четыре равные группы (10 самцов и 10 самок в каждой группе): контрольная и опытные группы, получавшие однократно исследуемый минеральный комплекс в десятикратной средней эффективной дозе (кальций 0,057 мг/г; магний 0,025 мг/г; цинк 0,0007 мг/г; селен 0,000004 мг/г), тридцатикратной средней эффективной дозе (кальций 0,171 мг/г; магний 0,075 мг/г; цинк 0,0021 мг/г; селен 0,000012 мг/г), пятидесятикратной средней эффективной дозе (кальций 0,285 мг/г; магний 0,125 мг/г; цинк 0,0035 мг/г; селен 0,000020 мг/г). Минеральный комплекс вводили с кормом индивидуально каждому экспериментальному животному.

Согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности должна составлять не менее двух недель, причем в первый день после введения животные должны находиться под непрерывным наблюдением [Руководство..., 2005]. По протоколу исследования во время наблюдения (в течение 2 недель) оценивали общее состояние животных, характер двигательной активности, координацию движений, наличие судорог, тонус скелетных мышц, состояние волосяного, кожного покрова, фекальные массы, мочу (суточный диурез, биохимический анализ мочи при помощи тест-полосок «ТекоДиагностикс»

и анализатора мочи «Uritek-151»), потребление корма, потребление воды, динамику массы тела. После выведения животных из эксперимента проводили макроскопическое исследование внутренних органов и биохимический анализ крови.

Результаты представляли в виде медианы и величин 25 и 75 перцентилей. Для оценки достоверности различий между группами применяли U-критерий Манна – Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В первые и последующие сутки после введения минерального комплекса в трех исследуемых дозах не отмечено изменений показателей в сравнении с контрольной группой животных, не зафиксировано ни одной гибели. Также не зафиксировано отдаленной гибели крыс при наблюдении в течение двух недель. На протяжении всего эксперимента общее состояние животных опытных и контрольной групп оценивалось положительно, животные были клинически здоровы, поведение и общее состояние во всех исследуемых группах были схожими и соответствовали половозрастным особенностям, не наблюдалось изменений в состоянии волосяного и кожного покрова.

При однократном пероральном введении минерального комплекса во всех изученных дозах летальных эффектов достичь не удалось. Согласно полученным результатам, исследуемый минеральный комплекс может быть отнесен к 4-му классу опасности и классифицирован как малоопасный [ГОСТ 12.1.007-76]. Так как введение препарата в дозах, предусмотренных протоколом исследования, не вызывало гибели животных, определение значений ЛД50 и ЛД100 для групп самцов и самок крыс не представляется возможным.

Анализ динамики массы тела показал, что животные во всех исследуемых группах прибавляли в массу в течение всего периода наблюдения (табл. 1). Статистически значимых различий в динамике прироста массы тела в группах животных, получавших минеральный комплекс, и контрольной группе не выявлено, масса тела животных соответствовала половозрастным особенностям [Абрашова и др., 2013].

В течение двух недель наблюдения во всех четырех группах животных отмечали стандартные потребление корма и воды, консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускания и суточный диурез. Данные по биохимическому анализу мочи в начале эксперимента и через две недели после введения минерального комплекса представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 1. Динамика массы тела (г) крыс после однократного введения минерального комплекса в трех исследуемых дозах

Table 1. Dynamics of rats body weight (g) after a single administration of the mineral complex in three study doses

Крысы-самцы Male rats				
Период наблюдения Observation period	Доза минерального комплекса Dose of mineral complex			
	контроль control	10-кратная доза 10-fold dose	30-кратная доза 30-fold dose	50-кратная доза 50-fold dose
1 сутки day 1	429,5 (420,5; 438,0)	449,5 (433,8; 461,0)	436,5 (431,3; 446,8)	435,0 (429,8; 438,5)
2 сутки day 2	429,0 (421,8; 438,8)	447,0 (433,8; 458,3)	436,0 (430,5; 446,3)	434,5 (430,8; 439,5)
7 сутки day 7	440,0 (429,3; 446,8)	455,0 (440,8; 464,0)	445,0 (439,3; 454,3)	443,0 (439,5; 448,3)
14 сутки day 14	447,5 (442,0; 457,0)	463,0 (448,0; 469,5)	455,5 (448,0; 465,3)	453,0 (448,5; 459,8)
Крысы-самки Female rats				
Период наблюдения Observation period	Доза минерального комплекса Dose of mineral complex			
	контроль control	10-кратная доза 10-fold dose	30-кратная доза 30-fold dose	50-кратная доза 50-fold dose
1 сутки day 1	287,5 (280,0; 302,5)	291,5 (282,3; 302,5)	290,0 (279,5; 299,5)	291,0 (284,3; 301,8)
2 сутки day 2	287,5 (278,3; 299,5)	288,0 (284,0; 302,3)	287,5 (280,0; 297,8)	289,0 (285,0; 298,8)
7 сутки day 7	298,5 (285,8; 309,3)	295,0 (290,3; 305,3)	296,5 (284,5; 306,3)	298,0 (292,5; 307,0)
14 сутки day 14	312,5 (296,8; 318,0)	304,0 (296,8; 310,8)	306,0 (295,3; 318,3)	308,0 (302,5; 318,3)

Таблица 2. Биохимические показатели мочи крыс в начале эксперимента

Table 2. Biochemical parameters of rat urine before the experiment

Показатель Parameter	Пол Gender	Доза минерального комплекса Dose of mineral complex			
		контроль control	10-кратная доза 10-fold dose	30-кратная доза 30-fold dose	50-кратная доза 50-fold dose
Плотность, г/см ³ Density, g/cm ³	♂	1,025 (1,025; 1,030)	1,025 (1,025; 1,030)	1,030 (1,020; 1,030)	1,025 (1,025; 1,030)
	♀	1,020 (1,020; 1,025)	1,025 (1,020; 1,030)	1,020 (1,020; 1,025)	1,025 (1,020; 1,025)
рН	♂	6,5 (6,0; 7,0)	6,5 (6,5; 7,0)	6,5 (6,5; 7,0)	7,0 (6,0; 7,0)
	♀	7,0 (6,5; 7,0)	7,0 (6,0; 7,0)	6,5 (6,5; 7,0)	7,5 (6,5; 7,5)
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Белок, мг/дл Protein, mg/dl	♂	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)
	♀	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)
Лейкоциты, лейкоц./мл Leukocytes, leuk./ml	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Кетоны, ммоль/л Ketones, mmol/l	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Кровь, эритроц./мл Blood, erythr./ml	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Уробилиноген, ммоль/л Urobilinogen, mmol/l	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-

Примечание. Здесь и в табл. 3: «-» – не обнаружено.

Note. Here and in Table 3: “-” – not detected.

Таблица 3. Биохимические показатели мочи крыс после однократного введения минерального комплекса в трех исследуемых дозах

Table 3. Biochemical parameters of rat urine after a single administration of the mineral complex in three study doses

Показатель Parameter	Пол Gender	Доза минерального комплекса Dose of mineral complex			
		контроль control	10-кратная доза 10-fold dose	30-кратная доза 30-fold dose	50-кратная доза 50-fold dose
Плотность, г/см ³ Density, g/cm ³	♂	1,025 (1,025; 1,030)	1,030 (1,025; 1,030)	1,030 (1,025; 1,030)	1,025 (1,025; 1,030)
	♀	1,020 (1,020; 1,025)	1,025 (1,025; 1,030)	1,025 (1,025; 1,030)	1,020 (1,020; 1,030)
рН	♂	7,0 (6,5; 7,0)	7,0 (6,5; 7,0)	6,5 (6,0; 7,0)	7,5 (6,5; 7,0)
	♀	6,5 (6,0; 7,0)	7,0 (6,5; 7,0)	6,5 (6,0; 7,0)	6,5 (6,5; 7,0)
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Белок, мг/дл Protein, mg/dl	♂	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)
	♀	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)	30 (29,7; 30,3)
Лейкоциты, лейкоц./мл Leukocytes, leuk./ml	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Кетоны, ммоль/л Ketones, mmol/l	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Кровь, эритроц./мл Blood, erythr./ml	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-
Уробилиноген, ммоль/л Urobilinogen, mmol/l	♂	-	-	-	-
	♀	-	-	-	-

В ходе исследования не выявлено статистически значимых различий между группами животных, получавших минеральный комплекс, и животными контрольной группы. Отклонений в показателях биохимического анализа мочи от половозрастных норм для крыс не выявлено [Абрашова и др., 2013].

Животные всех исследуемых групп после окончания эксперимента (через 2 недели) были подвергнуты эвтаназии, проведен макроскопический анализ внутренних органов и биохимический анализ крови. По данным вскрытия и макроскопического исследования внутренних органов, различий между животными опытных групп, получавших минеральный комплекс, и контрольной группой не установлено. Данные некропсии показали, что минеральный комплекс не вызывал у животных патологических изменений внутренних органов, не было установлено статистически значимых отклонений в массе органов при сравнении с контролем.

Проведена оценка влияния минерального комплекса на биохимические показатели крови (табл. 4). Статистически значимых различий между показателями животных из опытных групп и группы контроля не выявлено, за исключением содержания общего билирубина. Во всех трех опытных группах содержание общего билирубина в сыворотке крови крыс

было статистически значимо ниже, чем в группе контроля. Однако макроскопический анализ внутренних органов животных, в том числе сердца, печени и почек, не выявил патологических изменений. Существует мнение, что уровень содержания билирубина в крови является значимым маркером для оценки общего антиоксидантного статуса организма. Также показано, что дефицит магния и цинка статистически значимо коррелирует с повышением уровня билирубина, и хронические гепатиты В и С сопровождаются магниевой и цинковой тканевой недостаточностью [Плотникова и др., 2017; Creedon et al., 2021]. Причины пониженного содержания уровня билирубина в крови крыс требуют дальнейшего изучения. Возможно, прием большой дозы магния и цинка в составе минерального комплекса привел к подавлению процессов перекисного окисления и снижению уровня общего билирубина.

В целом изучение основных биохимических показателей сыворотки крови не выявило негативных изменений при действии минерального комплекса после его однократного введения в трех различных дозах со стороны функции печени и почек в сравнении с контролем. Все показатели биохимического анализа соответствовали половозрастным нормам для крыс [Абрашова и др., 2013].

Таблица 4. Биохимические показатели крови крыс через две недели после однократного введения минерального комплекса в трех исследуемых дозах

Table 4. Biochemical parameters of the rats blood two weeks after a single administration of the mineral complex in three study doses

Показатель Parameter	Пол Gender	Доза минерального комплекса Dose of mineral complex			
		контроль control	10-кратная доза 10-fold dose	30-кратная доза 30-fold dose	50-кратная доза 50-fold dose
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	♂	6,9 (6,8; 7,0)	6,8 (6,7; 6,9)	6,7 (6,6; 6,9)	6,9 (6,6; 7,1)
	♀	7,0 (6,8; 7,0)	6,9 (6,7; 7,0)	6,9 (6,8; 7,0)	6,8 (6,7; 7,0)
Общий белок, г/л Totalprotein, g/l	♂	82 (81; 83)	78 (77; 80)	76 (76; 78)	77 (76; 79)
	♀	81(79; 83)	80 (78; 82)	76 (75; 78)	71 (70; 73)
Билирубин общий, мкмоль/л Bilirubintotal, μmol/l	♂	0,30 (0,28; 0,32)	0*	0*	0*
	♀	1,72 (1,70; 1,74)	0*	0*	0*
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/l	♂	44 (42; 46)	46 (45; 47)	44 (42; 46)	49 (48; 49)
	♀	49 (47;52)	43 (41; 45)	38 (37; 39)	45 (43; 47)
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	♂	5,52 (5,31; 5,75)	5,70 (5,51; 5,94)	6,01 (5,85; 6,27)	5,83 (5,54; 6,08)
	♀	5,73 (5,52; 5,98)	6,23 (6,01; 6,49)	7,75 (7,41; 7,94)	6,10 (5,91; 6,25)

Окончание табл. 4
Table 4 (continued)

Показатель Parameter	Пол Gender	Доза минерального комплекса Dose of mineral complex			
		контроль control	10-кратная доза 10-fold dose	30-кратная доза 30-fold dose	50-кратная доза 50-fold dose
АлАТ, ед/л ALT, u/l	♂	66,2 (54,9; 79,1)	71,9 (58,5; 84,6)	67,6 (58,2; 76,7)	82,0 (70,8; 89,2)
	♀	76,1 (62,5; 83,8)	59,0 (50,2; 68,6)	74,9 (61,1; 85,6)	77,5 (68,5; 85,7)
АсАТ, ед/л AST, u/l	♂	123,5 (113,8; 139,2)	130,6 (116,5; 143,2)	155,2 (146,8; 166,9)	153,4 (141,5; 165,4)
	♀	154,9 (140,6; 169,4)	129,8 (118,2; 138,6)	130,9 (114,5; 148,3)	123,4 (111,4; 134,7)
Амилаза, ед/л Amylase, u/l	♂	1250,7 (1216,8; 1284,7)	881,3 (864,3; 904,2)	1019,8 (989,1; 1039,6)	1035,8 (1012,3; 1052,8)
	♀	897,1 (872,6; 917,3)	889,5 (864,2; 903,5)	809,4 (785,6; 823,8)	996,8 (975,8; 1024,9)
Мочевая кислота, мкмоль/л Uricacid, μmol/l	♂	64 (50,6; 75,2)	108 (96,2; 114,3)	86 (77,2; 92,6)	76 (68,2; 86,4)
	♀	74 (60,4; 86,4)	122 (98,6; 143,6)	106 (95,2; 114,3)	94 (83,1; 104,6)

Примечание. *p ≤ 0,05 – относительно контроля.

Note. *p ≤ 0.05 – relative to the control.

Заключение

Проведена оценка острой токсичности минерального комплекса для жителей северных территорий, содержащего кальций, магний, цинк, селен. Результаты исследования острой токсичности, полученные при однократном применении исследуемого минерального комплекса у крыс, свидетельствуют о хорошей переносимости комплекса. Во время эксперимента гибели животных не наблюдалось. Так как введение препарата в дозах, предусмотренных протоколом исследования, не вызывало гибели животных, соответственно, определение значения ЛД₅₀ и ЛД₁₀₀ для групп самцов и самок крыс не представляется возможным. Анализ динамики массы тела крыс не выявил статистически значимых различий между опытными группами и контролем. При биохимическом анализе мочи и крови не выявлено статистически значимых различий между животными, получившими минеральный комплекс, и группой контроля. Отрицательное влияние минерального комплекса на внутренние органы при макроскопическом исследовании не установлено. Согласно полученным результатам, исследуемый минеральный комплекс может быть отнесен к 4-му классу опасности и классифицирован как малоопасный [ГОСТ 12.1.007-76].

Литература

Абрашова Т. В., Гуцин Я. А., Ковалева М. А., Рыбакова А. В., Селезнева А. И., Соколова А. П.,

Ходько С. В. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Науч. ред. В. Г. Макаров, М. Н. Макарова. СПб.: ЛЕМА, 2013. 116 с.

Авдеева О. И., Макарова М. Н., Калатанова А. В., Ковалева М. А. Биоэтические и экономические аспекты в основе выбора метода изучения токсичности лекарственных средств при однократном введении // Лабораторные животные для научных исследований. 2018. № 1. С. 4–11. doi: 10.29296/2618723X-2018-01-01

Варганова Д. В., Виноградова И. А. Мультиминеральный комплекс для профилактики и коррекции региональных микроэлементозов у жителей северных территорий. Патент № 2688682 С1 РФ, заявл. 18.12.2017, опубл. 22.05.2019.

Варганова Д. В., Виноградова И. А., Луговая Е. А. Элементный статус жителей старших возрастных групп Петрозаводска // Успехи геронтологии. 2018. Т. 31, № 2. С. 178–183.

Виноградова И. А., Варганова Д. В., Луговая Е. А. Оценка содержания макро- и микроэлементов у жителей Европейского Севера в зависимости от пола и возраста // Успехи геронтологии. 2021. Т. 34, № 4. С. 572–580. doi: 10.34922/AE.2021.34.4.010

Виноградова И. А., Варганова Д. В., Матвеева Ю. П., Жукова О. В., Луговая Е. А. Актуальность разработки минерального комплекса для профилактики дисэлементозов у жителей Республики Карелия // Успехи геронтологии. 2022. Т. 35, № 4. С. 586.

Горбачев А. Л. Проблемные вопросы минерального обмена у жителей арктических территорий // Вестник уральской академической науки. 2019. Т. 16, № 2. С. 96–102. doi: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-96-102

Горбачев А. Л., Луговая Е. А., Степанова Е. М. Микроэлементный профиль людей старческого возраста Европейского и Азиатского Севера России // Гигиена и санитария. 2016. Т. 95, № 5. С. 432–439. doi: 10.18821/0016-9900-2016-95-5-432-439

ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. 7 с.

Плотникова Е. Ю., Карягина М. С., Шамрай М. А., Зинчук С. Ф., Баранова Е. Н., Максимов С. А. Магниево-цинковый статус у пациентов с хроническими гепатитами В и С // РМЖ. Медицинское обозрение. 2017. № 2. С. 60–64.

Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.

Сухачев В. С., Иванов С. М., Филимонов Д. А., Пороиков В. В. Альтернативные методы исследования. Компьютерная оценка острой токсичности для грызунов // Лабораторные животные для научных исследований. 2019. № 4. С. 25–31. doi: 10.29296/2618723X-2019-04-04

Creeden J. F., Gordon D. M., Stec D. E., Hinds T. D. Jr. Bilirubin as a metabolic hormone: the physiological relevance of low levels // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2021. Vol. 320(2). P. E191–E207. doi: 10.1152/ajpendo.00405.2020

References

Abrashova T. V., Gushchin Ya. A., Kovaleva M. A., Rybakova A. V., Selezneva A. I., Sokolova A. P., Khod'ko S. V. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals. A reference book. St. Petersburg: LEMA; 2013. 116 p. (In Russ.)

Avdeeva O. I., Makarova M. N., Kalatanova A. V., Kovaleva M. A. Bioethical and economic aspects in the basis of a choice of a method of studying of toxicity of medical products at single introduction. *Laboratory Animals for Science*. 2018;1:4–11. doi: 10.29296/2618723X-2018-01-01 (In Russ.)

Creeden J. F., Gordon D. M., Stec D. E., Hinds T. D. Jr. Bilirubin as a metabolic hormone: the physiological relevance of low levels. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2021;320(2):E191–E207. doi: 10.1152/ajpendo.00405.2020

Gorbachev A. L. Problem issues of mineral metabolism among residents of the Arctic territories. *Vestnik ural'skoi akademicheskoi nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*. 2019;16(2):96–102. doi: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-96-102 (In Russ.)

Gorbachev A. L., Lugovaya E. A., Stepanova E. M. Trace element status in old people of European and Asian parts of the North of Russia. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2016;95(5): 432–439. doi: 10.18821/0016-9900-2016-95-5-432-439 (In Russ.)

ГОСТ 12.1.007-76. Occupational safety standards system. Noxious substances. Classification and general safety requirements. 7 p. (In Russ.)

Khabriev R. U. (ed.). Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. 2nd ed., rev. and enlarged. Moscow: Meditsina; 2005. 832 p. (In Russ.)

Plotnikova E. Yu., Karyagina M. S., Shamrai M. A., Zinchuk S. F., Baranova E. N., Maksimov S. A. The magnesium-zinc status at patients with chronic hepatitis B and C. *RMZh. Meditsinskoe obozrenie = Russian Medical Inquiry*. 2017;2:60–64. (In Russ.)

Sukhachev V. S., Ivanov S. M., Filimonov D. A., Poroikov V. V. Alternative Methods of Studies. Computer-Aided Estimation of Rodents Acute Toxicity. *Laboratory Animals for Science*. 2019;4:25–31. doi: 10.29296/2618723X-2019-04-04 (In Russ.)

Varganova D. V., Vinogradova I. A. Multimineral complex for the prevention and correction of regional microelementoses in residents of the northern territories. Patent No. 2688682 C1 RF, appl. 18.12.2017, publ. 22.05.2019. (In Russ.)

Varganova D. V., Vinogradova I. A., Lugovaya E. A. The elemental status of senior residents in Petrozavodsk. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2018;31(2):178–183. (In Russ.)

Vinogradova I. A., Varganova D. V., Lugovaya E. A. Assessment of the content of macro- and microelements in residents of the European North depending on gender and age. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2021;34(4):572–580. doi: 10.34922/AE.2021.34.4.010 (In Russ.)

Vinogradova I. A., Varganova D. V., Matveeva Yu. P., Zhukova O. V., Lugovaya E. A. The relevance of the development of a mineral complex for the diselementosis prevention among residents of the Republic of Karelia. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2022;35(4):586. (In Russ.)

Поступила в редакцию / received: 08.11.2023; принята к публикации / accepted: 16.11.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Виноградова Ирина Анатольевна

д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации с курсами микробиологии и гигиены Медицинского института

e-mail: iri89569627@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Vinogradova, Irina

Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pharmacology, Pharmaceutical Economics and Policy, Institute of Medicine

Варганова Дарья Владимировна

канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакологии, организации и экономики фармации Медицинского института

e-mail: zhurakhovskaya@mail.ru

Матвеева Юлия Павловна

канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, организации и экономики фармации Медицинского института

e-mail: piwitepisma@list.ru

Жукова Оксана Валентиновна

канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, организации и экономики фармации Медицинского института

e-mail: zhykovaokhانا@yandex.ru

Varganova, Dar'ya

Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Pharmaceutical Economics and Policy, Institute of Medicine

Matveeva, Yuliya

Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Pharmaceutical Economics and Policy, Institute of Medicine

Zhukova, Oksana

Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Pharmaceutical Economics and Policy, Institute of Medicine

УДК 577.125.8

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL1RN* С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Л. В. Топчиева^{1*}, В. А. Корнева², Д. А. Аторин¹

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»
(ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910),
*topchieva67@mail.ru

² Петрозаводский государственный университет (просп. Ленина, 33, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910)

Исследован вклад полиморфных маркеров rs2234663 (VNTR) и rs419598 (с.2008Т>С) гена *IL1RN* в предрасположенность населения Карелии к развитию артериальной гипертензии. Встречаемость аллелей и генотипов по указанным маркерам в группе здоровых людей и пациентов с артериальной гипертензией была практически одинаковой ($\chi^2 = 0,178$, $p = 0,67$; $\chi^2 = 0,540$, $p = 0,76$; $\chi^2 = 0,01$, $p = 0,93$, $\chi^2 = 1,68$, $p = 0,43$ соответственно для аллелей и генотипов по rs2234663 и rs419598). Уровень IL-1 β и IL-1 α в плазме здоровых людей не зависел от носительства указанных аллельных вариантов гена *IL1RN*. Количество транскриптов гена молекулы межклеточной адгезии *ICAM1* оказалось выше в лейкоцитах периферической крови здоровых индивидов с генотипом А1А1 по rs2234663 и ТТ по rs419598 по сравнению с носителями альтернативных генотипов ($p < 0,05$). Содержание растворимой формы *ICAM* (sICAM) было выше в плазме здоровых людей с генотипом А1А1, чем у носителей генотипов А1А2 и А2А2 по rs2234663 ($p = 0,02$). Таким образом, ассоциация полиморфных маркеров VNTR и с.2008Т>С гена *IL1RN* с риском развития артериальной гипертензии у населения Республики Карелия не выявлена. Тем не менее обнаружено влияние генотипа по rs2234663 и по rs419598 на уровень транскриптов гена *ICAM1* и rs2234663 – на содержание sICAM позволяет предположить, что указанные полиморфные локусы могут вовлекаться в предрасположенность к формированию стабильно высокого давления крови, вероятно, через регуляцию функций эндотелия сосудов.

Ключевые слова: артериальная гипертензия; аллельный полиморфизм гена *IL1RN*; интерлейкин 1 β , интерлейкин 1 α

Для цитирования: Топчиева Л. В., Корнева В. А., Аторин Д. А. Анализ ассоциации аллельного полиморфизма гена *IL1RN* с развитием артериальной гипертензии // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 106–116. doi: 10.17076/eb1795

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (FMEN-2022-0009).

L. V. Topchieva^{1*}, V. A. Korneva², D. A. Atorin¹. ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF *IL1RN* GENE ALLELIC POLYMORPHISM WITH THE DEVELOPMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION

¹ Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *topchieva67@mail.ru
² Petrozavodsk State University (33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

The contribution of polymorphic markers rs2234663 (VNTR) and rs419598 (c.2008T>C) of the *IL1RN* gene to the predisposition to the development of arterial hypertension among the population of Karelia was studied. The occurrence of alleles and genotypes for these markers was almost the same in the group of healthy people and in patients with arterial hypertension ($\chi^2 = 0.178$, $p = 0.67$; $\chi^2 = 0.540$, $p = 0.76$; $\chi^2 = 0.01$, $p = 0.93$, $\chi^2 = 1.68$, $p = 0.43$, respectively for alleles and genotypes for rs2234663 and rs419598). The level of IL-1 β and IL-1 α in the plasma of healthy people did not depend on the carriage of these allelic variants of the *IL1RN* gene. The number of transcripts of the intercellular adhesion molecule *ICAM1* gene was higher in peripheral blood leukocytes of healthy individuals with the A1A1 genotype for rs2234663 and TT for rs419598 compared with carriers of alternative genotypes ($p < 0.05$). The content of the soluble form of ICAM (sICAM) was higher in the plasma of healthy people with the A1A1 genotype than in carriers of the A1A2 and A2A2 genotypes for rs2234663 ($p = 0.02$). Thus, no association was detected between the polymorphic markers VNTR and c.2008T>C of the *IL1RN* gene and the risk of developing arterial hypertension in inhabitants of the Republic of Karelia. Nevertheless, the observed effect of the rs2234663 and rs419598 genotypes on *ICAM1* level and rs2234663 gene transcripts on sICAM content suggests that these polymorphic loci may be involved in the predisposition to developing steadily high blood pressure, probably through regulation of vascular endothelial functions.

Keywords: arterial hypertension; allelic polymorphism of the *IL1RN* gene; interleukin 1 β ; interleukin 1 α

For citation: Topchieva L. V., Korneva V. A., Atorin D. A. Analysis of the association of *IL1RN* gene allelic polymorphism with the development of arterial hypertension. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 106–116. doi: 10.17076/eb1795

Funding. The study was funded from Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS (FMEN-2022-0009).

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания, в том числе и артериальная гипертензия (АГ), характеризуются активацией клеток врожденного и адаптивного иммунитета, которые вырабатывают ряд про- и противовоспалительных факторов [Agita, Alsagaff, 2017; Mikolajczyk, Guzik, 2019]. Среди них цитокинам семейства IL-1 отводится важнейшая роль в инициации воспалительных реакций [Abbate et al., 2020]. В физиологически нормальных условиях эти цитокины синтезируются в качестве предшественников. IL-1 β в основном продуцируется моноцитами, макрофагами и нейтрофилами в условиях воспаления. Синтез IL-1 α также индуцируется в клетках миелоидного ряда, однако предшественник IL-1 α конститутивно присутствует во всех мезенхимальных клетках, включая клетки миокарда. Зрелый активный

IL-1 β образуется в результате процессинга предшественника после активации инфлам-масы NLRP3 и каспазы 1, после чего он секретируется во внеклеточное пространство. Предшественник IL-1 α высвобождается при некротической гибели клеток, он уже представляет собой активную форму и может индуцировать синтез IL-1 β . IL-1 α также присутствует в мембране клеток и участвует в формировании межклеточных контактов. Как IL-1 α , так и IL-1 β при введении в субнанолярных концентрациях вызывают системное воспаление [Dinarello, 2011]. У здоровых людей экспрессия гена *IL1B* низкая или отсутствует в моноцитах крови, но заметно повышается при патологических состояниях, в том числе и АГ [Топчиева и др., 2023]. Уровень IL-1 β в плазме крови здоровых людей составляет около 0,33 пг/мл [Ter Horst et al., 2016]. У гипертоников его концентрация в плазме значительно

превышает таковую у здоровых индивидов [Tanase et al., 2019].

Биологическая активность IL-1 β и IL-1 α регулируется за счет их связывания с соответствующими рецепторами (IL-1R): IL-1RI и IL-1RII. При этом IL-1 α преимущественно связывается с рецептором типа I, а IL-1 β – с рецептором типа II. В плазме крови обнаруживается растворимая форма IL-1RII, которая действует как рецептор-ловушка для IL-1 β и IL-1 α . Помимо растворимого IL-1RII в модулировании активности этих цитокинов участвует антагонист IL-1Ra, принадлежащий к семейству цитокинов IL-1. Он связывается с рецепторами IL-1 на клетках-мишенях и предотвращает индукцию сигнала от IL-1 β и IL-1 α [Arend et al., 1998]. Дефицит IL-1Ra связан с опасным для жизни системным воспалением с поражением кожи и костей [Aksentijevich et al., 2009]. Лечение этих пациентов с использованием человеческого рекомбинантного IL-1Ra (анакинра) быстро устраняет симптомы системного воспаления. IL-1Ra экспрессируется в виде секреторной (sIL-1Ra) и внутриклеточной (icIL-1Ra) форм, и обе они с высокой аффинностью связываются с IL-1R1, противодействуя эффектам IL-1. Внутриклеточные изоформы служат резервуаром IL-1Ra, который высвобождается при гибели клеток или активно секреторируется, помогая сдерживать воспаление или повреждение тканей [Arend et al., 1998]. Секреторный IL-1Ra продуцируется в основном в иммунных клетках и способен подавлять продукцию нескольких провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-1 β [Arend et al., 1998]. Повышение уровня IL-1Ra наблюдается в сыворотке или воспаленных тканях беременных женщин с преэклампсией [Sothcombe et al., 2015] и пациентов с артериальной гипертензией [Peeters et al., 2001; Roselló-Lletí et al., 2009]. Как оказалось, повышение содержания IL-1Ra в плазме крови может предшествовать формированию стабильно высокого давления крови [Vanhala et al., 2008].

Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что продукция антагониста рецептора IL-1 определяется также генетическими факторами. Известны аллельные варианты гена *IL1RN*, связанные с регуляцией уровня IL-1Ra. Так, аллель 2 по rs2234663 (2 повтора вставки 89 п.о. во втором интроне гена *IL1RN*) (VNTR) ассоциирована с более высоким уровнем IL-1RA [Danis et al., 1995; Hurme, Santtila, 1998]. По данным Vamvakoroulos с соавт. [2002], здоровые носители аллеля 2 *IL1RN* имеют более высокий уровень IL-1RA в плазме, чем лица, в генотипе которых этого аллеля нет. У лиц, имеющих аллель 1, наблюдается

более высокий уровень IL-1 β . Лейкоциты периферической крови, полученные от здоровых людей, имеющих аллель 2, продуцируют более высокий уровень IL-1RA после активации *in vitro* [Danis et al., 1995]. Аллель 2 по полиморфному маркеру VNTR *IL1RN* находится в неравновесии по сцеплению с аллелем C по rs419598 (с.2008T>C) гена *IL1RN* [Clay et al., 1996]. Известно, что rs419598, представляющий собой однонуклеотидную замену (тимин на цитозин) во втором экзоне на антисмысловой цепи, связан с риском артериальной гипертензии [Fragoso et al., 2010]. Тем не менее сведений об ассоциации этих полиморфных вариантов гена *IL1RN* с развитием АГ очень мало в имеющейся на данный момент литературе. Цель исследования – изучить связь аллельных вариантов (rs2234663 и rs419598) гена *IL1RN* с риском развития артериальной гипертензии.

Материалы и методы

В исследование были включены условно здоровые люди и пациенты с диагнозом артериальная гипертензия (I-II стадии), жители Карелии, в основном города Петрозаводска. Для генотипирования по rs2234663 и rs419598 гена *IL1RN* использовали образцы ДНК 148 здоровых людей и 132 пациентов с АГ (средний возраст – $44 \pm 3,85$ и $50,4 \pm 4,82$ соответственно). Диагноз АГ ставили амбулаторно с учетом рекомендаций европейского общества кардиологов по артериальной гипертензии (ESC, 2018) [Williams et al., 2018]. Уровень систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) (однократное измерение) у больных АГ: $136,19 \pm 1,57$ и $82,17 \pm 1,18$ мм рт. ст. соответственно. Креатинин – $86,79 \pm 4,67$ мкмоль/л, индекс массы тела – $26,53 \pm 0,60$ кг/м². Общие критерии исключения для исследования: наличие хронических иммуновоспалительных заболеваний, в том числе сахарного диабета второго типа, злоупотребление алкоголем, курение табака, перенесенные в последние два месяца инфекционные заболевания, индекс массы тела ≥ 28 кг/м². Условно здоровые доноры были подобраны при прохождении диспансеризации. От всех обследованных получено информированное согласие на проведение исследований.

Использовали периферическую кровь, взятую натощак. Из одной пробы крови выделяли ДНК, получали фракцию лейкоцитов и плазму. ДНК выделяли на микроколонках DiaGene («Диаэм», Россия) согласно инструкции к набору. Качество и количество ДНК определяли на спектрофотометре SmartSpecPlus (Bio-Rad, США).

Генотипирование по локусам гена *IL1RN* осуществляли методом ПЦР и ПЦР-ПДРФ анализа. Праймеры для амплификации участка, соответствующего rs419598: прямой 5'gggatgtaac-sagaagaccttctatct, обратный 5'саасссассассасс-тааттгасатт. Праймеры для амплификации локуса rs2234663 указаны в работе [Ramírez-Pérez et al., 2017].

Полимеразную цепную реакцию проводили в термоциклере МахуGene (АхуGene, США) с использованием реактива Screen-Mix HS («Евроген», Россия). Продукты амплификации ДНК, соответствующие rs419598, обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *HpaII* (1 о. е.) («СибЭнзим», Россия) в течение 16 часов. Продукты рестрикции анализировали после электрофоретического разделения в 6% ПААГ. Продукты амплификации локуса rs2234663 анализировали после электрофоретического разделения в 1,5% агарозном геле.

Чтобы исключить влияние провоспалительных стимулов, уровень транскриптов генов *VCAM1* и *ICAM1* исследовали в ЛПК здоровых людей. Для анализа уровня экспрессии генов были случайным образом отобраны образцы тотальной РНК (тотРНК), выделенной из лейкоцитов периферической крови (ЛПК) с использованием реагента PureZole (Bio-Rad, США) условно здоровых доноров (40 человек, возраст 45,0 ± 4,3 года). Качество выделенной тотРНК определяли после электрофоретического разделения в 1% агарозном геле. Количество тотРНК оценивали на спектрофотометре SmartSpecPlus (Bio-Rad, США). ТотРНК обрабатывали ДНКазой (1 о. е.). Первую цепь кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции «MMLV RT kit» («Евроген», Россия). Качество и количество кДНК оценивали на спектрофотометре SmartSpecPlus (Bio-Rad, США). Уровень транскриптов генов изучали методом ПЦР в режиме реального времени на приборе LightCycler (Roche, Германия), используя набор qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Последовательность

праймеров и условия ПЦР-РВ даны в таблице 1. Праймеры для ПЦР конструировали в программе Beacon Designer 5. В качестве референсных генов использовали гены *18S rRNA* и *GAPDH*. Эффективность ПЦР (не менее 98%) оценивали по стандартным кривым. Специфичность продуктов проверяли по кривым плавления. Каждую ПЦР повторяли не менее двух раз. Количество транскриптов оценивали по ΔCt.

Содержание интерлейкина 1 бета (IL-1β), растворимой формы молекулы адгезии сосудистого эндотелия (sVCAM), растворимой формы молекулы межклеточной адгезии (sICAM) в плазме крови 40 условно здоровых доноров (18 мужчин и 22 женщины, возраст 38 ± 3,01 и 41,53 ± 2,35 соответственно) определяли методом иммуноферментного анализа, используя наборы Human ICAM1 ELISA Kit (ELK Biotechnology, Китай), Human sVCAM ELISA Kit (ELK Biotechnology, Китай), ELISA Kit for Interleukin 1 Alpha (IL1a) (Cloud-Clone Corporation, США), «Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ» («Вектор-Бест», Россия), согласно протоколам производителя. Измерения проводили в двукратной аналитической повторности.

Статистическая обработка данных выполнена в пакете программ Statgraphics Centurion XVI (version 16.1.11) и GenAlex6.502. При сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов в группах условно здоровых людей и пациентов с АГ применяли критерий χ^2 . Определяли значения наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности, соответствие равновесию Харди – Вайнберга, отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ) и уровнем значимости, равным 0,05. Согласно тесту Шапиро – Уилка, биохимические показатели распределены ненормально. Значимость различий средних величин оценивали с помощью U-критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Данные представлены в виде медианы, 25% и 75% перцентилей (Q1; Q3). Проведен дисперсионный анализ с использованием H-критерия Краскела –

Таблица 1. Последовательность праймеров для ПЦР-РВ

Table 1. Primer sequence for real-time PCR

Ген Gene	Последовательность праймеров (прямой (F) и обратный (R)) Primer sequence (forward (F) and reverse (R))	Размер ПЦР продукта, п.о. PCR product size, b.p.	Источник Source
<i>18S rRNA</i>	F: AGAACGGCTACCACATCCA R: CACCAGACTTGCCCTCCA	169	Pinto et al., 2010
<i>GAPDH</i>	F: GAAGGTGAAGGTCGGAGTC R: GAAGATGGTGTGGGATTTC	226	Собственный дизайн Authors' design
<i>VCAM1</i>	F: ATGCCTGGGAAGATGGTCCG R: GACGGAGTCACCAATCTGAGC	129	Rajan et al., 2008
<i>ICAM1</i>	F: AGAGGTCTCAGAAGGGACCG R: GGGCCATACAGGACACGAAG	228	Rajan et al., 2008

Уоллиса. Возраст индивидов, включенных в исследование, представлен в виде средних значений и ошибки среднего ($M \pm m$). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Исследования выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования ФИЦ «Карельский научный центр РАН».

Результаты

В исследуемых группах проводился тест на соответствие распределения равновесию Харди – Вайнберга. Отклонение частот генотипов по rs2234663 и rs419598 от равновесия Харди – Вайнберга в группах исследования не выявлено (табл. 2).

Ген *IL1RN* во втором интроне имеет тандемный повтор 86 п. н. (VNTR). VNTR (rs2234663) полиморфный вариант представлен в популяциях пятью аллелями (от *1 до *5), согласно присутствию 4, 2, 5, 3 и 6 копий последова-

тельности из 86 п. о. В исследуемой нами выборке были обнаружены аллели A1 (410 п. о.), A2 (240 п. о.) и A4 (500 п. о.). Частота аллеля A4 в изучаемой выборке – 0,36 %. Один аллель A4 встречался в группе здоровых людей и один аллель A4 – в группе пациентов с АГ.

Частота аллелей и генотипов по rs2234663 в группе здоровых людей и пациентов с АГ не различалась (табл. 2). Встречаемость аллелей и генотипов по rs419598 (с.2008Т>С) в группах исследования была практически одинаковой (табл. 2).

Частота аллеля Т и аллеля С по rs419598 в изучаемой нами выборке не отличалась от частоты этих аллелей среди европейского населения (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs419598>). В базе данных NCBI аллель С обозначен как минорный аллель для европейской популяции с частотой 25 %. В исследуемой нами выборке частота этих аллелей составляет 78 и 22 % соответственно для аллеля Т и С.

Таблица 2. Встречаемость аллелей и генотипов по полиморфным маркерам rs2234663 (VNTR), rs419598 (с.2008Т>С) гена *IL1RN* в группах условно здоровых людей и пациентов с артериальной гипертензией

Table 2. The occurrence of alleles and genotypes for polymorphic markers rs2234663 (VNTR), rs419598 (с.2008Т>С) of the *IL1RN* gene in groups of apparently healthy people and patients with arterial hypertension

Маркер Marker	Аллели и генотипы Alleles and genotypes	Группы Groups								χ^2	Сравни- ваемые аллели и генотипы Comparable alleles and genotypes	ОШ (95% ДИ) OR (95% CI)
		Здоровые люди Healthy people				Пациенты с АГ Patients with hypertension						
		Встречае- мость (%) Occurrence (%)	H _o	H _e	P _{HWE}	Встречае- мость (%) Occurrence (%)	H _o	H _e	P _{HWE}			
rs2234663	A1	220 (75)	0,368	0,381	0,800	192 (73)	0,346	0,395	0,319	0,178 (p=0,674)	A1 vs A2	1,085 (0,743–1,583)
	A2	75 (25)				71 (27)						
	A1A1	84 (56,8)				74 (56,1)				0,540 (p=0,764)	A1A1+A1A2 vs A2A2	1,36 (0,588–3,151)
	A1A2	53 (35,8)				45 (34,1)						
	A2A2	11 (7,4)				13 (9,8)						
rs419598	T	230 (78,0)	0,40	0,34	0,27	206 (78,0)	0,43	0,38	0,05	0,009 (0,926)	T vs C	0,981 (0,658–1,463)
	C	66 (22,0)				58 (22,0)						
	TT	86 (58,1)				75 (56,8)				1,678 (0,433)	CC+TC vs TT	0,802 (0,499–1,289)
	TC	58 (39,2)				56 (42,4)						
	CC	4 (2,7)				1 (0,76)						

Примечание. Данные по встречаемости аллелей и генотипов представлены в виде абсолютных значений, в скобках – в процентном отношении. H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, P_{HWE} – уровень значимости при равновесии Харди – Вайнберга.

Note. Data on the occurrence of alleles and genotypes are given as absolute values, in parentheses – as a percentage. H_o – observed heterozygosity, H_e – expected heterozygosity, P_{HWE} – significance level at Hardy – Weinberg equilibrium.

Содержание IL-1 β и IL-1 α в плазме крови здоровых людей у носителей аллельных вариантов по rs2234663 и rs419598 гена *IL1RN* не различалось (табл. 3). Связь носительства аллельных вариантов по указанным локусам с содержанием IL-1 β и IL-1 α не выявлена (для IL-1 β : $N = 1,48$, $p = 0,22$ и $N = 0,16$, $p = 0,69$ соответственно для rs2234663 и rs419598; для IL-1 α : $N = 1,75$, $p = 0,18$ и $N = 0,01$, $p = 0,92$ соответственно для rs2234663 и rs419598).

Уровень транскриптов гена *VCAM1* в ЛПК здоровых индивидов, имеющих разные аллельные варианты по rs2234663 и rs419598, был практически одинаковым (табл. 3). Содержание мРНК гена *ICAM1* оказалось значимо выше в ЛПК здоровых индивидов с генотипом А1А1 по rs2234663 и генотипом ТТ по rs419598 по сравнению с носителями альтернативных генотипов (табл. 3). Обнаружено влияние генотипа по указанным полиморфным вариантам гена *IL1RN* на уровень транскриптов гена *ICAM1* ($N = 7,37$, $p = 0,007$ и $N = 4,63$, $p = 0,03$ соответственно для rs2234663 и rs419598).

Содержание растворимой формы *VCAM* в плазме здоровых индивидов, носителей разных аллельных вариантов по rs2234663 и rs419598, было практически одинаковым (табл. 3). Содержание s*ICAM* оказалось значимо выше в плазме крови здоровых индивидов, имеющих генотип А1А1 по rs2234663. Различий в содержании s*ICAM* у носителей разных аллельных

вариантов по rs419598 не обнаружено. Выявлено влияние генотипа по rs2234663 на уровень растворимой формы *ICAM* ($N = 5,40$, $p = 0,02$).

Обсуждение

Артериальная гипертензия – заболевание, характеризующееся формированием стабильно высокого давления крови (значения САД – более 130 мм рт. ст. и значения ДАД – более 80 мм рт. ст.). Уровень артериального давления является полигенным признаком, реализующимся за счет взаимодействий ген-ген и ген-среда [Naber, Siffert, 2004]. По данным Giri и соавторов [2019], в настоящее время идентифицировано 505 независимых генных локусов, связанных с одним или несколькими признаками артериального давления: САД, ДАД и пульсовым давлением. В другой работе указывается более 900 генных локусов, участвующих в регуляции артериального давления [Evangelou et al., 2018].

В патогенезе АГ и, возможно, ее этиологии играет важную роль хроническое вялотекущее воспаление, сопровождающееся повышением содержания провоспалительных белков в плазме крови [Srivastava et al., 2016]. Показано, что их уровень даже у здоровых людей весьма вариабелен и может определяться наличием мутаций в регуляторных и структурных областях кодирующих их генов [Humphries et al., 2001;

Таблица 3. Содержание IL-1 β , s*VCAM*, s*ICAM* в плазме крови и уровень транскриптов генов *VCAM1*, *ICAM1* в ЛПК здоровых людей, имеющих в генотипе разные аллельные варианты по rs2234663 и rs419598

Table 3. The content of IL-1 β , s*VCAM*, s*ICAM* in blood plasma and the *VCAM1*, *ICAM1* genes transcripts level in PBL of healthy people with different allelic variants for rs2234663 and rs419598

Показатель Index	Rs2234663		p	Rs419598		p
	A1A1 (N=21)	A1A2+A2A2 (N=19)		ТТ (N=17)	ТС+СС (N=23)	
IL-1 β , пг/мл IL-1 β , pg/ml	1,33 (0,84–3,33)	2,00 (1,50–4,00)	0,26	2,33 (1,17–3,67)	1,84 (1,33–3,00)	0,87
IL-1 α , пг/мл IL-1 α , pg/ml	5,333 (4,571–6,095)	4,762 (4,190–5,333)	0,152	4,762 (4,381–5,687)	4,933 (4,190–5,333)	0,967
Уровень транскриптов <i>VCAM1</i> , отн. ед. <i>VCAM1</i> transcript level, relative units	0,00095 (0,0006–0,0013)	0,0011 (0,00059–0,0044)	0,48	0,00095 (0,0006–0,0020)	0,0011 (0,0007–0,0064)	0,25
Уровень транскриптов <i>ICAM1</i> , отн. ед. <i>ICAM1</i> transcript level, relative units	0,103 (0,038–0,117)	0,048 (0,029–0,081)	0,03	0,114 (0,081–0,180)	0,070 (0,038–0,101)	0,006
s <i>VCAM</i> , пг/мл s <i>VCAM</i> , pg/ml	0,600 (0,433–0,688)	0,600 (0,511–0,713)	0,967	0,559 (0,433–0,688)	0,545 (0,434–0,712)	0,510
s <i>ICAM</i> , пг/мл s <i>ICAM</i> , pg/ml	681 (464,85–828,50)	493,30 (209,71–547,01)	0,022	573,96 (464,85–821,50)	541,82 (450,00–593,91)	0,25

Примечание. Данные представлены в виде медианы с указанием 25% и 75% перцентилей (Q1; Q3). N – количество людей.
Note. Data are given as a median with 25% and 75% percentiles (Q1; Q3). N is the number of people.

Flores-Alfaro et al., 2012]. Таким образом, аллельный полиморфизм генов, кодирующих провоспалительные белки, может влиять на уровень артериального давления и предрасположенность людей к формированию стабильно высокого давления крови.

Существенную роль в патогенезе артериальной гипертензии играет интерлейкин-1 β [Tanase et al., 2019]. Повышение его уровня в условиях воспаления связано с активацией инфламмосомы NLRP3 в клетках врожденного иммунитета и влечет за собой изменение функций гладкомышечных клеток, ремоделирование стенок сосудов [Tanase et al., 2019]. У здоровых людей вариабельность уровня IL-1 β может определяться генетическими факторами, а именно аллельными вариантами гена *IL1B* и, как оказалось, гена *IL1RN*, кодирующего антагонист рецептора IL-1. Так, замена цитозина на тимин в позиции -31 промотора (rs1143627) гена *IL1B* приводит к усилению сродства транскрипционных факторов C/EBP β и PU.1 и способствует повышению продукции IL-1 β [Zhang et al., 2014]. Как уже отмечено во введении, аллельный полиморфизм гена *IL1RN* связан с вариабельностью уровня IL-1Ra и IL-1 β . В частности, здоровые индивиды с двумя повторами вставки 89 п. о. во втором интроне гена *IL1RN* (rs2234663) имеют более высокий уровень IL-1RA в плазме, чем лица, в генотипе которых этого аллеля нет [Vamvakopoulos et al., 2002]. Наличие в генотипе четырех повторов вставки (аллель A1) ассоциировано с более высоким уровнем IL-1 β в плазме [Vamvakopoulos et al., 2002]. Вероятно, это может объяснять связь носительства аллельных вариантов по указанному rs с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний. Так, обнаружено, что VNTR полиморфный локус гена *IL1RN* связан с риском развития коронарной болезни сердца у жителей Великобритании [Francis et al., 1999] и Мексики [Fragoso et al., 2010], с повышенным риском АГ у австралийцев [Lin, Morris, 2002]. В нашем исследовании мы не выявили ассоциацию полиморфного локуса rs2234663 с развитием артериальной гипертензии у жителей Карелии. Локус rs2234663 находится в неравновесии по сцеплению с rs419598, который представляет собой замену тимина на цитозин в положении +2018 в экзоне 2 гена *IL1RN*. Замена тимина на цитозин в этой позиции не приводит к изменению аминокислотной последовательности белка. Ассоциация указанного полиморфного маркера с риском развития АГ установлена для жителей Мексики [Fragoso et al., 2010]. Связь полиморфного маркера rs419598 (с.2008T>C) гена *IL1RN* с развитием АГ у жителей Карелии не выявлена.

Аллельный полиморфизм генов вовлекается в патогенез заболеваний в основном через изменение функциональной активности или содержания белков. Как показано в нашем исследовании, полиморфные маркеры rs2234663 и rs419598, вероятно, не связаны с изменением уровня IL-1 β и IL-1 α у здоровых людей. Тем не менее указанные полиморфные маркеры могут быть вовлечены в патогенез АГ. Об этом свидетельствуют обнаруженные в нашей работе различия в уровне транскриптов гена молекулы межклеточной адгезии *ICAM1* в ЛПК и растворимой формы ICAM в плазме у здоровых индивидов, имеющих разные аллельные варианты гена *IL1RN*. Как оказалось, более высокие значения транскрипционной активности гена *ICAM1* и содержания sICAM1 были у здоровых людей с генотипом A1A1, который, по данным литературы, ассоциирован с более высоким уровнем IL-1 β и более низким уровнем IL-1Ra [Vamvakopoulos et al., 2002]. Также выявлено меньшее количество транскриптов гена *ICAM1* в ЛПК индивидов, имеющих аллель С в генотипе по полиморфному маркеру с.2008T>C по сравнению с носителями альтернативных генотипов. Как указано выше, этот аллель находится в неравновесии по сцеплению с аллелем А2 по rs2234663, ассоциированным с более высоким уровнем IL-1RA в плазме крови [Clay et al., 1996].

Повышение содержания IL-1 β в плазме увеличивает адгезию клеточного матрикса и индуцирует перераспределение активных интегринов β 1 на базальную поверхность клеток эндотелия [Labus et al., 2018]. При этом изменяется локализация белка плотных контактов клаудина-5 [Labus et al., 2018]. Таким образом, воспаление, вызванное повышенным содержанием IL-1 β , не только дестабилизирует плотные контакты, но также увеличивает α 5 β 1-интегрин-зависимую адгезию клеточного матрикса к фибронектину, усиливая трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов.

Согласно данным литературы, различные стимулы, такие как свободные жирные кислоты или кристаллы оксалатов, индуцируют экспрессию IL-1 α на поверхности моноцитов и его секрецию во внеклеточное пространство [Schunk et al., 2021]. Это способствует адгезии моноцитов на поверхности эндотелия через рецептор IL-1-1. Повышение содержания IL-1 α также может усиливать экспрессию VCAM1 на поверхности эндотелиальных клеток, тем самым способствуя адгезии циркулирующих лейкоцитов и усилению трансэндотелиальной миграции [Schunk et al., 2021]. Следовательно, можно предположить, что

полиморфные маркеры rs2234663 (VNTR), rs419598 (с.2008Т>С) гена *IL1RN* могут вносить вклад в патогенез АГ посредством влияния на биологическую активность IL-1 β и IL-1 α и, вероятно, функции эндотелия.

Выводы

Полиморфные маркеры rs2234663 (VNTR) и rs419598 (с.2008Т>С) гена *IL1RN* не вносят вклад в предрасположенность населения Республики Карелия к развитию артериальной гипертензии. Носительство аллельных вариантов по полиморфным маркерам rs2234663 (VNTR) и rs419598 (с.2008Т>С) гена *IL1RN* может быть связано с вариабельностью содержания молекул клеточной адгезии у здоровых людей и, вероятно, с показателями функций эндотелия.

Литература

- Топчиева Л. В., Курбатова И. В., Малышева И. Е., Корнева В. А., Топчиева А. В. Аллельный полиморфизм генов, вовлеченных в продукцию IL-1 β , и предрасположенность людей к развитию артериальной гипертензии // Научные результаты биомедицинских исследований. 2023. Т. 9, № 1. С. 53–70. doi: 10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-4
- Abbate A., Toldo S., Marchetti C., Kron J., Van Tassell B. W., Dinarello C. A. Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease // *Circ. Res.* 2020. Vol. 126, no. 9. P. 1260–1280. doi: 10.1161/circresaha.120.315937
- Agita A., Alsagoff M. T. Inflammation, immunity, and hypertension // *Acta Med. Indones.* 2017. Vol. 49, no. 2. P. 158–165.
- Aksentijevich I., Masters S. L., Ferguson P. J. et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist // *N. Eng. J. Med.* 2009. Vol. 360. P. 2426–2437. doi: 10.1056/NEJMoa0807865
- Arend W. P., Malyak M., Guthridge C. J., Gabay C. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology // *Annu. Rev. Immunol.* 1998. Vol. 16. P. 27–55.
- Clay F. E., Tarlow J. K., Cork M. J., Cox A., Nicklin M. J. H., Duff G. W. Novel interleukin-1 receptor antagonist exon polymorphisms and their use in allele-specific mRNA assessment // *Hum. Genet.* 1996. Vol. 97. P. 723–726. doi: 10.1007/BF02346180
- Danis V. A., Millington M., Hyland V. J., Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism // *Clin. Exp. Immunol.* 1995. Vol. 99, no. 2. P. 303–310. doi: 10.1111/j.1365-2249.1995.tb05549.x
- Dinarello C. A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases // *Blood.* 2011. Vol. 117. P. 3720–3732. doi: 10.1182/blood-2010-07-273417
- Evangelou E., Warren H. R., Mosen-Ansorena D. et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits // *Nat. Genet.* 2018. Vol. 50, no. 10. P. 1412–1425. doi: 10.1038/s41588-018-0205-x
- Flores-Alfaro E., Fernández-Tilapa G., Salazar-Martínez E., Cruz M., Illades-Aguilar B., Parra-Rojas I. Common variants in the CRP gene are associated with serum C-reactive protein levels and body mass index in healthy individuals in Mexico // *Genet. Mol. Res.* 2012. Vol. 11, no. 3. P. 2258–2267. doi: 10.4238/2012.May.14.5
- Fragoso J. M., Delgadillo H., Llorente L., Chuquiure E., Juárez-Cedillo T., Vallejo M., Lima G., Furuzawa-Carballeda J., Peña-Duque M. A., Martínez-Ríos M. A., Vargas-Alarcón G. Interleukin 1 receptor antagonist polymorphisms are associated with the risk of developing acute coronary syndrome in Mexicans // *Immunol. Lett.* 2010. Vol. 133, no. 2. P. 106–111. doi: 10.1016/j.imlet.2010.08.003
- Francis S. E., Camp N. J., Dewberry R. M., Gunn J., Syrris P., Carter N. D., Jeffery S., Kaski J. C., Cumberland D. C., Duff G. W., Crossman D. C. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease // *Circulation.* 1999. Vol. 99, no. 7. P. 861–866. doi: 10.1161/01.cir.99.7.861
- Giri A., Hellwege J. N., Keaton J. M. et al. Trans-ethnic association study of blood pressure determinants in over 750,000 individuals // *Nat. Genet.* 2019. Vol. 51, no. 1. P. 51–62. doi: 10.1038/s41588-018-0303-9
- Huang G., Niu T., Peng S., Ling D., Liu J., Zhang X., Xu X. Association between the interleukin- β C(–511)T polymorphism and blood pressure in a Chinese hypertensive population // *Immunol. Lett.* 2004. Vol. 91, no. 2-3. P. 159–162. doi: 10.1016/j.imlet.2003.11.009
- Humphries S. E., Luong L. A., Ogg M. S., Howe E., Miller G. J. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men // *Eur. Heart J.* 2001. Vol. 22, no. 24. P. 2243–2252. doi: 10.1053/euhj.2001.2678
- Hurme M., Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes // *Eur. J. Immunol.* 1998. Vol. 28, no. 8. P. 2598–2602.
- Labus J., Wöltje K., Stolte K. N., Häckel S., Kim S. K., Hildmann A., Danker K. IL-1 β promotes transendothelial migration of PBMCs by upregulation of the FN/ $\alpha_5\beta_1$ signalling pathway in immortalised human brain microvascular endothelial cells // *Exp. Cell Res.* 2018. Vol. 373. P. 99–111. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.10.002
- Lin R. C. Y., Morris B. J. Association analysis of polymorphisms at the interleukin-1 locus in essential hypertension // *Am. J. Med. Genet.* 2002. Vol. 107, no. 4. P. 311–316. doi: 10.1002/ajmg.10177
- Mikolajczyk T. P., Guzik T. J. Adaptive immunity in hypertension // *Curr. Hypertens. Rep.* 2019. Vol. 21, no. 9. P. 68. doi: 10.1007/S11906-019-0971-6
- Naber C. K., Siffert W. Genetics of human arterial hypertension // *Minerva Med.* 2004. Vol. 95, no. 5. P. 347–356.
- Peeters A. C., Netea M. G., Janssen M. C., Kullberg B. J., Van der Meer J. W., Thien T. Proinflammatory cytokines in patients with essential hypertension // *Eur. J. Clin. Invest.* 2001. Vol. 31. P. 31–36. doi: 10.1046/j.1365-2362.2001.00743.x

Pinto J. P., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. Hecpidin messenger RNA expression in human lymphocytes // *Immunol.* 2010. Vol. 130, no. 2. P. 217–230. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x

Rajan S., Ye J., Bai S., Huang F., Guo Y. L. NF- κ B, but not p38 MAP kinase, is required for TNF- α -induced expression of cell adhesion molecules in endothelial cells // *J. Cell. Biochem.* 2008. Vol. 105, no. 2. P. 477–486.

Ramírez-Pérez S., Salazar-Páramo M., Pineda-Monjarrás S., De la Cruz-Mosso U., Hernández-Bello J., Martínez-Bonilla G. E., Pereira-Suárez A. L., Muñoz-Valle J. F. Association of 86 bp variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism of interleukin-1 receptor antagonist (IL1RN) with susceptibility and clinical activity in rheumatoid arthritis // *Clin. Rheumatol.* 2017. Vol. 36. P. 1247–1252. doi: 10.1007/s10067-017-3610-0

Roselló-Lletí E., Rivera M., Martínez-Dolz L., González Juanatey J. R., Cortés R., Jordán A., Morillas P., Lauwers C., Calabuig J. R., Antorrena I., de Rivas B., Portolés M., Bertomeu V. Inflammatory activation and left ventricular mass in essential hypertension // *Am. J. Hypertens.* 2009. Vol. 22, no. 4. P. 444–450. doi: 10.1038/ajh.2008.369

Schunk S. J., Triem S., Schmit D. et al. Interleukin-1 α is a central regulator of leukocyte-endothelial adhesion in myocardial infarction and in chronic kidney disease // *Circulation.* 2021. Vol. 144, no. 11. P. 893–908. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.053547

Sothcombe J. H., Redman C. W. G., Sargent I. L., Granne I. Interleukin-1 family cytokines and their regulatory proteins in normal pregnancy and pre-eclampsia // *Clin. Exp. Immunol.* 2015. Vol. 181. P. 480–490. doi: 10.1111/cei.12608

Srivastava K., Narang R., Bhatia J., Saluja D. Expression of heat shock protein 70 gene and its correlation with inflammatory markers in essential hypertension // *PLOS One.* 2016. Vol. 11, no. 3: e0151060. doi: 10.1371/journal.pone.0151060

Tanase D. M., Gosav E. M., Radu S., Ouatu C. R., Ciocoiu M., Costea C. F., Floria M. Arterial hypertension and interleukins: potential therapeutic target or future diagnostic marker? // *Int. J. Hypertens.* 2019. Article ID 3159283. doi: 10.1155/2019/3159283

Ter Horst R., Jaeger M., Smeekens S. P. et al. Host and environmental factors influencing individual human cytokine responses // *Cell.* 2016. Vol. 167. P. 1111–1124. Art. e13. doi: 10.1016/j.cell.2016.10.018

Vamvakopoulos J., Green C., Metcalfe S. Genetic control of IL-1 β bioactivity through differential regulation of the IL-1 receptor antagonist // *Eur. J. Immunol.* 2002. Vol. 32, no. 10. P. 2988–2996.

Vanhala M., Kautiainen H., Kumpusalo E. Proinflammation and hypertension: population-based study // *Mediators of Inflammation.* 2008. Article ID 619704. doi: 10.1155/2008/619704

Williams B., Mancia G., Spiering W. et al. Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension // *Blood Pressure.* 2018. Vol. 27, no. 6. P. 314–340. doi: 10.1080/08037051.2018.1527177

Zhang G., Zhou B., Li S. et al. Allele-specific induction of IL-1 β expression by C/EBP β and PU.1 contributes to increased tuberculosis susceptibility // *PLOS Pathogens.* 2014. Vol. 10. Art. e1004426. doi: 10.1371/journal.ppat.1004426

References

Abbate A., Toldo S., Marchetti C., Kron J., Van Tassel B. W., Dinarello C. A. Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2020;126(9):1260–1280. doi: 10.1161/circresaha.120.315937

Agita A., Alsagoff M. T. Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Med. Indones.* 2017; 49(2):158–165.

Aksentijevich I., Masters S. L., Ferguson P. J., Danzey P. et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *N. Eng. J. Med.* 2009;360:2426–2437. doi: 10.1056/NEJMoa0807865

Arend W. P., Malyak M., Guthridge C. J., Gabay C. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Ann. Rev. Immunol.* 1998;16:27–55.

Clay F. E., Tarlow J. K., Cork M. J., Cox A., Nicklin M. J. H., Duff G. W. Novel interleukin-1 receptor antagonist exon polymorphisms and their use in allele-specific mRNA assessment. *Hum. Genet.* 1996;97:723–726. doi: 10.1007/BF02346180

Danis V. A., Millington M., Hyland V. J., Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin. Exp. Immunol.* 1995;99(2):303–310. doi: 10.1111/j.1365-2249.1995.tb05549.x

Dinarello C. A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011;117:3720–32. doi: 10.1182/blood-2010-07-273417

Evangelou E., Warren H. R., Mosen-Ansorena D. et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. *Nat. Genet.* 2018;50(10):1412–1425. doi: 10.1038/s41588-018-0205-x

Flores-Alfaro E., Fernández-Tilapa G., Salazar-Martínez E., Cruz M., Illades-Aguilar B., Parra-Rojas I. Common variants in the CRP gene are associated with serum C-reactive protein levels and body mass index in healthy individuals in Mexico. *Genet. Mol. Res.* 2012;11(3): 2258–2267. doi: 10.4238/2012.May.14.5

Fragoso J. M., Delgadillo H., Llorente L., Chuquiure E., Juárez-Cedillo T., Vallejo M., Lima G., Furuzawa-Carballeda J., Peña-Duque M. A., Martínez-Ríos M. A., Vargas-Alarcón G. Interleukin 1 receptor antagonist polymorphisms are associated with the risk of developing acute coronary syndrome in Mexicans. *Immunol. Lett.* 2010;133(2):106–111. doi: 10.1016/j.imlet.2010.08.003

Francis S. E., Camp N. J., Dewberry R. M., Gunn J., Syrris P., Carter N. D., Jeffery S., Kaski J. C., Cumberland D. C., Duff G. W., Crossman D. C. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease. *Circulation.* 1999;99(7):861–866. doi: 10.1161/01.cir.99.7.861

Giri A., Hellwege J. N., Keaton J. M. et al. Trans-ethnic association study of blood pressure determinants

in over 750,000 individuals. *Nat. Genet.* 2019;51(1): 51–62. doi: 10.1038/s41588-018-0303-9

Huang G., Niu T., Peng S., Ling D., Liu J., Zhang X., Xu X. Association between the interleukin-1 β C(–511)T polymorphism and blood pressure in a Chinese hypertensive population. *Immunol. Lett.* 2004;91(2-3):159–162. doi: 10.1016/j.imlet.2003.11.009

Humphries S. E., Luong L. A., Ogg M. S., Hawe E., Miller G. J. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur. Heart J.* 2001;22(24):2243–2252. doi: 10.1053/euhj.2001.2678

Hurme M., Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur. J. Immunol.* 1998;28(8):2598–2602.

Labus J., Wöltje K., Stolte K. N., Häckel S., Kim S. K., Hildmann A., Danker K. IL-1 β promotes transendothelial migration of PBMCs by upregulation of the FN/ $\alpha_5\beta_1$ signalling pathway in immortalised human brain microvascular endothelial cells. *Exp. Cell Res.* 2018;373:99–111. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.10.002

Lin R. C. Y., Morris B. J. Association analysis of polymorphisms at the interleukin-1 locus in essential hypertension. *Am. J. Med. Genet.* 2002;107(4):311–316. doi: 10.1002/ajmg.10177

Mikolajczyk T. P., Guzik T. J. Adaptive immunity in hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 2019;21(9):68. doi: 10.1007/S11906-019-0971-6

Naber C. K., Siffert W. Genetics of human arterial hypertension. *Minerva Med.* 2004;95(5):347–356.

Peeters A. C., Netea M. G., Janssen M. C., Kullberg B. J., Van der Meer J. W., Thien T. Proinflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001;31:31–36. doi: 10.1046/j.1365-2362.2001.00743.x

Pinto J. P., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. *Immunol.* 2010;130(2): 217–230. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x

Rajan S., Ye J., Bai S., Huang F., Guo Y. L. NF- κ B, but not p38 MAP kinase, is required for TNF- α -induced expression of cell adhesion molecules in endothelial cells. *J. Cell. Biochem.* 2008;105(2):477–486.

Ramírez-Pérez S., Salazar-Páramo M., Pineda-Monjarás S., De la Cruz-Mosso U., Hernández-Bello J., Martínez-Bonilla G. E., Pereira-Suárez A. L., Muñoz-Valle J. F. Association of 86 bp variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism of interleukin-1 receptor antagonist (IL1RN) with susceptibility and clinical activity in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2017;36:1247–1252. doi: 10.1007/s10067-017-3610-0

Roselló-Lletí E., Rivera M., Martínez-Dolz L., González Juanatey J. R., Cortés R., Jordán A., Morillas P., Lauwers C., Calabuig J. R., Antorrena I., de Rivas B., Portolés M., Bertomeu V. Inflammatory activation and left

ventricular mass in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2009;22(4):444–450. doi: 10.1038/ajh.2008.369

Schunk S. J., Triem S., Schmit D. et al. Interleukin-1 α is a central regulator of leukocyte-endothelial adhesion in myocardial infarction and in chronic kidney disease. *Circulation.* 2021;144(11):893–908. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.053547

Sothcombe J. H., Redman C. W. G., Sargent I. L., Granne I. Interleukin-1 family cytokines and their regulatory proteins in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Clin. Exp. Immunol.* 2015;181:480–490. doi: 10.1111/cei.12608

Srivastava K., Narang R., Bhatia J., Saluja D. Expression of heat shock protein 70 gene and its correlation with inflammatory markers in essential hypertension. *PLOS One.* 2016;11(3):e0151060. doi: 10.1371/journal.pone.0151060

Tanase D. M., Gosav E. M., Radu S., Ouatu C. R., Ciocoiu M., Costea C. F., Floria M. Arterial hypertension and interleukins: potential therapeutic target or future diagnostic marker? *Int. J. Hypertens.* 2019;3159283. doi: 10.1155/2019/3159283

Ter Horst R., Jaeger M., Smeekens S.P., Oosting M., Swertz M. A., Li Y., Kumar V., Diavtopoulos D. A., Jansen A. F. M., Lemmers H., Toenhake-Dijkstra H., van Herwaarden A. E., Janssen M., van der Molen R. G., Joosten I., Sweep F. C. G. J., Smit J. W., Netea-Maier R. T., Koenders M. M. J. F., Xavier R. J., van der Meer J. W. M., Dinarello C. A., Pavelka N., Wijmenga C., Netea M. G. Host and environmental factors influencing individual human cytokine responses. *Cell.* 2016;167:1111–1124. doi: 10.1016/j.cell.2016.10.018

Topchieva L. V., Kurbatova I. V., Malysheva I. E., Korneva V. A., Topchieva A. V. Allelic polymorphism of genes involved in IL-1 β production and predisposition of people to the development of arterial hypertension. *Research Results in Biomedicine.* 2023;9(1):53–70. doi: 10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-4 (In Russ.)

Vamvakopoulos J., Green C., Metcalfe S. Genetic control of IL-1 β bioactivity through differential regulation of the IL-1 receptor antagonist. *Eur. J. Immunol.* 2002;32(10):2988–2996.

Vanhala M., Kautiainen H., Kumpusalo E. Proinflammation and hypertension: population-based study. *Mediators of Inflammation.* 2008;6:19704. doi: 10.1155/2008/619704

Williams B., Mancia G., Spiering W. et al. Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *Blood Pressure.* 2018;27(6):314–340. doi: 10.1080/08037051.2018.1527177

Zhang G., Zhou B., Li S. et al. Allele-specific induction of IL-1 β expression by C/EBP β and PU.1 contributes to increased tuberculosis susceptibility. *PLOS Pathogens.* 2014;10:e1004426. doi: 10.1371/journal.ppat.1004426

Поступила в редакцию / received: 26.06.2023; принята к публикации / accepted: 10.07.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**Топчиева Людмила Владимировна**

канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генетики

e-mail: topchieva67@mail.ru

Корнева Виктория Алексеевна

канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии Медицинского института

e-mail: vikkorneva@mail.ru

Аторин Даниил Алексеевич

стажер-исследователь лаборатории генетики

e-mail: atorin98@mail.ru

CONTRIBUTORS:**Topchieva, Lyudmila**

Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher

Korneva, Viktoria

Cand. Sci. (Med.), Associate Professor

Atorin, Daniil

Research Assistant

УДК 581.1

УРОВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЛИСТЬЯХ *VACCINIUM MYRTILLUS* L. В УСЛОВИЯХ ЛЕСОПАРКОВОГО ЗЕЛЕННОГО ПОЯСА Г. КИРОВА

Н. Ю. Егорова^{1, 2*}, А. С. Сюткина^{1, 2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б. М. Житкова (ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000), *n_chirkova@mail.ru

² Вятский государственный агротехнологический университет (Октябрьский пр., 133, Киров, Россия, 610000)

Представлены сведения об интенсивности процессов перекисного окисления липидов в листьях *Vaccinium myrtillus* L. (сем. Ericaceae Juss.) в различных эколого-ценотических условиях. Исследования проводили в вегетационный сезон 2022 года в лесных фитоценозах в травяно-кустарничковом ярусе с участием *V. myrtillus* в пределах лесопаркового зеленого пояса г. Кирова (подзона южной тайги). Активность перекисного окисления липидов оценивали по содержанию в листьях продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Установлено, что интенсивность процессов окисления липидов, которую определяли по накоплению малонового диальдегида, в ельниках характеризуется более низкими значениями (0,026–0,028 мМоль/г сырой массы) по сравнению с сосняками, где его концентрация в листьях достигала 0,031 мМоль/г сырой массы. Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о высокой положительной связи между интенсивностью накопления малонового диальдегида и освещенностью ($r = 0,90$ при $p \leq 0,05$) в местообитаниях *V. myrtillus* и отрицательной корреляционной связи ($r = -0,90$ при $p \leq 0,05$) между концентрацией малонового диальдегида и богатством почв азотом в рассматриваемых биотопах. Полученные результаты свидетельствуют, что в более освещенных и бедных питательными веществами экотопах, которые соответствуют условиям местообитания вида в сосняках, происходит активизация процессов формирования и накопления малонового диальдегида по сравнению с ельниками, для которых изменения содержания малонового диальдегида в рассматриваемые периоды вегетации менее значительны.

Ключевые слова: *Vaccinium myrtillus* L.; окислительный стресс; перекисное окисление липидов; малоновый диальдегид; эколого-ценотические условия

Для цитирования: Егорова Н. Ю., Сюткина А. С. Уровень перекисного окисления липидов в листьях *Vaccinium myrtillus* L. в условиях лесопаркового зеленого пояса г. Кирова // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 117–125. doi: 10.17076/eb1754

N. Yu. Egorova^{1,2*}, A. S. Syutkina^{1,2}. LIPID PEROXIDATION LEVELS IN LEAVES OF VACCINIUM MYRTILLUS L. IN URBAN FORESTS OF THE KIROV CITY'S GREEN BELT

¹ Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming (79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia), *n_chirkova@mail.ru

² Vyatsky State Agrotechnological University (133 Oktyabrsky Ave., 610000 Kirov, Russia)

The paper presents data on the rates of lipid peroxidation processes in leaves of *Vaccinium myrtillus* L. (family Ericaceae Juss.) under various ecosociological conditions. The studies were carried out in the growing season of 2022 in urban forest communities with *V. myrtillus* in the field layer in Kirov City's green belt (southern taiga subzone). The activity of lipid peroxidation was estimated from the foliar content of products that react with thiobarbituric acid. We found that the rate of lipid oxidation processes, as represented by the accumulation of malonic dialdehyde, was lower in spruce forests (0.026–0.028 mmol/g wet weight) compared to pine forests, where its concentration in leaves reached 0.031 mmol/g wet weight. The results of correlation analysis indicate a strong positive relationship to exist between the rate of malonic dialdehyde accumulation and illuminance ($r = 0.90$ at $p \leq 0.05$) in the habitats of *V. myrtillus* and a negative relationship ($r = -0.90$ at $p \leq 0.05$) between the concentration of malonic dialdehyde and soil nitrogen richness in the habitats. The research results indicate that in better illuminated and nutrient-poor habitats, such as found in pine forests, the processes of malonic dialdehyde production and accumulation in this species are activated, as opposed to spruce forests, where changes in the content of malonic dialdehyde over the studied growth periods were less significant.

Keywords: *Vaccinium myrtillus* L.; oxidative stress; lipid peroxidation; malonic dialdehyde; ecosociological conditions

For citation: Egorova N. Yu., Syutkina A. S. Lipid peroxidation levels in leaves of *Vaccinium myrtillus* L. in urban forests of the Kirov City's green belt. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 117–125. doi: 10.17076/eb1754

Введение

В течение своего индивидуального развития растительные организмы в природных условиях подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды. Способность растений приспосабливаться к ним и сохранять при этом жизненный потенциал является одним из определяющих условий существования видов в ценозе и зависит от возможности реализовать защитно-приспособительные механизмы, т. е. адаптироваться к разнообразным стрессовым воздействиям [Шакирова, 2001].

К настоящему времени получены многочисленные данные, свидетельствующие о том, что адаптация растений к условиям произрастания связана с антиоксидантной системой защиты, в том числе с инициацией перекисного окисления липидов (ПОЛ). С одной стороны, в оптимальных условиях генерация активных форм кислорода (АФК) представляет собой неотъемлемую часть жизненного процесса растительного организма, но под влиянием абиотических стресс-факторов их уровень в клетках может резко возрасти и вызвать развитие окислительного стресса. Следствием этого являются интенсификация ПОЛ, повреждения органелл, мембран,

структуры нуклеиновых кислот и денатурация белков. С другой стороны, инициация ПОЛ и генерация АФК выступают в качестве своеобразного «счетчика» стрессовой нагрузки, запуская в определенный момент работу антиоксидантной системы [Лукаткин, Голованова, 1988; Mittler, 2002; Kaur, Gupta, 2005; Половинкина и др., 2011; Розенцвет и др., 2014; Koliupaev et al., 2019; Kerchev, Van Breusegem, 2022].

Как показывает анализ литературных данных, объектами большинства исследований активности процессов ПОЛ являются растения, произрастающие на урбанизированных территориях и в условиях техногенного воздействия [Петухов и др., 2018]. Тогда как сведений о количественном содержании малонового диальдегида (МДА), показателя антиоксидантного стресса, в дикорастущих ягодных и лекарственных растениях, являющихся важными компонентами трофических цепей, в литературных источниках крайне мало. В связи с этим актуальность оценки адаптивного потенциала растений – эдификаторов растительных сообществ, основанной на изучении их биохимической устойчивости при воздействии стрессовых факторов окружающей среды, не вызывает сомнений.

Объектом настоящего исследования является черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L., сем. Ericaceae Juss.) – листопадный, вегетативно-подвижный явнополицентрический кустарничек, хамефит.

Черника обыкновенная широко распространена в Кировской области. Наиболее часто этот вид является доминантом или субдоминантом травяно-кустарничкового яруса преимущественно средневозрастных, спелых, припевающих низко- и среднеполнотных хвойных и лиственных типов леса [Егорова и др., 2021]. Многочисленными исследованиями установлены эколого-биологические особенности черники, фитоценотическая приуроченность, популяционные и продукционные параметры вида в таежных экосистемах Кировской области [Егорова, 2017; Егорова и др., 2019, 2021; Егорова, Пестрикова, 2020]. Исследования биохимических адаптаций этого таксона к условиям биотопа в Кировской области ранее не проводились.

Цель работы – изучить интенсивность процессов перекисного окисления липидов в листьях *Vaccinium myrtillus* L. в зависимости от эколого-ценотических условий местообитания и фенологических фаз развития.

Материалы и методы

Исследования проводились в 2022 году на территории лесопаркового зеленого пояса г. Кирова, где имеются крупные фрагменты лесной растительности. Для выявления растительных сообществ с участием в травяно-кустарничковом ярусе черники использовали маршрутный метод. Геоботанические описания выполняли согласно общепринятым подходам и методам [Ипатов, 2000]. Для этого в каждом растительном сообществе закладывали пробные площади 20×20 м. Всего было заложено 5 пробных площадей (ПП) (табл. 1). Экологические параметры растительных сообществ определяли с использованием фитоиндикационных экологических шкал Г. Элленберга [Ellenberg, 1974].

Листья отбирали с побегов текущего года вегетации у парциальных образований средневозрастного генеративного онтогенетического состояния. Сбор материала проводили в фенофазу «окончание цветения – образование плодов» и фенофазу «окрашивание плодов – полное созревание плодов».

Активность перекисного окисления липидов оценивали по содержанию в листьях продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [Лукаткин, Голованова, 1988]. Растительный материал гомогенизировали. В гомогенат добавляли смесь ТБК и трихлоруксусной кислоты.

Пробы помещали в нагретую до 95–100 °С автоматическую лабораторную водяную баню марки ЛБ 23 TERMEX на 30 мин. Затем охлаждали и центрифугировали 10 мин при 10 000 g. Оптическую плотность супернатанта измеряли при длине волны 532 и 600 нм на спектрофотометре UNICO 1201 (United Products & Instruments, Inc., США) и выражали в мМоль/г сырой массы.

Статистическая обработка проведена с использованием пакетов программ Microsoft Excel и Statistica 12. Данные представлены в виде средних арифметических значений и их стандартных ошибок. Значимость отличий средних значений выборок оценивали по t-критерию Стьюдента. Для оценки влияния условий экотопа (освещенность, эдафические параметры) на количественное содержание МДА в листьях *V. myrtillus* применялся корреляционный анализ.

Результаты и обсуждение

Исследованием установлено, что типичными для произрастания *V. myrtillus* в пределах лесопаркового зеленого пояса г. Кирова являются сосняки с примесью березы зеленомошные, сфагновые, а также ельники травяные с преобладанием ели финской (*Picea × fennica* (Regel) Kom.) в первом ярусе древостоя. Характеристика исследованных фитоценозов с *V. myrtillus* приведена в таблице 1.

Древостой в исследованных фитоценозах представлен сосной обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), елью финской (*Picea × fennica*), березой повислой (*Betula pendula* Roth.), березой пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.). Возраст древостоя в сообществах с *V. myrtillus* варьирует от 55 до 80 лет, высота – от 15 до 19 м, сомкнутость крон – от 0,40 до 0,70.

В подлеске преобладают *Sorbus aucuparia* L., *Frangula alnus* Mill., *Juniperus communis* L.; всего зафиксировано 13 видов. В составе травяно-кустарничкового яруса исследуемых черничных фитоценозов отмечено от 19 до 38 видов сосудистых растений. *Vaccinium myrtillus* сопутствуют следующие виды: *V. vitis-idaea* L., *Rubus saxatilis* L., *Oxalis acetosella* L., *Linnaea borealis* L., *Melampyrum sylvaticum* L., *Majanthemum bifolium* (L.) F. W. Schmidt, *Fragaria vesca* L., *Luzula pilosa* (L.) Willd. Общее проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса изменяется от 40 % в елово-сосновом с примесью березы травяно-зеленомошном лесу до 85 % в сосняке майниково-чернично-зеленомошно-сфагновом.

Фитоиндикационный анализ по шкалам Элленберга [Ellenberg, 1974] позволил определить параметры экотопа в исследованных фитоценозах с *V. myrtillus* (табл. 1). Так, по

Таблица 1. Эколого-фитоценотическая характеристика изученных местообитаний *Vaccinium myrtillus*
 Table 1. Ecological and phytocenotic description of the studied *Vaccinium myrtillus* habitats

Признак Feature	Тип фитоценоза / Type of phytocenosis				
	1	2	3	4	5
	Сосняк с примесью березы чернично-зеленомошный Bilberry-green moss pine forest with birch	Сосняк с примесью березы зеленомошно-черничный Green moss-bilberry pine forest with birch	Ельник кислично-черничный Sorrel-bilberry spruce forest	Ельник кислично-чернично-травяной Sorrel-bilberry-grass spruce forest	Сосняк майниково-чернично-зеленомошно-сфагновый Beadruby-bilberry-green moss-sphagnum pine forest
Состав древостоя Stand composition	8С2Б	8С2Б	9ЕП	9ЕП+Ос	10С+Б
Возраст (лет) Age (years)	75	75	55	80	70
Сомкнутость крон Crown closure	0,55	0,55	0,40	0,70	0,50
Высота древостоя (м) Stand height (m)	18,0	19,0	15,0	17,0	18,0
Общее проективное покрытие (%) Total projective cover (%)	60	60	85	55	40
Проективное покрытие <i>V. myrtillus</i> (%) Projective cover of <i>V. myrtillus</i> (%)	50	40	40	35	25
Экологические факторы (на основании экологических шкал Элленберга) Ecological factors (based on Ellenberg's indicator values)					
Освещенность Light intensity factor	5,5	5,8	4,7	4,7	5,8
Увлажнение Moisture factor	5,1	5,1	5,1	5,2	5,8
Реакция субстрата Substrate reaction	4,0	4,1	4,6	5,3	5,0
Обеспеченность субстрата азотом Substrate nitrogen	3,7	3,2	4,2	4,4	2,7

относительному освещению, преобладающему в местообитаниях вида, условия сосновых фитоценозов характеризуются достаточно высоким уровнем освещенности (6-я ступень шкалы Элленберга). Растительные сообщества с участием *V. myrtillus*, относящиеся к ельникам, преимущественно формируют теневыносливые растения, поэтому еловые насаждения отличаются более низким уровнем освещенности (5-я ступень шкалы Элленберга). Условия увлажнения в исследуемых растительных сообществах с *V. myrtillus* колеблются от средневлажных (5,1 балла) в ельниках и сосняках зеленомошных до влажных (5,8 балла) в сосняке сфагновом. По шкале кислотности почв, которая определяет зависимость видов от кислотно-щелочных условий почв, *V. myrtillus* занимает местообитания, характеризующиеся от кислых (сосняки зеленомошные) до умеренно кислых (ельники, сосняк сфагновый) (5-я ступень шкалы Элленберга). По шкале азотного богатства, которая показывает общий

запас питательных веществ (N, K, P, Mg) в почве, местообитания вида, относящиеся к соснякам сфагновым и зеленомошным, являются бедными по обеспеченности этими элементами, тогда как ельники характеризуются умеренной обеспеченностью питательными веществами.

Продукты перекисного окисления липидов являются индикатором биохимического повреждения клеток и стрессоустойчивости организма. Одним из конечных продуктов окисления липидов является малоновый диальдегид (МДА) [Загоскина, Назаренко, 2016], по его содержанию принято судить об уровне окислительного стресса, который испытывает растение. Результаты многочисленных исследований показывают, что изменения активности ПОЛ в растительных клетках могут быть вызваны воздействиями различного характера: низкая температура [Лукаткин, Голованова, 1988], засуха [Спивак, 2010], высокие концентрации солей [Розенцвет и др., 2014], химическое загрязнение [Петухов

и др., 2018]. Усиленное ПОЛ и накопление МДА приводит к нарушению целостности мембран и повреждению клеток. Основная опасность процессов ПОЛ для растений заключается в возможности полной утраты мембранами клеток барьерной функции [Чеснокова и др., 2007].

Определение уровня ПОЛ на разных этапах вегетации позволяет установить, в какие фенологические фазы растение подвергается наибольшему окислительному стрессу. Проведенное нами исследование интенсивности процессов ПОЛ, которое оценивали по накоплению МДА, показало, что в фазу «конец цветения – образование плодов» накопление МДА варьирует от 0,018 до 0,030 ммоль/г сырой массы (табл. 2). Наибольшее содержание МДА в листьях черники в этот период отмечено в сосняке с примесью березы чернично-зеленомошном, наименьшее – в сосняке майниково-чернично-зеленомошно-сфагновом.

В фазу «окрашивание плодов – полное созревание плодов» увеличение содержания МДА, напротив, наблюдалось в сосняке сфагновом – 0,031 ммоль/г сырой массы. Наименее интенсивно синтез МДА в этот период происходил в листьях *V. myrtillus*, отобранных из ельника кислично-чернично-травяного, – 0,026 ммоль/г сырой массы. Зависимость изменений физиолого-биохимических показателей, отражающих жизнеспособное функцио-

нальное состояние растительного объекта от фазы вегетации, показана ранее на примере растений кустарниковой биоморфы [Отвалко, 2013; Лаврушина, 2020]. Достоверность различий в накоплении МДА в зависимости от фазы вегетации также подтверждена статистически. Так, отмеченное увеличение содержания МДА в фазу «окрашивание плодов – полное созревание плодов» в ельнике кислично-черничном достоверно по коэффициенту Стьюдента на уровне значимости 99,99 %, в сосняке майниково-чернично-зеленомошно-сфагновом и ельнике кислично-чернично-травяном – 99,9 %.

На интенсивность процессов ПОЛ в растениях значительное влияние оказывает и место произрастания, на что обращали внимание и другие исследователи [Балаева-Тихомирова и др., 2018]. По результатам наших исследований также выявлены следующие отличия: ельники характеризуются более низкими значениями МДА (0,026–0,028 ммоль/г сырой массы) по сравнению с сосняками, где концентрация в листьях альдегида достигала 0,031 ммоль/г сырой массы. Кроме того, полученные данные показали, что рассматриваемые фитоценозы достоверно различаются между собой по анализируемому показателю. Так, уровень ПОЛ (по концентрации МДА) в фазу «конец цветения – образование плодов» в сосняке с примесью березы чернично-зеленомошном имел отличия с доверительным

Таблица 2. Накопление малонового диальдегида (ммоль/г сырой массы) в листьях *Vaccinium myrtillus* в различных типах фитоценозов

Table 2. Accumulation of malonic dialdehyde (mmol/g wet weight) in leaves of *Vaccinium myrtillus* in various types of phytocenoses

№ ПП No.	Тип фитоценоза Type of phytocenosis	Фенофаза «конец цветения – образование плодов» Phenophase 'end of flowering – fruit formation'	Фенофаза «окрашивание плодов – полное созревание плодов» Phenophase 'fruits coloring – full ripening of fruits'
1	Сосняк с примесью березы чернично-зеленомошный Bilberry–green moss pine forest with birch	0,030 ± 0,0008	0,030 ± 0,0009
2	Сосняк с примесью березы зеленомошно-черничный Green moss–bilberry pine forest with birch	0,026 ± 0,0032	0,028 ± 0,0003
3	Ельник кислично-черничный Sorrel–bilberry spruce forest	0,020 ± 0,0002 ^{1*}	0,028 ± 0,0009*
4	Ельник кислично-чернично-травяный Sorrel–bilberry–grass spruce forest	0,021 ± 0,0011 ^{1*}	0,026 ± 0,0009*
5	Сосняк майниково-чернично-зеленомошно-сфагновый Beadruby–bilberry–green moss–sphagnum pine forest	0,018 ± 0,0015 ^{1*}	0,031 ± 0,0017 ^{2*}

Примечание. Приведено среднее значение показателя ± стандартная ошибка; достоверность различия при $p \leq 0,05$ (t-критерий Стьюдента): * – между фенофазами в пределах одного фитоценоза; ¹ – различия статистически значимы по сравнению с сосняком с примесью березы чернично-зеленомошным в фенофазу «конец цветения – образование плодов»; ² – различия статистически значимы по сравнению с ельником кислично-чернично-травяным в фенофазу «окрашивание плодов – полное созревание плодов».

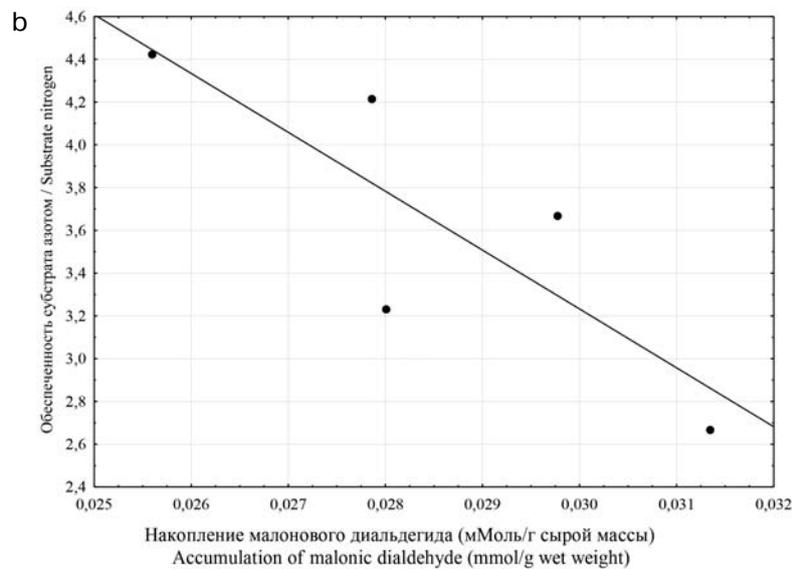
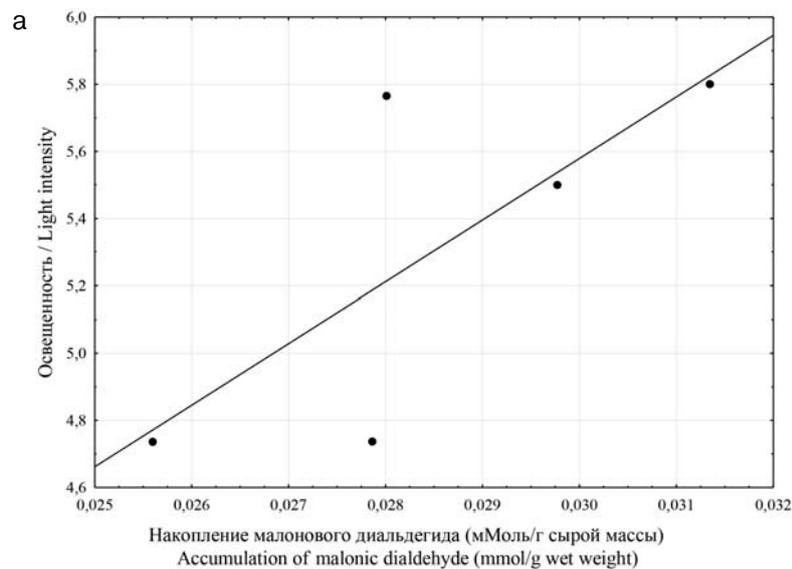
Note. The average value of the indicator is given ± standard error; the significance of the difference at $p \leq 0.05$ (Student's t-test): * – between phenophases within the same phytocenosis; ¹ – differences are statistically significant compared to the bilberry–green moss pine forest with birch in the phenophase 'end of flowering – fruit formation'; ² – differences are statistically significant compared to the sorrel–bilberry–grass spruce forest in the phenophase 'fruits coloring – full ripening of fruits'.

интервалом по коэффициенту Стьюдента 99,99 % от еловых местообитаний вида и сосняка сфагнового. В фазу «окрашивание плодов – полное созревание плодов» выявлено статистически значимое различие в накоплении МДА между ельником кислично-чернично-травяным и сосняком майниково-чернично-зеленомошно-сфагновым (доверительный интервал по коэффициенту Стьюдента 95,00 %).

Некоторые экологические факторы, воздействующие на растение в течение жизни, также могут способствовать развитию окислительного стресса и, как следствие, изменени-

ям во многих метаболических процессах [Кресславский и др., 2012].

Корреляционный анализ показал, что связь МДА с отдельными экологическими параметрами биотопа достаточно сильная. Установлена статистически достоверная высокая положительная корреляционная связь ($r = 0,90$ при $p \leq 0,05$) между интенсивностью накопления МДА и освещенностью в местообитаниях *V. myrtillus* (рис., а). Между концентрацией МДА и богатством почв азотом в исследуемых фитоценозах прослеживается отрицательная корреляция ($r = -0,90$ при $p \leq 0,05$) (рис., б).



Зависимость между интенсивностью накопления малонового диальдегида в листьях *Vaccinium myrtillus* и экологическими условиями местообитания: а – освещенность; б – обеспеченность субстрата азотом

The relationship between the intensity of malonic dialdehyde accumulation in the leaves of *Vaccinium myrtillus* and the ecological conditions of the habitat: a – light intensity factor; b – substrate nitrogen

Можно предположить, что в более освещенных и бедных питательными веществами экотопах, которые соответствуют условиям местообитания вида в сосняках, прежде всего сфагнового типа, происходит активизация процессов формирования и накопления МДА, по сравнению с ельниками, для которых изменения содержания МДА в рассматриваемые периоды вегетации менее значительны.

Вероятно, в сосновых местообитаниях у *V. myrtillus* повышается интенсивность фотосинтеза и наиболее чувствительными к стрессу оказываются фотохимические процессы, происходящие в тилакоидных мембранах, – фотоокисление воды. Риски фотоингибирования, возникающие в условиях лучшего освещения, являются одной из причин здесь усиления ПОЛ.

В целом более сложные условия произрастания и менее благоприятные эдафические условия, формирующиеся для исследуемого вида в сосняках сфагновых, могут быть стрессовыми факторами, вызывающими интенсификацию окислительных процессов.

Заключение

В ходе работы установлено, что в различных эколого-ценотических условиях интенсивность процессов ПОЛ отличается. Полученные результаты позволили отметить повышенный уровень содержания МДА – продукта перекисного окисления липидов клеточных мембран в листьях *V. myrtillus* в условиях сосновых лесов (в большей степени выражено в сосняках сфагнового типа).

Показано, что в фазу «окрашивание плодов – полное созревание плодов» уровень МДА возрастает в 0,8 раза по сравнению с фазой «конец цветения – образование плодов».

Литература

Балаева-Тихомирова О. М., Леонович Е. А., Авласевич О. В. Содержание эндогенных антиоксидантов и продуктов перекисного окисления липидов в сырье и экстрактах *Allium ursinum* Linnaeus, *A. schoenoprasum* L. и *Primula veris* L. // Вестник БарГУ. Сер. Биологические науки. Сельскохозяйственные науки. 2018. Вып. 6. С. 9–19.

Егорова Н. Ю. Особенности экологических предпочтений ягодных растений сем. *Vacciniaceae* Lindl. в лесных фитоценозах южной тайги // Бореальные леса: состояние, динамика, экосистемные услуги: Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 60-летию Института леса Карельского научного центра РАН (Петрозаводск, 11–15 сентября 2017 года). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2017. С. 102–104.

Егорова Н. Ю., Егошина Т. Л., Ярославцев А. В. *Vaccinium myrtillus* L. в Кировской области (южно-таежная подзона): фитоценотическая приуроченность, экологические предпочтения // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 53. С. 68–88. doi: 10.17223/19988591/4

Егорова Н. Ю., Егошина Т. Л., Ярославцев А. В., Шлыкова Д. А., Оботнин С. И. Динамика урожайности плодов *Vaccinium myrtillus* L. в ельниках северо-востока Европейской России // Сохранение лесных экосистем: проблемы и пути их решения: Мат-лы II Междунар. науч.-практ. конф. (г. Киров, 27–31 мая 2019 г.). Киров: ВятГУ, 2019. С. 264–267.

Егорова Н. Ю., Пестрикова Е. С. Оценка эколого-ценотических параметров различных типов местообитаний *Vaccinium myrtillus* L. в пределах южнотаежных лесных экосистем (Кировская область) // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Мат-лы XVIII Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием (Киров, 18 ноября 2020 г.). Киров: ВятГУ, 2020. С. 180–183.

Загоскина Н. В., Назаренко Л. В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений // Вестник МГПУ. Сер. Естественные науки. 2016. № 2. С. 9–23.

Ипатов В. С. Методы описания фитоценоза. СПб.: СПб ун-т, 2000. 53 с.

Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов В. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59. С. 1–16.

Лаврушина М. М. Уровень перекисного окисления липидов и окислительный стресс у растений рода Рододендрон // Шаг в науку: Мат-лы IV науч.-практ. конф. молодых ученых (II Всероссийской) (Москва, 18 декабря 2020 г.). М.: МГПУ, 2020. С. 679–682.

Лукаткин А. С., Голованова В. С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // Физиология растений. 1988. Т. 35, вып. 4. С. 773–780.

Отвалко Е. А. Изменение уровня перекисного окисления липидов и активности компонентов антиоксидантной системы защиты растений в различные фенологические фазы развития // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя П. М. Машэрава. 2013. № 2(74). С. 32–35.

Петухов А. С., Христин Н. А., Петухова Г. А. Перекисное окисление липидов в клетках растений в условиях городской среды // Вестник Российского университета дружбы народов. Сер. Экология и безопасность жизнедеятельности. 2018. Т. 26, № 1. С. 82–90. doi: 10.22363/2313-2310-2018-26-1-82-90

Половинкина Е. О., Кальясова Е. А., Синицына Ю. В., Веселов А. П. Изменение уровня перекисного окисления липидов и активности компонентов антиоксидантного комплекса в хлоропластах гороха при воздействии слабых импульсных магнитных полей // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 6. С. 930–934.

Розенцвет О. А., Нестеров В. Н., Богданова Е. С. Состав мембран дикорастущих галофитов с различными механизмами регуляции солевого обмена

в зависимости от абиотических факторов среды // Биологические мембраны. 2014. Т. 31, № 2. С. 137–146. doi: 10.7868/S0233475514010095

Спивак Е. А. Генерация активных форм кислорода, перекисное окисление липидов и проницаемость клеточных мембран в листьях проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при засухе // Вестник БГУ. Сер. 2. 2010. № 1. С. 51–54.

Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 161 с.

Чеснокова Н. П., Понукалина Е. В., Бизенкова М. Н. Механизмы структурной и функциональной дезорганизации биосистем под влиянием свободных радикалов // Фундаментальные исследования. 2007. № 4. С. 110–121.

Ellenberg H. Zeigerwerte der Gefasspflanzen Mitteleuropas. Gottingen, 1974. 97 p.

Kaur N., Gupta A. K. Signal transduction pathways under abiotic stresses in plant // Current Sci. 2005. Vol. 88, no. 11. P. 1771–1780.

Kerchev P. I., Van Breusegem F. Improving oxidative stress resilience in plants // Plant J. 2022. Vol. 109. P. 359. doi: 10.1111/tjp.15493

Kolupaev Y. E., Karpets Y. V., Kabashnikova L. F. Antioxidative system of plants: cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (review) // Appl. Biochem. Microbiol. 2019. Vol. 55. P. 441. doi: 10.1134/S0003683819050089

Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. 2002. Vol. 7, no. 9. P. 405–410.

References

Balaeva-Tikhomirova O. M., Leonovich E. A., Avlasevich O. V. The content of endogenous antioxidants and products of lipid peroxidation in raw materials and extracts of *Allium ursinum* Linnaeus, *A. schoenoprasum* L. and *Primula veris* L. Vestnik BarGU. Ser. Biologicheskie nauki. Sel'skokhozyaistvennyye nauki = BarSU Herald. Series: Biological Sciences. Agricultural Sciences. 2018;6:9–19. (In Russ.)

Chesnokova N. P., Ponukalina E. V., Bizenkova M. N. Mechanisms of structural and functional disorganization of biosystems under the influence of free radicals. Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research. 2007;4:110–121. (In Russ.)

Egorova N. Yu. Features of ecological preferences of fam. Vacciniaceae Lindl. berry plants in forest communities of the southern taiga. Boreal'nye lesa: sostoyanie, dinamika, ekosistemnye uslugi: tezisy dokladov Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem = Boreal forests: state, dynamics, ecosystem services: Proceedings of All-Russian sci. conf. (Petrozavodsk, Sept. 11–15, 2017). Petrozavodsk: KarRC RAS; 2017. P. 102–104. (In Russ.)

Egorova N. Yu., Egoshina T. L., Yaroslavtsev A. V. *Vaccinium myrtillus* L. in the Kirov Region (southern taiga subzone): phytocoenotic confinement and ecological preferences. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology. 2021;53:68–88. doi: 10.17223/19988591/53/4 (In Russ.)

Egorova N. Yu., Egoshina T. L., Yaroslavtsev A. V., Shlykova D. A., Obotnin S. I. Dynamics of fruit yield of *Vaccinium myrtillus* L. in spruce forests of the North-East of European Russia. Sokhranenie lesnykh ekosistem: problemy i puti ikh resheniya: mat-ly II Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (Kirov, 27–31 maya 2019 g.) = Conservation of forest ecosystems: problems and ways to solve them. Proceedings of II International scientific and practical conf. (Kirov, May 27–31, 2019). Kirov: VyatGU; 2019. P. 264–267. (In Russ.)

Egorova N. Yu., Pestrikova E. S. Assessment of ecological and cenotic parameters of various types of habitats of *Vaccinium myrtillus* L. within the southern taiga forest ecosystems (Kirov Region). Biodiagnostika sostoyaniya prirodnykh i prirodno-tekhnogennykh sistem: mat-ly XVIII Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiyem (Kirov, 18 noyabrya 2020 g.) = Biodiagnostics of the state of natural and natural-man made systems: Proceedings of XVIII All-Russian scientific and practical conf. with international participation (Kirov, Nov. 18, 2020). Kirov: VyatGU; 2020. P. 180–183. (In Russ.)

Ellenberg H. Zeigerwerte der Gefasspflanzen Mitteleuropas. Gottingen; 1974. 97 p.

Ipatov V. S. Methods for describing phytocenosis. St. Petersburg: SPbGU; 2000. 53 p. (In Russ.)

Kaur N., Gupta A. K. Signal transduction pathways under abiotic stresses in plant. Current Sci. 2005;88(11):1771–1780.

Kerchev P. I., Van Breusegem F. Improving oxidative stress resilience in plants. Plant J. 2022;109:359. doi: 10.1111/tjp.15493

Kolupaev Y. E., Karpets Y. V., Kabashnikova L. F. Antioxidative system of plants: cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (review). Appl. Biochem. Microbiol. 2019;55:441. doi: 10.1134/S0003683819050089

Kreslavskii V. D., Los' D. A., Allakhverdiev S. I., Kuznetsov V. V. Signaling role of reactive oxygen species during plant stress. Fiziologiya rastenii = Plant Physiology. 1912;59:1–16. (In Russ.)

Lavrushina M. M. Level of lipid peroxidation and oxidative stress in plants of the genus *Rhododendron*. Shag v nauku: Materialy IV nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh (II Vserossiiskoi) = Step into science: Materials of the IV scientific and practical conference of young scientists (II All-Russian), Moscow, December 18, 2020. Moscow: MGPU; 2020. P. 679–682. (In Russ.)

Lukatkin A. S., Golovanova V. S. The intensity of lipid peroxidation in the cooled leaves of thermophilic plants. Fiziologiya rastenii = Plant Physiology. 1988;35(4):773–780. (In Russ.)

Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 2002;7(9):405–410.

Otvalko Ye. A. Changes in the level of lipid peroxidation and the activity of components of the antioxidant system of plant protection in various phenological phases of development. Vestnik Vitsebskago dzyarzhavnaga universiteta imya P. M. Masherava = Bulletin of the Vitsebsk State University named after P. M. Masherov. 2013;2(74):32–35. (In Russ.)

Petukhov A. S., Khritokhin N. A., Petukhova G. A. Lipid peroxidation in plants cells under conditions of the urban environment. *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Ser. Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti = RUDN Journal of Ecology and Life Safety*. 2018;26(1):82–90. doi: 10.22363/2313-2310-2018-26-1-82-90 (In Russ.)

Polovinkina E. O., Kal'yasova E. A., Sinitsyna Yu. V., Veselov A. P. Changes in the level of lipid peroxidation and the activity of the components of the antioxidant complex in pea chloroplasts under the influence of weak pulsed magnetic fields. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology*. 2011;58(6):930–934. (In Russ.)

Rozentsvet O. A., Nesterov V. N., Bogdanova E. S. The composition of membranes of wild-growing halophytes with different mechanisms of regulation of salt

metabolism depending on abiotic environmental factors. *Biologicheskie membrany = Biochemistry (Moscow), Series A: Membrane and Cell Biology*. 2014;31(2): 137–146. doi: 10.7868/S0233475514010095 (In Russ.)

Shakirova F. M. Nonspecific resistance of plants to stress factors and its regulation. Ufa: Gilem; 2001. 161 p. (In Russ.)

Spivak E. A. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and cell membrane permeability in the leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings during drought. *Vestnik BGU. Seriya 2 = Vestnik BSU. Series 2*. 2010;1:51–54. (In Russ.)

Zagoskina N. V., Nazarenko L. V. Reactive oxygen species and the antioxidant system of plants. *Vestnik MGPU. Ser. Estestv. Nauki = Vestnik Moscow City Teachers Training Univ. Nat. Sci.* 2016;22: 9–23. (In Russ.)

Поступила в редакцию / received: 01.03.2023; принята к публикации / accepted: 11.05.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Егорова Наталья Юрьевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела экологии и ресурсосведения растений ВНИИОЗ; доцент Вятского ГАТУ

e-mail: n_chirkova@mail.ru

Сюткина Анна Сергеевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела ветеринарии ВНИИОЗ; доцент Вятского ГАТУ

e-mail: annasiutkina@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Egorova, Natalya

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Associate Professor

Syutkina, Anna

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Associate Professor

УДК 619:636:598.2

ИЗГОТОВЛЕНИЕ ЦВЕТНЫХ ПЛАСТИКОВЫХ КОЛЕЦ ДЛЯ МЕЧЕНИЯ ПТИЦ

С. А. Симонов*, **М. В. Матанцева**

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»
(ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910),
*ssaves@gmail.com

Представлен метод самостоятельного изготовления цветных пластиковых колец для мечения мелких воробьиных птиц индивидуальными дистанционно читаемыми комбинациями ножных меток, апробированных на протяжении 15 полевых сезонов. В качестве материала для меток использованы пластиковые гребни для механических скоросшивателей. При апробации метили славок (род *Sylvia*) и пеночек (род *Phylloscopus*) кольцами с внутренним диаметром 2,8 и 2,2 мм соответственно, используя пластик толщиной 0,6 мм всех доступных цветов. За годы апробации колец удалось найти в продаже пластиковые пружины 9 цветов. Хорошо зарекомендовали себя кольца ярких цветов – желтый, красный, оранжевый и голубой. Несколько сложнее читались метки с комбинациями черного, белого, зеленого, синего и фиолетового цвета. Предлагаемые кольца формируются на горячем стержне или тонкостенной трубке, концы оформляются без перекрывания, встык, как у стандартных алюминиевых колец. Кольца, выполненные предлагаемым способом, можно использовать аналогично стандартным алюминиевым кольцам – для мечения необходимо развести концы кольца на ширину, немного превышающую диаметр ноги птицы, надеть кольцо на лапу и сжать до соприкосновения концов. Прочность предлагаемых колец при использованной толщине материала и диаметре искривления стенки близка к прочности стандартного алюминиевого кольца, успешных попыток птиц снять или деформировать кольцо не обнаружено. Высота колец выбирается в соответствии с задачами исследования и с желаемым числом индивидуальных цветовых комбинаций, варьируя от 3 до 6 мм. Подробно способ изготовления описан в сообщении.

Ключевые слова: мечение птиц; индивидуальные цветные метки; ножные кольца для птиц; этологические исследования; территориальность

Для цитирования: Симонов С. А., Матанцева М. В. Изготовление цветных пластиковых колец для мечения птиц // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 126–131. doi: 10.17076/eb1786

Финансирование. Сообщение подготовлено в рамках выполнения работ по теме FMEN-2022-0003.

S. A. Simonov*, M. V. Matantseva. A METHOD OF MAKING COLORED PLASTIC RINGS TO MARK BIRDS

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences
(11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *ssaves@gmail.com*

We present a method of making coloured plastic rings for marking small passerine birds with unique remotely readable combinations of leg rings tested over 15 field seasons. The material for the rings was plastic binding combs. To test the method, we ringed *Sylvia* and *Phylloscopus* warblers using rings with an inner diameter of 2.8 and 2.2 mm, respectively, made of 0.6 mm thick plastic of all available colors. Over the years of testing the rings, we found 9 colours of binding combs available for purchase. Rings of bright colors, such as yellow, red, orange, and blue, proved to be the best. Tags with combinations of black, white, green, blue, and purple were somewhat more difficult to read. The proposed rings are shaped around a hot rod and closed butt-to-butt without an overlap, like standard aluminum rings. Rings made by the proposed method can be used similarly to the standard aluminum rings. To ring a bird, the ring is opened to form a gap slightly wider than the diameter of the bird's leg. Once the ring is around the bird's leg, its ends are pressed together. With the thickness of the material used and the ring curvature, the proposed rings are nearly as strong as standard aluminum rings. We have not registered any successful attempts of birds to remove or deform the rings. The height of the rings is selected depending on the research tasks and the desired number of individual color combinations, ranging from 3 to 6 mm. The ring-making procedure is described in detail in this communication.

Keywords: bird tagging; individual color tags; bird leg rings; ethological studies; territoriality

For citation: Simonov S. A., Matantseva M. V. A method of making colored plastic rings to mark birds. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 126–131. doi: 10.17076/eb1786

Funding. The communication was prepared within the research theme FMEN-2022-0003.

Введение

Использование цветных пластиковых колец при наблюдениях за птицами прочно вошло в практику орнитологов. Особенно актуально применение индивидуальных комбинаций цветных пластиковых колец при дистанционной идентификации особей в исследованиях территориальности. Если при изучении поведения птиц в лабораторных условиях можно использовать различные метки, не заботясь об их длительной сохранности (из-за возможности замены в любое время), то при исследовании территориальности в природе необходимо использовать метки, сохраняющие свои характеристики при любых погодных условиях, желательно на протяжении нескольких лет (при возврате птиц на места рождения или гнездования). Большинство таких исследований проводят на мелких воробьиных птицах, что ставит дополнительную задачу производства хорошо различимых колец высокой степени сохранности, обладающих маленькими размером и весом.

В нашей стране нет профессионального производства цветных колец с требуемыми

характеристиками, и ближайшее место, где их можно заказать, – Польша [Ornithological...]. Однако стоимость набора, удовлетворяющего минимальным требованиям к исследованию, и его пересылки достаточно высока. Кроме того, не всегда возможно оформить такой заказ от имени научной организации. По этим причинам на протяжении десятилетий орнитологи изготавливают цветные кольца самостоятельно.

История индивидуального мечения свидетельствует о том, что в разное время предпринимались многочисленные попытки выбора оптимальных, недорогих и надежных материалов и способов изготовления цветных колец. В частности, их изготавливали из металла с последующей окраской и из разных образцов цветного пластика [Petersen, 1965; Винокуров, Кищинский, 1976; Bub, Oelke, 1980 и др.]. И в настоящее время продолжается поиск решений в выборе материалов и методов самостоятельного изготовления цветных меток.

Около двух десятилетий назад высокую популярность имела методика изготовления колец из тонкослойного листового цветного пла-

стика (0,3 мм), используемая орнитологами Екатеринбургa и Ижевска. Согласно этой методике заготовки в виде нарезанного пластика скручивали в концентрическую спираль, а затем помещали в стеклянную трубку определенного диаметра. Заготовки в трубке на некоторое время опускали в емкость с кипятком. Размягченный пластик равномерно расправлялся, формируя аккуратное кольцо с перекрыванием концов на более 50 % длины заготовки. После охлаждения кольца выталкивались из стеклянной формы стержнем. При определенной сноровке такие кольца просты в изготовлении, достаточно надежны. Возвраты птиц с кольцами показали их надежность и безопасность. Однако в настоящее время применение этой методики ограничено, поскольку листовой пластик с необходимыми свойствами полностью снят с производства. Найденные аналогичные по внешнему виду образцы пластика при обработке не принимают нужной формы.

Одним из наиболее удобных материалов для цветных пластиковых колец в последние десятилетия оказался пластик гребней для механических скоросшивателей. Именно такое сырье используется в методике С. И. Гашкова [личное сообщение]. Заготовки, согласно этой методике, принимают необходимую форму также в ходе нагрева в горячей воде. Этот метод позволяет получить кольца в виде концентрической спирали с перекрыванием концов на 1/3 длины заготовки. Формирование кольца осуществляется с помощью стального хирургического зажима. Такие кольца удобны для мечения синиц и более крупных птиц, при этом перекрывание повышает надежность крепления кольца при попытке птицы снять метку.

Альтернативой использованию готовых колец конечной формы, фиксируемых благодаря упругости материала, является применение гибких меток с последующей фиксацией клеевым составом или плавлением. В частности, концы шейных и ножных дистанционно читаемых меток фабричного производства фиксируются клеевым составом. С помощью точечного плавления фиксировали концы ножных цветных меток из мягкого пластика, применявшихся ранее в работе орнитологов КарНЦ РАН.

В нашей практике мы опробовали разные способы изготовления и использования индивидуальных меток. В конце концов был выбран оптимальный материал и отработан процесс изготовления колец для воробьиных птиц, соответствующих международным стандартам мечения, на которые ориентируются признанные производители [Ornithological...]. В данном сообщении мы представляем используемый

нами несложный вариант изготовления цветных колец, не уступающих по совокупности функциональных характеристик и надежности профессиональным изделиям. Наши кольца прошли апробацию в течение 15 полевых сезонов мечения мелких (весом 8–22 г) представителей дальних мигрантов, таких как славки (род *Sylvia*) и пеночки (род *Phylloscopus*). Возвраты птиц с мест зимовок показали отличную сохранность предлагаемых меток.

Характеристика предлагаемой методики

В качестве материала для изготовления цветных колец мы, как и некоторые другие орнитологи, используем цветные пластиковые гребни для механических скоросшивателей, выпускаемых в различных цветовых решениях из листового пластика толщиной 0,6–1,4 мм, устойчивого к обесцвечиванию под действием ультрафиолета и деформации (проверено нами экспериментально). Материал легко режется, при нагревании способен принять любую форму, после формовки сохраняет упругость, достаточную для успешного выполнения своих функций. Стоимость одной спирали, достаточной для производства 100 колец, существенно ниже стоимости лишь одного профессионально изготовленного импортного кольца при полной внешней и функциональной идентичности.

Процесс изготовления колец состоит из трех этапов, описанных далее на примере материала толщиной 0,6 мм для небольших колец с внутренним диаметром от 2,2 до 2,8 мм (такую толщину имеет пластик гребней диаметром 10–15 мм, для более крупных колец можно использовать гребни диаметром 40–50 мм из материала толщиной 0,8–1,4 мм).

На первом этапе производится изготовление заготовок для последующего сворачивания колец. Для этого стандартное алюминиевое кольцо, используемое для мечения птиц изучаемых видов, нужно полностью разогнуть и измерить его длину. Затем следует взять пластиковый гребень для скоросшивателя и разрезать вдоль, чтобы получить полосу шириной, равной измеренной длине полосы, из которой изготовлено стандартное кольцо. Таким образом можно обеспечить точное соответствие диаметра будущего пластикового кольца стандартизированным размерам для птиц определенных видов, соответствующим международным нормам. Далее полученные заготовки следует нарезать на фрагменты длиной по 8 мм (из каждой такой заготовки получится два кольца высотой по 4 мм (см. ниже),

но при необходимости длину заготовок можно выбирать уже на данном этапе).

На втором этапе заготовки формируют на нагретой форме (рис. 1). В качестве формы, как показала практика, оптимально использовать хромированную тонкостенную медную или латунную трубку. Совокупность свойств такой формы обеспечивает относительно быстрый и равномерный нагрев рабочей части трубки и быстрое остывание без причинения неудобств пальцам оператора. Внешний диаметр трубки должен соответствовать внутреннему диаметру готового кольца (в частности, для славков диаметр трубки должен составлять 2,7 мм, для пеночек – 2,1 мм) и иметь длину не менее 10 см. Таким параметрам, например, соответствуют отдельные секции телескопических антенн старых радиоприемников. Трубку берут в руку, ее конец нагревают над пламенем спиртовки в течение 2–3 секунд (время подбирается экспериментально) до температуры, достаточной для начала плавления пластика (пластик должен быть теплым, но не горячим, чтобы его можно было держать в руках). Заготовку кольца помещают между большим и указательным пальцами свободной руки, начиная постепенно сворачивать кольцо. Неостывший конец трубки быстро помещают в выгнутую часть заготовки и в этот момент пальцами прижимают (приглаживают) заготовку (рис. 1, В) к разогретой трубке, в верхней точке сводя вместе концы заготовки (рис. 1, С).

На заключительном этапе заготовку, уже представляющую собой высокое кольцо с продольным разрезом, передвигают на противоположный конец металлической трубки, где ее разрезают поперек канцелярским ножом по кругу, формируя два кольца высотой 4 мм. Такие кольца соответствуют фабричным, предлагаемым производителями оборудования для орнитологов. В частности, по толщине пластика, диаметру, высоте и весу они идентичны кольцам фирмы «Ecotone» [Orni-

thological...]. При желании можно менять высоту кольца при нарезке. В частности, при массовом мечении особей в индивидуальных комбинациях может возникнуть необходимость надеть два кольца на одну ногу птицы. В таких случаях целесообразно делать более узкие кольца.

Готовые кольца снимают с трубки и надевают на заранее заготовленные палочки из алюминиевой проволоки или специальные стержни для колец. Такие наборы удобны в хранении и транспортировке, позволяют оперативно выбрать кольцо нужного цвета (рис. 2). Используют полученные пластиковые кольца аналогично стандартным алюминиевым. Сведенные концы размыкают, надевают кольцо на ногу птицы и вновь сводят концы вместе (подобно алюминиевому кольцу наше изделие отлично сохраняет придаваемую ему форму).

Представленный способ изготовления колец опробован нами в полевые сезоны 2007–2022 гг. в разных районах Северо-Запада России. В частности, с помощью индивидуального мечения птиц кольцами, сделанными по приведенной методике, получены результаты изучения разных аспектов территориальности славков и пеночек [Matantseva, Simonov, 2008, 2012; Lapshin et al., 2013; Matantseva et al., 2015, 2021; Матанцева и др., 2017]. Анализ пластиковых колец, обнаруженных на птицах, вернувшихся с мест зимовки, показал, что пластик не деформируется, не загрязняется, не изменяет цвет, не становится хрупким (по крайней мере в течение двух сезонов). Комбинации колец высотой 2–4 мм отлично читаются на расстоянии в бинокль и невооруженным глазом вблизи. Лучшие цвета колец, легко различимые в условиях леса, – яркие желтый, красный, оранжевый и голубой. Мы также использовали кольца черного, белого, зеленого, синего и фиолетового цвета, но различать их в условиях сумерек или очень пасмурных дней немного сложнее.



Рис. 1. Этапы изготовления кольца на нагретой трубке: А – исходное положение, В – закручивание заготовки, С – готовая заготовка со сведенными концами

Fig. 1. Stages of making a ring on a heated metal pipe: А – start position, В – shaping a ring, С – ready ring on the pipe



Рис. 2. Кольца на транспортировочных стержнях

Fig. 2. Rings on the storage rods

Приведенная методика при аккуратном исполнении может быть использована как орнитологами-профессионалами для мечения птиц в полевых исследованиях, так и любителями для мечения домашних животных с нанесением информации о владельце на поверхность кольца.

Литература

Винокуров А. А., Кищинский А. А. Методы мечения птиц // Кольцевание в изучении миграций птиц фауны СССР. М.: Наука, 1976. С. 182–208.

Матанцева М. В., Симонов С. А., Лапшин Н. В. Изменчивость территориального поведения птиц рода *Sylvia* в зависимости от структуры биотопов и плотности населения // Принципы экологии. 2017. Т. 6, № 3. С. 101–117. doi: 10.15393/j1.art.2017.7002

Ornithological equipment. Rings and collars for birds / Ecotone – Ecological Analysis Group [Электронный ресурс]. URL: <https://en.ecotone.com.pl/ornithological-equipment,1,10.html> (дата обращения: 14.03.2023).

Bub H., Oelke H. *Markierungsmethoden für vogel*. Wittenberg Lutherstadt: A. Ziemsen Verlag, 1980. 152 s.

Lapshin N. V., Topchieva L. V., Matantseva M. V., Simonov S. A., Malysheva I. E., Kancerova N. P. Ecological features of migrating Passerines (analysis with molecular biology techniques involved) // *Biol. Bull.* 2013. Vol. 40, no. 10. P. 815–822. doi: 10.1134/S1062359013100038

Matantseva M. V., Lapshin N. V., Simonov S. A. Ethological aspects of biodiversity within and between *Phylloscopus* species: behavioral variation among birds from the centre and periphery of breeding ranges // *Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis*. 2015. Vol. 15, no. 1. P. 273–283.

Matantseva M. V., Simonov S. A. Ecological and ethological characteristics of *Sylvia* warblers colonies in patchy habitats on the Courland spit, Baltic Sea

// *Russian Journal of Ecology*. 2008. Vol. 39, no. 5. P. 353–358. doi: 10.1134/S106741360805007X

Matantseva M. V., Simonov S. A. Specific features of the territorial behavior of *Sylvia* warblers at the northern periphery of their ranges (Southern Karelia) // *Russian Journal of Ecology*. 2012. Vol. 43, no. 3. P. 225–230. doi: 10.1134/S1067413612030095

Matantseva M. V., Simonov S. A., Lapshin N. V. Cases of conspecific brood parasitism in the Willow warbler (*Phylloscopus trochilus*, Passeriformes) // *Biol. Bull.* 2021. Vol. 48, no. 7. P. 1075–1078. doi: 10.1134/S1062359021070207

Petersen E. *Beringungstechnik // Wirbeobachten Vögel*. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1965. S. 256–265.

References

Bub H., Oelke H. *Markierungsmethoden für vogel*. Wittenberg Lutherstadt: A. Ziemsen Verlag; 1980. 152 p.

Lapshin N. V., Topchieva L. V., Matantseva M. V., Simonov S. A., Malysheva I. E., Kancerova N. P. Ecological features of migrating Passerines (analysis with molecular biology techniques involved). *Biol. Bull.* 2013;40(10):815–822. doi: 10.1134/S1062359013100038

Matantseva M. V., Lapshin N. V., Simonov S. A. Ethological aspects of biodiversity within and between *Phylloscopus* species: behavioral variation among birds from the centre and periphery of breeding ranges. *Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis*. 2015;15(1):273–283.

Matantseva M. V., Simonov S. A. Ecological and ethological characteristics of *Sylvia* warblers colonies in patchy habitats on the Courland spit, Baltic Sea. *Russian Journal of Ecology*. 2008;39(5):353–358. doi: 10.1134/S106741360805007X

Matantseva M. V., Simonov S. A., Lapshin N. V. The variability of territorial behavior of *Sylvia* warblers depending on the habitats structure of and population density. *Printsiipy ekologii = Principles of the Ecology*. 2017;6(3):101–117. doi: 10.15393/j1.art.2017.7002 (In Russ.)

Matantseva M. V., Simonov S. A., Lapshin N. V. Cases of conspecific brood parasitism in the Willow warbler (*Phylloscopus trochilus*, Passeriformes). *Biol. Bull.* 2021;48(7):1075–1078. doi: 10.1134/S1062359021070207

Matantseva M. V., Simonov S. A. Specific features of the territorial behavior of *Sylvia* warblers at the northern periphery of their ranges (Southern Karelia). *Russian Journal of Ecology*. 2012;43(3):225–230. doi: 10.1134/S1067413612030095

Ornithological equipment. Rings and collars for birds / Ecotone – Ecological Analysis Group. URL: <https://en.ecotone.com.pl/ornithological-equipment,1,10.html> (accessed: 14.03.2023).

Petersen E. *Beringungstechnik. Wirbeobachten Vögel*. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag; 1965. P. 256–265.

Vinokurov A. A., Kishchinsky A. A. Methods for tagging birds. *Kol'tsevanie v izuchenii migratsii ptits fauny SSSR = Banding in the study of bird migrations in the fauna of the USSR*. Moscow: Nauka; 1976. P. 182–208. (In Russ.)

Поступила в редакцию / received: 21.05.2023; принята к публикации / accepted: 26.05.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Симонов Сергей Александрович

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: ssaves@gmail.com

Матанцева Мария Валерьевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: MariaMatantseva@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Simonov, Sergey

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Matantseva, Maria

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН И НАЧАЛЬНЫЙ РОСТ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

И. А. Нилова*, Н. С. Репкина, Н. М. Казнина

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»
(ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *im-ira@mail.ru

Изучали влияние обработок семян мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) озимого сорта Московская 39 метилжасмонатом разной длительности и концентрации на их всхожесть, а также начальный рост проростков. Продолжительность воздействия метилжасмоната составляла 3, 6 или 24 часа, концентрация – 0,001; 0,01; 0,1 и 1 мкМ. Показано, что влияние метилжасмоната на прорастание семян и рост проростков в большей степени зависит от продолжительности воздействия, чем от концентрации. Так, выдерживание семян в растворе метилжасмоната в течение 3 и 6 часов при всех исследуемых концентрациях не приводило к повышению их всхожести, при этом длина корня у растений, выращенных из обработанных семян, была меньше, чем у контрольных, а высота побега, напротив, больше. После обработки семян метилжасмонатом в течение 24 часов во всех изученных концентрациях увеличивалось количество проросших семян, у проростков замедлялся рост корня, при этом (по сравнению с контролем) рост побега сохранялся на уровне контрольных растений.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; метилжасмонат; всхожесть семян; рост корней; рост побега

Для цитирования: Нилова И. А., Репкина Н. С., Казнина Н. М. Влияние метилжасмоната на прорастание семян и начальный рост проростков озимой пшеницы // Труды Карельского научного центра РАН. 2023. № 7. С. 132–137. doi: 10.17076/eb1818

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема FMEN-2022-0004). Работа выполнена на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

I. A. Nilova*, N. S. Repkina, N. M. Kaznina. THE EFFECT OF METHYL JASMONATE ON SEED GERMINATION AND INITIAL GROWTH OF SEEDLINGS IN WINTER WHEAT

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *im-ira@mail.ru

The study investigated the impact of the exposure of soft winter wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Moskovskaya 39 seeds to methyl jasmonate at different durations and

concentrations on the germination and initial growth of seedlings. The durations of exposure to methyl jasmonate were 3, 6, or 24 hours, and the concentrations were 0.001, 0.01, 0.1, and 1 μM . It is demonstrated that the duration of exposure to methyl jasmonate has a greater effect on seed germination and seedling growth than its concentration. Thus, exposure of seeds to methyl jasmonate solutions of all the tested concentrations for 3 and 6 hours did not promote their germination. Meanwhile, the root length in plants grown from the treated seeds was less than in the control, and the shoot height, on the contrary, was greater. Treating the seeds with methyl jasmonate in all the tested concentrations for 24 hours increased the number of sprouted seeds and slowed down root growth in seedlings, but had no effect on shoot growth compared to the control.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; methyl jasmonate; seed germination; root growth; shoot growth

For citation: Nilova I. A., Repkina N. S., Kaznina N. M. The effect of methyl jasmonate on seed germination and initial growth of seedlings in winter wheat. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2023. No. 7. P. 132–137. doi: 10.17076/eb1818

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences (FMEN-2022-0004) and carried out using equipment of the KarRC RAS Core Facility.

Введение

Одним из наиболее биологически активных производных жасмоновой кислоты является метилжасмонат [Wasternack, Hause, 2013; Колупаев, Ястреб, 2021]. Он участвует в регуляции роста растений, играет важную роль в сигналинге, индуцирует их защитные реакции в ответ на действие неблагоприятных факторов окружающей среды [Колупаев, Ястреб, 2021; Bittner et al., 2022]. При этом обнаружено, что экзогенное применение метилжасмоната способствует повышению устойчивости растений к различным стресс-факторам [Rhaman et al., 2021]. Так, обработка метилжасмонатом в концентрации 100 μM снижала негативное воздействие засухи на рост и фотосинтез *Triticum aestivum* L. [Javadipour et al., 2019] и препятствовала потере воды растениями *Brassica oleracea* L. [Hassini et al., 2017]. Применение метилжасмоната в концентрации 1 μM приводило к повышению устойчивости растений *T. aestivum* к действию кадмия [Repkina et al., 2023], а обработка растений *Calendula officinalis* L. этим фитогормоном в концентрации 5 и 10 μM увеличивала их устойчивость к действию хрома [Barzin et al., 2022].

Вместе с тем известно, что эффекты метилжасмоната, оказываемые на физиологические процессы у растений, во многом зависят от его концентрации и длительности воздействия. Например, под влиянием метилжасмоната в концентрациях от 10^{-7} до 1 μM рост проростков *T. aestivum* усиливался. При этом максимальный ростостимулирующий эффект наблюдался

при очень низкой (10^{-6} μM) или относительно высокой (0,1 μM) концентрации этого фитогормона [Сахабутдинова и др., 2009]. Применение метилжасмоната в концентрации 1 μM вызывало торможение роста корня растений *B. oleracea* сорта Italica, в то время как концентрация 10^{-6} μM , напротив, его стимулировала [Sirhindi et al., 2020]. Также установлено, что при обработке метилжасмонатом семян *Solanum melongena* L. в течение 8 часов их всхожесть, а также длина корней и высота побегов у проростков, выращенных из этих семян, оказались выше, чем у растений, чьи семена были обработаны в течение 4 и 12 часов [Ali et al., 2019].

Помимо этого, реакция растений на экзогенное применение метилжасмоната зависит от их видовых и сортовых особенностей. Так, показано, что у *Arabidopsis thaliana* L. обработка проростков метилжасмонатом в концентрации 50 μM вызывала торможение роста корня [Yan et al., 2016] и уменьшение размера листьев [Noir et al., 2013] более чем на 50 % по сравнению с необработанными растениями, тогда как при обработке семян *S. melongena* метилжасмонатом в такой же концентрации отмечено улучшение их всхожести и увеличение длины побегов и их сырой биомассы [Ali et al., 2019]. Выдерживание семян *B. oleracea* в растворе метилжасмоната в концентрации 1 μM приводило к торможению роста корня у проростков сорта Italica, но активировало его у проростков сорта Capitata [Sirhindi et al., 2020].

В связи с вышеизложенным целью данного исследования явилось изучение влияния обработки семян озимой пшеницы *T. aestivum* сорта

Московская 39 метилжасмонатом на прорастание и начальный рост проростков в зависимости от длительности воздействия фитогормона и его концентрации.

Материалы и методы

Исследования проводили на проростках мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) озимого сорта Московская 39. Перед началом эксперимента семена стерилизовали (в мыльном растворе 10 мин и в 5% растворе гипохлорита натрия 5 мин) [Ершова и др., 2022] и помещали в чашки Петри по 25 шт. в четырехкратной повторности.

Семена контрольного варианта проращивали в лабораторных условиях при температуре 23 °С на дистиллированной воде. Семена опытного варианта погружали в раствор метилжасмоната в концентрациях 0,001; 0,01; 0,1; 1 мкМ на 3, 6 или 24 часа, затем отмывали и далее проращивали на дистиллированной воде.

Всхожесть семян определяли на 7-е сут по количеству проросших семян в % от общего количества [ГОСТ 12038-84]. У проростков контрольного и опытного вариантов измеряли линейные размеры корня и побега.

Каждый опыт повторяли 3 раза. Статистическую обработку данных по всхожести семян осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни, в таблице представлены медианы и их межквартильный диапазон. Результаты измерения морфометрических показателей обработаны с помощью параметрического критерия Фишера ($p < 0,05$), данные при этом представлены в виде средних арифметических значений и их стандартных ошибок.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что в целом обработка семян метилжасмонатом в течение 3 и 6 часов не приводит к повышению всхожести семян, лишь в концентрации 0,01 мкМ при длительности воздействия 3 часа метилжасмонат ингибировал прорастание семян, что выразилось в снижении их всхожести на 16 % относительно контроля (табл.). Возможным объяснением этому может служить способность метилжасмоната уменьшать активность α -амилазы и уровень этилена, тем самым снижая всхожесть семян. Подобный эффект, в частности, обнаружен у растений *Zea mays* L. [Norastehnia et al., 2007] при обработке семян метилжасмонатом в концентрации от 50 до 500 мкМ.

Увеличение времени экспозиции до 24 часов повышало количество проросших семян на 10–12 % относительно контроля практически при всех исследуемых концентрациях метилжасмоната (табл.). Известно, что метилжасмонат может тормозить синтез абсцизовой кислоты (АБК), и это лежит в основе одного из возможных механизмов его положительного воздействия на прорастание семян. Так, у растений *T. aestivum* метилжасмонат (100 мкМ) ингибировал экспрессию гена биосинтеза АБК (*TaNCED1*) и индуцировал экспрессию гена его инактивации (*TaABA8'OH*), что приводило к снижению содержания АБК и, как следствие, увеличению всхожести семян [Jacobsen et al., 2013].

Нами также обнаружено, что все исследуемые обработки семян метилжасмонатом, кроме трехчасовой экспозиции в концентрации 1 мкМ

Количество проросших семян (%) пшеницы сорта Московская 39 после их обработки метилжасмонатом в различных концентрациях и при разной длительности

Number of germinated seeds (%) of wheat var. Moskovskaya 39 after treatment with different concentrations of methyl jasmonate over different exposure periods

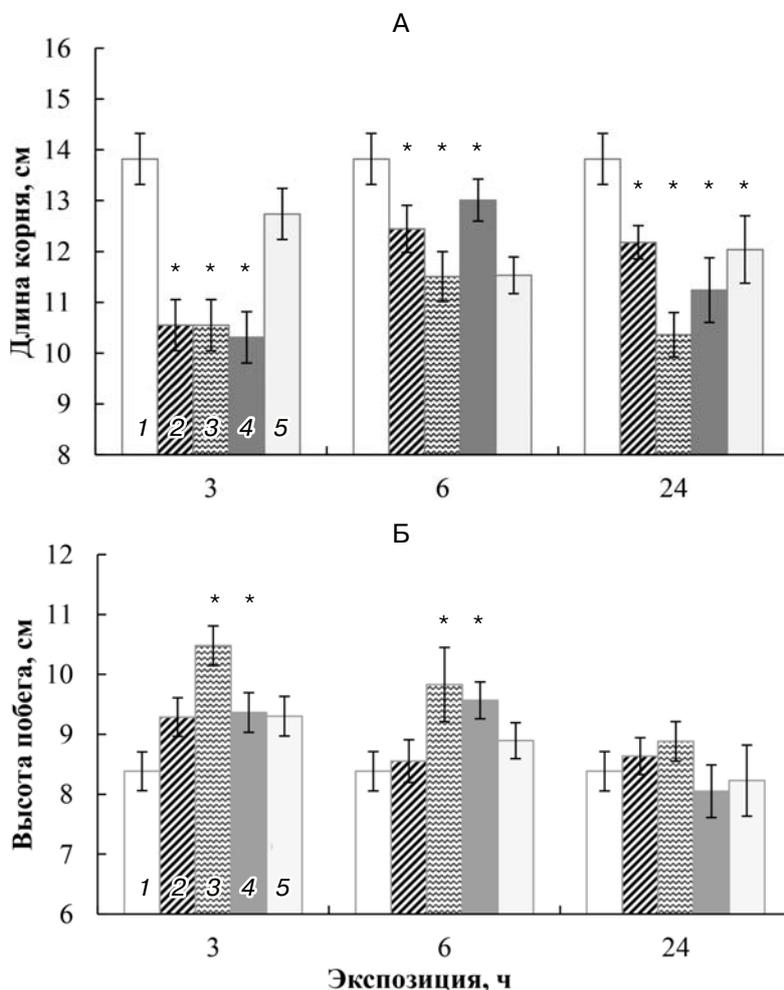
Концентрация метилжасмоната, мкМ Concentration of methyl jasmonate, μ M	Количество проросших семян, % Number of germinated seeds, %		
	Экспозиция, ч Exposure, h		
	3	6	24
0 (контроль / control)	84 \pm 2	84 \pm 2	84 \pm 2
0,001	84 \pm 2	92 \pm 2	96 \pm 3*
0,01	68 \pm 5*	84 \pm 6	94 \pm 5*
0,1	80 \pm 4	88 \pm 10	96 \pm 8
1	78 \pm 14	84 \pm 10	94 \pm 5*

Примечание. Здесь и на рисунке: * – отличия от контроля статистически значимы при $p < 0,05$.

Note. Here and in the Figure: * – differences from the control are statistically significant at $p < 0,05$.

и шестичасовой экспозиции в концентрации 0,1 мкМ, приводили к торможению роста корня. При этом наибольшее сокращение длины корня (на 25 % относительно контроля) отмечено при трехчасовой экспозиции семян в растворах метилжасмоната в концентрациях 0,001; 0,01 и 0,1 мкМ и при суточной экспозиции семян при концентрации метилжасмоната 0,01 мкМ (рис., А). Торможение роста корня, вызванное действием метилжасмоната, может быть связано с его способностью ингибировать митотический цикл, задерживая клетки в фазе G1 до S-фазового перехода [Noir et al., 2013]. Кроме того, жасмонаты стимулируют биосинтез ауксина, что, как известно, может приводить к замедлению роста корней [Wasternack, Hause, 2013].

В отличие от роста корня, выраженного ингибирующего действия метилжасмоната на рост побега не наблюдалось. Более того, обработка семян в течение 3 и 6 часов в растворе метилжасмоната в концентрации 0,01 мкМ приводила к увеличению высоты побега на 25 и 17 % соответственно по сравнению с контролем. Этот показатель был также больше контроля на 15 % при обработке семян метилжасмонатом в течение 3 и 6 часов в концентрации 0,1 мкМ (рис., Б). Стимулирующий эффект фитогормона может быть связан с накоплением цитокининов, что также обнаружено другими авторами у растений *T. aestivum* при их обработке метилжасмонатом в концентрации 0,1 мкМ [Сахабутдинова и др., 2009].



Влияние обработки семян метилжасмонатом в различных концентрациях (1 – контроль; 2 – 0,001; 3 – 0,01; 4 – 0,1; 5 – 1 мкМ) и при разной длительности на длину корня (А) и высоту побега (Б) проростков пшеницы с. Московская 39

Effect of seed treatment with methyl jasmonate at different concentrations (1 – control; 2 – 0,001; 3 – 0,01; 4 – 0,1; 5 – 1 μM) and over different exposure periods on the root length (A) and shoot height (B) of wheat seedlings var. Moskovskaya 39

Таким образом, проведенные исследования показали, что влияние метилжасмоната на прорастание семян *T. aestivum* сорта Московская 39 и начальный рост проростков в большей степени зависит от продолжительности его воздействия, чем от концентрации. При обработке семян метилжасмонатом в течение 3 и 6 часов стимулирующего действия фитогормона на прорастание семян не наблюдалось, тогда как суточная экспозиция приводила к увеличению количества проросших семян. Влияние обработки семян метилжасмонатом на рост корней не зависело от длительности: во всех вариантах опыта длина корня оказалась меньше, чем у контрольных растений. В отличие от этого высота побега при 3- и 6-часовом воздействии метилжасмоната на семена была при большинстве концентраций (0,01 и 0,1 мкМ) выше, чем в контроле, тогда как суточная экспозиция не приводила к такому эффекту.

Литература

ГОСТ 12038-84. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Дата введения: 1986-07-01.

Ершова М. А., Игнатенко Р. В., Новичонок Е. В., Чирва О. В., Галибина Н. А. Оптимизация условий стерилизации и культивирования эксплантов *Pinus sylvestris* (Pinaceae) // Растительные ресурсы. 2022. Т. 58, № 4. С. 431–446. doi: 10.31857/S0033994622040057

Колупаев Ю. Е., Ястреб Т. О. Жасмонатный сигналинг и адаптация растений к действию абиотических стрессоров (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2021. Т. 57, № 2. С. 3–23. doi: 10.31857/S0555109921010281

Сахабутдинова А. Р., Ласточкина О. В., Шакирова Ф. М. Влияние метилжасмоната на рост и гормональный статус проростков пшеницы // Агрохимия. 2009. № 7. С. 48–53.

Ali M., Hayat S., Ahmad H., Ghani M. I., Amin B., Atif M. J., Cheng Zh. Priming of *Solanum melongena* L. seeds enhances germination, alters antioxidant enzymes, modulates ros, and improves early seedling growth: indicating aqueous garlic extract as seed-priming bio-stimulant for eggplant production // Appl. Sci. 2019. Vol. 9(11). Art. 2203. doi: 10.3390/app9112203

Barzin G., Safari F., Bishekolaei R. Beneficial role of methyl jasmonate on morphological, physiological and phytochemical responses of *Calendula officinalis* L. under Chromium toxicity // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2022. Vol. 28, no. 7. P. 1453–1466. doi: 10.1007/s12298-022-01213-4

Bittner A., Cieśla A., Gruden K., Lukan T., Mahmud S., Teige M., Vothknecht U. C., Wurzing B. Organelles and phytohormones: a network of interactions in plant stress responses // J. Exp. Bot. 2022. Vol. 73, no. 21. P. 7165–7181. doi: 10.1093/jxb/erac384

Hassini I., Martinez-Ballesta M. C., Boughanmi N., Moreno D. A., Carvajal M. Improvement of broccoli sprouts (*Brassica oleracea* L. var. Italica) growth and quality by KCl seed priming and methyl jasmonate under salinity stress // Scientia Horticulturae. 2017. Vol. 226. P. 141–151. doi: 10.1016/j.scienta.2017.08.030

Jacobsen J. V., Barrero J. M., Hughes T., Julkowska M., Taylor J. M., Xu Q., Gubler F. Roles for blue light, jasmonate and nitric oxide in the regulation of dormancy and germination in wheat grain (*Triticum aestivum* L.) // Planta. 2013. Vol. 238. P. 121–138. doi: 10.1007/s00425-013-1878-0

Javadipour Z., Balouchi H., Dehnavi M. M., Yadavi A. Roles of methyl jasmonate in improving growth and yield of two varieties of bread wheat (*Triticum aestivum*) under different irrigation regimes // Agric. Water Manag. 2019. Vol. 222, no. 1. P. 336–345. doi: 10.1016/j.agwat.2019.06.011

Noir S., Bömer M., Takahashi N., Ishida T., Tsui T. L., Balbi V., Shanahan H., Sugimoto K., Devoto A. Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode // Plant Physiology. 2013. Vol. 161. P. 1930–1951. doi: 10.1104/pp.113.214908

Norastehnia A., Sajedi R. H., Nojavan-Asghari M. Inhibitory effects of methyl jasmonate on seed germination in maize (*Zea mays*): effect on α -amylase activity and ethylene production // Gen. Appl. Plant Physiology. 2007. Vol. 33, no. 1-2. P. 13–23.

Repkina N., Murzina S. A., Voronin V. P., Kaznina N. Does methyl jasmonate effectively protect plants under heavy metal contamination? Fatty acid content in wheat leaves exposed to cadmium with or without exogenous methyl jasmonate application // Biomolecules. 2023. Vol. 13. Art. 582. doi: 10.3390/biom13040582

Rhaman M. S., Imran Sh., Rauf F., Khatun M., Baskin C. C., Murata Y., Hasanuzzaman M. Seed priming with phytohormones: an effective approach for the mitigation of abiotic stress // Plants. 2021. Vol. 10(1). Art. 37. doi: 10.3390/plants10010037

Sirhindi G., Mushtaq R., Gill S. S., Sharma P., Abd Allah E. F., Ahmad P. Jasmonic acid and methyl jasmonate modulate growth, photosynthetic activity and expression of photosystem II subunit genes in *Brassica oleracea* L. // Scientific Reports. 2020. Vol. 10. Art. 9322. doi: 10.1038/s41598-020-65309-1

Wasternack C., Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in Annals of Botany // Ann. Bot. 2013. Vol. 111(6). P. 1021–1058. doi: 10.1093/aob/mct067

Yan S., Zhang T., Dong Sh., McLamore E. S., Wang N., Shan X., Shen Y., Wan Y. MeJa affects root growth by modulation of transmembrane auxin flux in the transition zone // J. Plant Growth Regul. 2016. Vol. 35. P. 256–265. doi: 10.1007/s00344-015-9530-9

References

Ali M., Hayat S., Ahmad H., Ghani M. I., Amin B., Atif M. J., Cheng Zh. Priming of *Solanum melongena* L. seeds enhances germination, alters antioxidant enzymes, modulates ros, and improves early seedling

growth: indicating aqueous garlic extract as seed-priming bio-stimulant for eggplant production. *Appl. Sci.* 2019;9(11):2203. doi: 10.3390/app9112203

Barzin G., Safari F., Bishehkolaei R. Beneficial role of methyl jasmonate on morphological, physiological and phytochemical responses of *Calendula officinalis* L. under chromium toxicity. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2022;28(7):1453–1466. doi: 10.1007/s12298-022-01213-4

Bittner A., Cieřla A., Gruden K., Lukan T., Mahmud S., Teige M., Vothknecht U. C., Wurzing B. Organelles and phytohormones: a network of interactions in plant stress responses. *J. Exp. Bot.* 2022;73(21):7165–7181. doi: 10.1093/jxb/erac384

Ershova M. A., Ignatenko R. V., Novichonok E. V., Chirva O. V., Galibina N. A. Optimization of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) explants sterilization protocol and cultivation conditions. *Rastitel'nye resursy = Plant Resources.* 2022;58(4):431–446. doi: 10.31857/S0033994622040057 (In Russ.)

GOST 12038-84. Agricultural seeds. Methods for determination of germination. Introduced: 1986-07-01. (In Russ.)

Hassini I., Martinez-Ballesta M. C., Boughanmi N., Moreno D. A., Carvajal M. Improvement of broccoli sprouts (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) growth and quality by KCl seed priming and methyl jasmonate under salinity stress. *Scientia Horticulturae.* 2017;226:141–151. doi: 10.1016/j.scienta.2017.08.030

Jacobsen J. V., Barrero J. M., Hughes T., Julkowska M., Taylor J. M., Xu Q., Gubler F. Roles for blue light, jasmonate and nitric oxide in the regulation of dormancy and germination in wheat grain (*Triticum aestivum* L.). *Planta.* 2013;238:121–138. doi: 10.1007/s00425-013-1878-0

Javadipour Z., Balouchi H., Dehnavi M. M., Yadavi A. Roles of methyl jasmonate in improving growth and yield of two varieties of bread wheat (*Triticum aestivum*) under different irrigation regimes. *Agric. Water Manag.* 2019;222(1):336–345. doi: 10.1016/j.agwat.2019.06.011

Kolupaev Yu. E., Yastreb T. O. Jasmonate signaling and plant adaptation to abiotic stresses (review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied*

Biochemistry and Microbiology. 2021;57(1):3–23. doi: 10.31857/S0555109921010281 (In Russ.)

Noir S., Bömer M., Takahashi N., Ishida T., Tsui T. L., Balbi V., Shanahan H., Sugimoto K., Devoto A. Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. *Plant Physiology.* 2013;161:1930–1951. doi: 10.1104/pp.113.214908

Norastehnia A., Sajedi R. H., Nojavan-Asghari M. Inhibitory effects of methyl jasmonate on seed germination in maize (*Zea mays*): effect on α -amylase activity and ethylene production. *Gen. Appl. Plant Physiology.* 2007;33(1-2):13–23.

Repkina N., Murzina S. A., Voronin V. P., Kaznina N. Does methyl jasmonate effectively protect plants under heavy metal contamination? Fatty acid content in wheat leaves exposed to cadmium with or without exogenous methyl jasmonate application. *Biomolecules.* 2023;13:582. doi: 10.3390/biom13040582

Rhaman M. S., Imran Sh., Rauf F., Khatun M., Baskin C. C., Murata Y., Hasanuzzaman M. Seed priming with phytohormones: an effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plants.* 2021;10(1):37. doi: 10.3390/plants10010037

Sakhabutdinova A. R., Lastochkina O. V., Shakirova F. M. Effect of methyl jasmonate on the growth and hormonal status of wheat seedlings. *Agrokimiya = Agrochemistry.* 2009;(7):48–53. (In Russ.)

Sirhindi G., Mushtaq R., Gill S. S., Sharma P., Abd Allah E. F., Ahmad P. Jasmonic acid and methyl jasmonate modulate growth, photosynthetic activity and expression of photosystem II subunit genes in *Brassica oleracea* L. *Scientific Reports.* 2020;10:9322. doi: 10.1038/s41598-020-65309-1

Wasternack C., Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany.* *Ann. Bot.* 2013;111(6):1021–1058. doi: 10.1093/aob/mct067

Yan S., Zhang T., Dong Sh., McLamore E. S., Wang N., Shan X., Shen Y., Wan Y. MeJa affects root growth by modulation of transmembrane auxin flux in the transition zone. *J. Plant Growth Regul.* 2016;35:256–265. doi: 10.1007/s00344-015-9530-9

Поступила в редакцию / received: 17.10.2023; принята к публикации / accepted: 30.10.2023.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Нилова Ирина Александровна

канд. биол. наук, научный сотрудник

e-mail: im-ira@mail.ru

Репкина Наталья Сергеевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: nrt9@ya.ru

Казнина Наталья Мстиславовна

д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник

e-mail: kaznina@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Nilova, Irina

Cand. Sci. (Biol.), Researcher

Repkina, Natal'ya

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Kaznina, Natal'ya

Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

(требования к работам, представляемым к публикации
в «Трудах Карельского научного центра Российской академии наук»)

«Труды Карельского научного центра Российской академии наук» (далее – Труды КарНЦ РАН) публикуют результаты завершённых оригинальных исследований в различных областях современной науки: теоретические и обзорные статьи, сообщения, материалы о научных мероприятиях (симпозиумах, конференциях и др.), персоналии (юбилеи и даты, утраты науки), статьи по истории науки. Представляемые работы должны содержать новые, ранее не публиковавшиеся данные.

Статьи проходят обязательное рецензирование. Решение о публикации принимается редакционной коллегией серии или тематического выпуска Трудов КарНЦ РАН после рецензирования, с учётом научной значимости и актуальности представленных материалов. Редколлегия серий и отдельных выпусков Трудов КарНЦ РАН оставляет за собой право возвращать без регистрации рукописи, не отвечающие настоящим правилам.

При получении редакцией рукопись регистрируется (в случае выполнения авторами основных правил ее оформления) и направляется на отзыв рецензентам. Отзыв состоит из ответов на типовые вопросы анкеты и может содержать дополнительные расширенные комментарии. Кроме того, рецензент может вносить замечания и правки в текст рукописи. Авторам высылаются электронная версия анкеты и комментарии рецензентов. Доработанный экземпляр автор должен вернуть в редакцию вместе с первоначальным экземпляром и ответом на все вопросы рецензента не позднее чем через месяц после получения рецензии. Перед опубликованием авторам высылаются электронная версия статьи, которую авторы вычитывают и заверяют.

Журнал имеет систему электронной редакции на базе Open Journal System (OJS), позволяющую вести представление и редактирование рукописи, общение автора с редколлегиями серий и рецензентами в электронном формате и обеспечивающую прозрачность процесса рецензирования при сохранении анонимности рецензентов (<http://journals.krc.karelia.ru/>).

Содержание выпусков Трудов КарНЦ РАН, аннотации и полнотекстовые электронные версии статей, а также другая полезная информация, включая настоящие Правила, доступны на сайтах – <http://transactions.krc.karelia.ru>; <http://journals.krc.karelia.ru>

Почтовый адрес редакции: 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, КарНЦ РАН, редакция Трудов КарНЦ РАН. Телефон: (8142) 762018.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСИ

Статьи публикуются на русском или английском языке. Рукописи должны быть тщательно выверены и отредактированы авторами.

Объём рукописи (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам, рисунки) не должен превышать: для обзорных статей – 30 страниц, для оригинальных – 25, для сообщений – 15, для хроники и рецензий – 5–6. Объём рисунков не должен превышать 1/4 объёма статьи. Рукописи большего объёма (в исключительных случаях) принимаются при достаточном обосновании по согласованию с ответственным редактором.

При оформлении рукописи применяется полуторный межстрочный интервал, шрифт Times New Roman, кегль 12, выравнивание по обоим краям. Размер полей страницы – 2,5 см со всех сторон. Все страницы, включая список литературы и подписи к рисункам, должны иметь сплошную нумерацию в нижнем правом углу. Страницы с рисунками не нумеруются.

Рукописи подаются в электронном виде в формате MS Word в систему электронной редакции на сайте <http://journals.krc.karelia.ru> либо высылаются на e-mail: trudy@krc.karelia.ru, или же представляются в редакцию лично (г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, каб. 502).

Для публикации в выпусках серии «Математическое моделирование и информационные технологии» рукописи принимаются в формате .tex (LaTeX 2ε) с использованием стилевого файла, который находится по адресу <http://transactions.krc.karelia.ru/section.php?id=755>.

Обязательные элементы рукописи располагаются в следующем порядке:

УДК курсивом в левом верхнем углу первой страницы; заглавие статьи на русском языке полужирным шрифтом; инициалы и фамилии авторов на русском языке полужирным шрифтом; полное название и полный почтовый адрес организации – места работы каждого автора в именительном падеже на русском языке курсивом (если авторов несколько и работают они в разных учреждениях, следует отметить арабскими цифрами соответствие фамилий авторов аффилированным организациям; следует отметить звездочкой автора, ответственного за переписку, и указать в аффилиации его электронный адрес); аннотация на русском языке; ключевые слова на русском языке; указание источников финансирования выполненных исследований на русском языке.

Далее располагаются все вышеуказанные элементы на английском языке.

Текст статьи (статьи экспериментального характера, как правило, должны иметь разделы: **Введение. Материалы и методы. Результаты и обсуждение. Выводы** либо **Заключение**); благодарности; списки литературы на языке оригинала (**Литература**) и на английском языке (**References**); таблицы на русском и английском языках (на отдельных листах); рисунки (на отдельных листах); подписи к рисункам на русском и английском языках (на отдельном листе).

На отдельном листе дополнительные сведения об авторах: фамилии, имена, отчества всех авторов полностью на русском и английском языке; должности, ученые звания, ученые степени авторов; адрес электронной почты каждого автора; можно указать телефон для контакта редакции с авторами статьи.

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ должно точно отражать ее содержание и состоять из 8–10 значащих слов.

АННОТАЦИЯ должна быть лишена вводных фраз, создавать возможно полное представление о содержании статьи и иметь объем не менее 200 слов. Рукопись с недостаточно раскрывающей содержание аннотацией может быть отклонена.

Отдельной строкой приводится перечень КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (как правило, не менее пяти). Ключевые слова или словосочетания отделяются друг от друга точкой с запятой, в конце точка не ставится.

Раздел «Материалы и методы» должен содержать сведения об объекте исследования с обязательным указанием латинских названий и сводок, по которым они приводятся, авторов классификаций и пр. Транскрипция географических названий должна соответствовать атласу последнего года издания. Единицы физических величин приводятся по Международной системе СИ. Желательна статистическая обработка всех количественных данных. Необходимо возможно точнее обозначать местонахождения (в идеале – с точным указанием географических координат).

Изложение результатов должно заключаться не в пересказе содержания таблиц и графиков, а в выявлении следующих из них закономерностей. Автор должен сравнить полученную им информацию с имеющейся в литературе и показать, в чем заключается ее новизна. На табличный и иллюстративный материал следует ссылаться так: на рисунки, фотографии и таблицы в тексте (рис. 1, рис. 2, табл. 1, табл. 2 и т.д.), фотографии, помещаемые на наклейках (рис. I, рис. II). Обсуждение завершается формулировкой в разделе «Заключение» основного вывода, которая должна содержать конкретный ответ на вопрос, поставленный во «Введении». Ссылки на литературу в тексте даются фамилиями, например: Карху, 1990 (один автор); Раменская, Андреева, 1982 (два автора); Крутов и др., 2008 (три автора или более) либо первым словом описания источника, приведенного в списке литературы, и заключаются в квадратные скобки. При перечислении нескольких источников работы располагаются в хронологическом порядке, например: [Иванов, Топоров, 1965; Успенский, 1982; Erwin et al., 1989; Атлас..., 1994; Longman, 2001].

ТАБЛИЦЫ нумеруются в порядке упоминания их в тексте, каждая таблица имеет свой заголовок. Заголовки таблиц, заголовки и содержание столбцов, строк, а также примечания приводятся на русском и английском языках. Диаграммы и графики не должны дублировать таблицы. Материал таблиц должен быть понятен без дополнительного обращения к тексту. Все сокращения, использованные в таблице, поясняются в Примечании, расположенном под ней. При повторении цифр в столбцах нужно их повторять, при повторении слов – в столбцах ставить кавычки. Таблицы могут быть книжной или альбомной ориентации.

РИСУНКИ представляются отдельными файлами с расширением TIFF (*.TIF) или JPG. При первичной подаче материала в редакцию рисунки вставляются в общий текстовый файл. При сдаче материала, принятого в печать, все рисунки должны быть представлены в виде отдельных файлов в вышеуказанном формате. Графические материалы могут быть снабжены указанием желательного размера рисунка, пожеланиями и требованиями к конкретным иллюстрациям. На каждый рисунок должна быть как минимум одна ссылка в тексте. Иллюстрации объектов, исследованных с помощью фотосъемки, микроскопа (оптического, электронного трансмиссионного и сканирующего), должны сопровождаться масштабными линейками, причем в подрисуночных подписях надо указать длину линейки. Приводить данные о кратности увеличения необязательно, поскольку при публикации рисунков размеры изменятся. Карты желательно приводить с координатной сеткой, обозначениями населенных пунктов и/или названиями физико-географических объектов и разной фактурой для воды и суши. В углу карты желательна врезка с картой более мелкого масштаба, где обозначен представленный на основной карте участок.

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ приводятся на русском и английском языках, должны содержать достаточную информацию для того, чтобы приводимые данные могли быть понятны без обращения к тексту (если эта информация уже не дана в другой иллюстрации). Аббревиации расшифровываются в подрисуночных подписях, детали на рисунках следует обозначать цифрами или буквами, значение которых также приводится в подписях.

ЛАТИНСКИЕ НАЗВАНИЯ. Названия таксонов рода и вида даются курсивом. Для флористических, фаунистических и таксономических работ при первом упоминании в тексте и таблицах приводится русское название вида (если такое название имеется) и полностью – латинское, с автором и желательным годом, например: водяной ослик (*Asellus aquaticus* (L., 1758)). В дальнейшем можно употреблять только русское название или сокращенное латинское без фамилии автора и года опубликования, например, для брюхоногого моллюска *Margarites groenlandicus* (Gmelin, 1790) – *M. groenlandicus* или для подвида *M. g. umbilicalis*.

СОКРАЩЕНИЯ. Разрешаются лишь общепринятые сокращения – названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все прочие сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа общеупотребительных.

БЛАГОДАРНОСТИ. Располагаются после основного текста статьи отдельным абзацем, в котором авторы выражают признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и организациям, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи.

ИНФОРМАЦИЯ О КОНФЛИКТЕ ИНТЕРЕСОВ. При подаче статьи авторы должны раскрыть потенциальные конфликты интересов, которые могут быть восприняты как оказавшие влияние на результаты или выводы, представленные в работе. Если конфликт интересов отсутствует, следует об этом сообщить в отдельной формулировке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ следует оформлять по ГОСТ Р 7.0.5-2008. Источники располагаются в алфавитном порядке. Все ссылки даются на языке оригинала (названия на японском, китайском и других языках, использующих нелатинский шрифт, пишутся в русской транскрипции). Сначала приводится список работ на русском языке и на языках с близким алфавитом (украинский, болгарский и др.), а затем – работы на языках с латинским алфавитом. В списке литературы между инициалами авторов ставится пробел.

REFERENCES. Приводится отдельным списком, повторяя все позиции основного списка литературы. Библиографические записи источников оформляются согласно стилю Vancouver (см. примеры в ГОСТ Р 7.0.7-2021 и образцы ниже) и располагаются в алфавитном порядке. Заголовки русскоязычных работ приводятся на английском языке; для журналов и сборников, в которых размещены цитируемые работы, указывается параллельное английское наименование (при его наличии) либо русскоязычное наименование приводится в латинской транслитерации (вариант BSI) с переводом на английский язык. Прочие элементы библиографической записи приводятся на английском языке (русскоязычное название издательства транслитерируется). При наличии переводной версии источника в References желательным указать ее. Библиографические описания прочих работ приводятся на языке оригинала.

Для каждого источника обязательно указание DOI при его наличии; если приводится адрес интернет-страницы источника (URL), нужно указать дату обращения к ней.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ 1-Й СТРАНИЦЫ

УДК 577.125.8

СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ, ИМЕЮЩИХ РАЗНЫЕ АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ ACE (RS4340) И CYP11B2 (RS1799998)

Л. В. Топчиева^{1*}, О. В. Балан¹, В. А. Корнева², И. Е. Малышева¹

¹Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *topchieva@ya.ru

²Петрозаводский государственный университет (просп. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910)

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: артериальная гипертензия; оксид азота; индуцибельная синтаза оксида азота; ангиотензинпревращающий фермент; инсерционно-делеционный полиморфизм гена ACE; альдостеронсинтаза; ген CYP11B2

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0077).

L. V. Topchieva^{1*}, O. V. Balan¹, V. A. Korneva², I. E. Malysheva¹. THE NITRIC OXIDE LEVEL IN THE BLOOD OF HEALTHY PEOPLE AND PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION CARRYING DIFFERENT ALLELE VARIANTS OF THE ACE (RS4340) AND CYP11B2 (RS1799998) GENES

¹Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *topchieva@ya.ru

²Petrozavodsk State University (33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

Аннотация на английском языке

Keywords: arterial hypertension; nitric oxide; inducible nitric oxide synthase; angiotensin-converting enzyme; insertion-deletion polymorphism of ACE genes; aldosterone synthase; CYP11B2 gene

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS (0218-2019-0077).

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ

Таблица 2. Ультраструктура клеток мезофилла листа в последствии 10-минутного охлаждения (2 °С) проростков или корней пшеницы

Table 2. Ultrastructure of leaf mesophyll cells after the exposure of wheat seedlings or roots to 10 min of chilling at 2 °C

Показатель Index	Контроль Control	Охлаждение проростков Seedling chilling	Охлаждение корней Root chilling
Площадь среза хлоропласта, мкм ² Chloroplast cross-sectional area, μm ²	10,0 ± 0,7	13,5 ± 1,1	12,7 ± 0,5
Площадь среза митохондрии, мкм ² Mitochondria cross-sectional area, μm ²	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,03	0,6 ± 0,04
Площадь среза пероксисомы, мкм ² Peroxisome cross-sectional area, μm ²	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Число хлоропластов на срезе клетки, шт. Number of chloroplasts in cell cross-section	9 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число митохондрий на срезе клетки, шт. Number of mitochondria in cell cross-section	8 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число пероксисом на срезе клетки, шт. Number of peroxisomes in cell cross-section	2 ± 0,3	2 ± 0,3	3 ± 0,4

Примечание. Здесь и в табл. 3: все параметры ультраструктуры измеряли через 24 ч после охлаждения.

Note. Here and in Tab. 3 all ultrastructure parameters were measured 24 h after chilling.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ПОДПИСИ К РИСУНКУ

Рис. 1. Северный точильщик (*Hadrobregmus confuses* Kraaz.)

Fig. 1. Woodboring beetle *Hadrobregmus confuses* Kraaz.

Рис. 5. Результаты изучения кристаллитов и демпферных зон в образце кварца из Дульдурги:

а – электронная микрофотография кварца; б – картина микродифракции, полученная для участка 1 в области кристаллитов; в – картина микродифракции, отвечающая участку 2 в области демпферных зон

Fig. 5. Results of the study of crystallites and damping zones in a quartz sample from Dulldurga:

а – electron microphotograph of the quartz sample; б – microdiffraction image of site 1 in the crystallite area; в – microdiffraction image corresponding to site 2 in the damping area

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ССЫЛОК В СПИСКАХ ЛИТЕРАТУРЫ

Ссылки на книги

Литература:

Вольф Г. Н. Дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм в органической химии / Ред. Г. Снатцке. М.: Мир, 1970. С. 348–350.

Патрушев Л. И. Экспрессия генов. М.: Наука, 2000. 830 с.

Красная книга Республики Карелия / Ред. О. Л. Кузнецов. Белгород: Константа, 2020. 448 с.

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques / Eds. P. V. Sundaram, F. L. Eckstein. N. Y., San Francisco: Acad. Press, 1978. P. 169–188.

References:

Vol'f G. N. Optical rotatory dispersion and circular dichroism in Organic Chemistry. Moscow: Mir Publ.; 1970. P. 348–350. (In Russ.)

Patrushev L. I. Gene expression. Moscow: Nauka Publ.; 2000. 830 p. (In Russ.)

Kuznetsov O. L. (ed.). Red Data Book of the Republic of Karelia. Belgorod: Konstanta Publ.; 2020. 448 p. (In Russ.)

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques. N. Y., San Francisco: Acad. Press; 1978. P. 169–188.

Ссылки на статьи

Литература:

Викторов Г. А. Межвидовая конкуренция и сосуществование экологических гомологов у паразитических перепончатокрылых // Журнал общей биологии. 1970. Т. 31, № 2. С. 247–255.

Колосова Ю. С., Подболоцкая М. В. Популяционная динамика шмелей (Hymenoptera, Apidae, *Bombus* Latr.) на Соловецком архипелаге: итоги 10-летнего мониторинга // Труды Русского энтомологического общества. 2010. Т. 81, № 2. С. 135–141.

Grove D. J., Loisesides L., Nott J. Satiation amount, frequency of feeding and emptying rate in *Salmo gairdneri* // J. Fish. Biol. 1978. Vol. 12, no. 4. P. 507–516.

Nartshuk E. P., Przhiboro A. A. A new species of *Incertella* Sabrosky (Diptera: Chloropidae) from the White Sea coast, Russian Karelia // Entomologica Fennica. 2009. Vol. 20, no. 1. P. 4–8. doi: 10.33338/ef.84453

References:

Viktorov G. A. Interspecific competition and coexistence ecological homologues in parasitic Hymenoptera. *Biology Bulletin Reviews*. 1970;31(2):247–255. (In Russ.)

Kolosova Yu. S., Podbolotskaya M. V. Population dynamics of bumblebees (Hymenoptera, Apidae, *Bombus* Latr.) in the Solovetsky archipelago: results of 10-year monitoring. *Trudy Russ. entomol. obshchestva = Proceed. Russ. Entomol. Soc.* 2010;81(2):135–141. (In Russ.)

Grove D. J., Loisesides L., Nott J. Satiation amount, frequency of feeding and emptying rate in *Salmo gairdneri*. *J. Fish. Biol.* 1978;12(4):507–516.

Nartshuk E. P., Przhiboro A. A. A new species of *Incertella* Sabrosky (Diptera: Chloropidae) from the White Sea coast, Russian Karelia. *Entomologica Fennica*. 2009;20(1):4–8. doi: 10.33338/ef.84453

Ссылки на материалы конференций

Литература:

Марьинских Д. М. Разработка ландшафтного плана как необходимое условие устойчивого развития города (на примере Тюмени) // Экология ландшафта и планирование землепользования: Тезисы докл. Всерос. конф. (Иркутск, 11–12 сент. 2000 г.). Новосибирск, 2000. С. 125–128.

References:

Mar'inskikh D. M. Landscape planning as a necessary condition for sustainable development of a city (example of Tyumen). *Ekologiya landshafta i planirovanie zemlepol'zovaniya: Tezisy dokl. Vseros. konf. (Irkutsk, 11–12 sent. 2000 g.) = Landscape ecology and land-use planning: abstracts of all-Russian conference (Irkutsk, Sept. 11–12, 2000)*. Novosibirsk; 2000. P. 125–128. (In Russ.)

Ссылки на диссертации или авторефераты диссертаций

Литература:

Шефтель Б. И. Экологические аспекты пространственно-временных межвидовых взаимоотношений землероек Средней Сибири: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985. 23 с.

Лозовик П. А. Гидрогеохимические критерии состояния поверхностных вод гумидной зоны и их устойчивости к антропогенному воздействию: Дис. ... д-ра хим. наук. Петрозаводск, 2006. 481 с.

References:

Sheftel' B. I. Ecological aspects of spatio-temporal interspecies relations of shrews of Middle Siberia: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Moscow; 1985. 23 p. (In Russ.)

Lozovik P. A. Hydrogeochemical criteria of the state of surface water in humid zone and their tolerance to anthropogenic impact: DSc (Dr. of Chem.) thesis. Petrozavodsk; 2006. 481 p. (In Russ.)

Ссылки на патенты

Литература:

Еськов Д. Н., Серегин А. Г. Оптико-электронный аппарат / Патент России № 2122745. 1998. Бюл. № 33.

References:

Es'kov D. N., Seregin A. G. Optoelectronic apparatus. Russian patent No. 2122745. 1998. Bull. No. 33. (In Russ.)

Ссылки на архивные материалы

Литература:

Гребенщиков Я. П. К небольшому курсу по библиографии: материалы и заметки, 26 февр. – 10 марта 1924 г. // ОР РНБ. Ф. 41. Ед. хр. 45. Л. 1–10.

References:

Grebenshchikov Ya. P. Brief course on bibliography: the materials and notes, Febr. 26 – March 10, 1924. *OR RNB*. F. 41. St. un. 45. L. 1–10. (In Russ.)

Ссылки на интернет-ресурсы

Литература:

Паринов С. И., Ляпунов В. М., Пузырев Р. Л. Система Соционет как платформа для разработки научных информационных ресурсов и онлайн-сервисов // Электрон. б-ки. 2003. Т. 6, вып. 1. URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (дата обращения: 25.11.2006).

References:

Parinov S. I., Lyapunov V. M., Puzyrev R. L. Socionet as a platform for development of scientific information resources and online services. *Elektron. b-ki = Digital library*. 2003;6(1). (In Russ.) URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (accessed: 25.11.2006).

Transactions of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences
No. 7, 2023
“EXPERIMENTAL BIOLOGY” Series

TABLE OF CONTENTS

EXPERIMENTAL ARTICLES

E. V. Ivanter. ANALYSIS OF MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND THEIR DYNAMICS DURING THE LIFE CYCLE OF THE BANK VOLE <i>MYODES (CLETHRIONOMYS) GLAREOLUS</i> SCHR. NOTE I. BODYWEIGHT, HEART AND LIVER INDICES	5
E. V. Ivanter. ANALYSIS OF MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND THEIR DYNAMICS DURING THE LIFE CYCLE OF THE BANK VOLE <i>MYODES (CLETHRIONOMYS) GLAREOLUS</i> SCHR. NOTE II. INDICES OF KIDNEYS, SPLEEN, ADRENAL GLANDS, THYMUS, INTESTINAL LENGTH . . .	22
T. N. Ilyina, I. V. Baishnikova, E. A. Khizhkin. EFFECT OF LONG-TERM CONSTANT DARKNESS ON RETINOL IN PERIPHERAL TISSUES OF RATS	42
A. R. Unzhakov, E. P. Antonova, S. N. Kalinina. DISTRIBUTION OF ISOENZYME SPECTRA OF LACTATE DEHYDROGENASE IN TISSUES OF INVASIVE MAMMAL SPECIES IN KARELIA	52
R. U. Vysotskaya, E. A. Buoy, I. N. Bakhmet, S. A. Murzina. PARTICIPATION OF LYSOSOMAL GLYCOSIDASES IN ADAPTIVE RESPONSES OF MUSSELS <i>MYTILUS EDULIS</i> L. TO THE IMPACT OF NICKEL UNDER VARIABLE WATER SALINITY	61
S. V. Matrosova, N. A. Sidorova, T. Yu. Kuchko, I. V. Kamenev, G. D. Preobrazhensky, E. V. Prazdnova. EXPERIENCE OF USING THE FEED ADDITIVE FLAVOMYCIN 80 IN REARING RAINBOW TROUT IN A RECYCLING WATER SYSTEM (RVC)	73
M. A. Perevozchikova, I. A. Domskiy, A. A. Sergeev, Yu. A. Berezina, O. Yu. Bespyatykh, A. S. Syutkina. A STUDY OF POST-MORTEM HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF ARCTIC FOXES, <i>VULPES LAGOPUS</i> (LINNAEUS, 1758)	83
I. A. Vinogradova, D. V. Varganova, Yu. P. Matveeva, O. V. Zhukova. A STUDY OF THE ACUTE TOXICITY OF A MINERAL COMPLEX CONTAINING CALCIUM, MAGNESIUM, ZINC, SELENIUM	97
L. V. Topchieva, V. A. Korneva, D. A. Atorin. ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF <i>IL1RN</i> GENE ALLELIC POLYMORPHISM WITH THE DEVELOPMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION	106
N. Yu. Egorova, A. S. Syutkina. LIPID PEROXIDATION LEVELS IN LEAVES OF <i>VACCINIUM MYRTILLUS</i> L. IN URBAN FORESTS OF THE KIROV CITY'S GREEN BELT	117
RESEARCH METHODS	
S. A. Simonov, M. V. Matantseva. A METHOD OF MAKING COLORED PLASTIC RINGS TO MARK BIRDS	126

SHORT COMMUNICATIONS

I. A. Nilova, N. S. Repkina, N. M. Kaznina. THE EFFECT OF METHYL JASMONATE ON SEED GERMINATION AND INITIAL GROWTH OF SEEDLINGS IN WINTER WHEAT 132

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS 138

Научный журнал

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 7, 2023

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

*Печатается по решению Ученого совета
Федерального исследовательского центра
«Карельский научный центр Российской академии наук»*

Выходит 8 раз в год

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций
Регистрационная запись ПИ № ФС 77-72429 от 28.02.2018 г.

Редактор А. И. Мокеева
Компьютерная верстка Л. Э. Бюркланд

Подписано в печать 23.11.2023. Дата выхода 30.11.2023. Формат 60x84^{1/8}.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 16,7. Усл. печ. л. 17,0.
Тираж 100 экз. Заказ 792. Цена свободная

Учредитель и издатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук»
185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

Оригинал-макет: Редакция научного издания «Труды КарНЦ РАН»

Типография: Редакционно-издательский отдел КарНЦ РАН
185030, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50