

УДК 598.115.33:591.145.3

ТОКСИЧНОСТЬ ЯДОВИТОГО СЕКРЕТА САМЦОВ И САМОК ГАДЮК ВОЛЖСКОГО БАССЕЙНА

© 2017 Р.А. Горелов

Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти (Россия)

Поступила 15.02.2017

В статье приведены результаты определения среднесмертельных доз (ЛД₅₀) ядовитого секрета гадюк обыкновенной *Vipera berus* и восточной степной *V. renardi* на насекомых, земноводных и млекопитающих. Статистически значимые различия в токсичности яда самцов и самок обоих видов гадюк для исследованных пищевых объектов не выявлены.

Ключевые слова: обыкновенная гадюка *Vipera berus*, гадюка Ренара *V. renardi*, ядовитый секрет, среднесмертельная доза ЛД₅₀, банановые сверчки *Gryllus locorojo*, озерные лягушки *Pelophylax ridibundus*, лабораторные мыши *Mus musculus*.

Gorelov R.A. Venom's toxicity of males and females vipers from the Volga river basin – The results of average lethal doses (DL₅₀) measurement in common adder *Vipera berus* and Renard's viper *V. renardi* venoms for insects, amphibians and mammals are given in the article. Statistically significant distinctions in toxicity of males and females venom of both viper's species for the studied food objects are not revealed.

Key words: common adder *Vipera berus*, Renard's viper *V. renardi*, snake venom, average lethal dose DL₅₀, banana crickets *Gryllus locorojo*, lake frogs *Pelophylax ridibundus*, mouses *Mus musculus*.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование токсичности змеиных ядов включает, прежде всего, определение средней летальной (среднесмертельной) дозы ЛД₅₀ ядовитого секрета на лабораторных животных. ЛД₅₀ определяется как статистически полученное выражение разовой дозы вещества, вызывающей гибель 50% экспериментальных животных. Токсичность, выраженная в среднесмертельных дозах ЛД₅₀, является наиболее распространенной интегральной характеристикой биологической активности змеиных ядов, позволяющая проводить сопоставительный анализ в одинаковых единицах (Гелашвили и др., 2015).

Основная методическая схема определения ЛД₅₀ хорошо разработана и состоит во введении возрастающих доз токсина группам экспериментальных животных для определения дозы, вызывающей гибель 50% животных опытной группы, путем определения функции «доза-ответ» (Беленький, 1963). В токсикологических экспериментах для определения ЛД₅₀ змеиных ядов используют лабораторных мышей, крыс, морских свинок, кроликов и другие виды лабораторных животных. Считается целесообразным использовать в токсикологических экспериментах те виды животных, которые являются пищевыми объектами (добычей) ядовитых змей в есте-

¹Горелов Роман Андреевич, аспирант, gorelov.roman@mail.ru

ственных условиях. Для определения ЛД₅₀ ядов гадюк (обыкновенной *V. berus* и восточной степной *V. renardi*) мы использовали в качестве экспериментальных животных мышей, лягушек и сверчков. Все вышеперечисленные таксоны животных в той или иной степени составляют основу рациона двух исследуемых видов гадюк, встречающихся в Волжском бассейне (Бакиев и др., 2015).

Считается, что токсичность ядовитого секрета змей может быть различной в зависимости от видовой и подвиговой принадлежности змей, географического положения популяций, от возраста, пола и физиологического состояния особей (Chirraux et al., 1991). В яде гадюк, населяющих бассейн Волги, на разных пищевых объектах мы выявили межвидовые и географические особенности, определяющие токсичность их ядовитого секрета (Маленев и др., 2013; Маленев и др., 2014; Бакиев и др., 2015; Горелов и др., 2016; Горелов, Маленев, 2016). При этом различия в значениях ЛД₅₀ яда, продуцируемого самцами и самками гадюк, детально не исследовались. Поэтому целью данной работы явился сравнительный анализ среднесмертельных доз яда самцов и самок обыкновенных и ренаровых гадюк, встречающихся в бассейне Волги.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ядовитый секрет гадюк. Обыкновенные гадюки *Vipera berus* были отловлены в Красноглинском районе г. Самара в мае 2013 г. Гадюк отлавливали в одном месте, в одно время, и ядовзятия проводили одновременно. Это было сделано для того, чтобы свести к минимуму влияние других возможных факторов изменчивости свойств ядовитого секрета (географического, сезонного и т.п.). Восточные степные гадюки (гадюки Ренара) *V. renardi* были отловлены в окрестностях с. Верхняя Добринка Камышинского района Волгоградской области также в мае 2013 г.

Ядовитый секрет от самцов и самок обоих видов гадюк собирали и анализировали отдельно. Все процедуры получения, высушивания и хранения ядовитого секрета проводили в лаборатории стандартными методами.

Сверчки. Определение ЛД₅₀ яда ренаровых гадюк *V. renardi* проводили на лабораторной культуре банановых сверчков *Gryllus locorojo*. Масса насекомых в опыте составляла 0,6-0,8 г (общая выборка самцов и самок на стадии предимаго). В экспериментах использовали водный раствор яда самцов и самок гадюк в концентрации 2,0 мг/мл. Было проанализировано 6 доз яда (5, 10, 20, 30, 40 и 60 мкг/г) по 5 шт. сверчков для каждой дозы. Инъекции растворов яда проводили внутрибрюшинно в правую нижнюю четверть брюшка с дорзальной стороны. Определение среднесмертельной дозы каждого образца было проведено дважды, и в результатах представлены усредненные данные по двум независимым экспериментам.

Лягушки. При определении ЛД₅₀ яда обыкновенных гадюк *V. berus* использовали сеголетков озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* массой 2,0-3,0 г., отловленных в пойме р. Ахтуба (Красноярский район Астраханской области, окрестности ст. Досанг). В опыте лягушкам вводили водные растворы яда в концентрации 5,0 мг/мл и проанализировали 6 доз (5, 10, 20, 40, 60 и 80 мкг/г) по 5 шт. лягушат для каждой. Инъекции растворов яда проводили внутрибрюшинно в правую нижнюю четверть брюшка с вентральной стороны. Определение ЛД₅₀ каждого образца яда также проводили дважды.

Мыши. Белых лабораторных (инбредных) мышей *Mus musculus* содержали и разводили в виварии. В токсикологических экспериментах использовали мышей-

самцов массой 19,0-21,0 г, объединенных в группы по 5 шт. для каждой экспериментальной дозы. В этой серии проанализировали ядовитый секрет обыкновенных гадюк *V. berus* из Самары и яд ренаровых гадюк *V. renardi* из Волгоградской области. Образцы ядов растворяли в физиологическом растворе и вводили мышам внутривентрально в правую нижнюю четверть брюшка с вентральной стороны, осторожно фиксируя животных на спине.

При определении ЛД₅₀ яда двух видов гадюк диапазон исследуемых доз несколько различался: яд *V. berus* использовали в концентрации 3,0 мг/мл и проанализировали 5 доз (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 мкг/г). Ядовитый секрет *V. renardi* использовали в концентрации 5,0 мг/мл и также проанализировали 5 доз (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкг/г).

Контрольной группе животных вводили только физиологический раствор. Наблюдение за животными прекращали через 24 часа, фиксируя количество погибших и выживших животных. Расчет значений ЛД₅₀ (средняя и ее ошибка) проводили с помощью модифицированного пробит-анализа (Безруков и др., 1995; Гелашвили и др., 2015).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения среднесмертельных доз ЛД₅₀ ядов обоих видов гадюк на разных объектах представлены в таблице. Как видно из данных таблицы, ни в одном из рассматриваемых случаев статистически значимых половых различий в ЛД₅₀ яда мы не обнаружили. Эти результаты свидетельствуют о том, что самцы и самки гадюк из одной популяции продуцируют одинаково токсичный ядовитый секрет и, скорее всего, не обладают какими-либо преимуществами в умерщвлении потенциальных пищевых объектов.

Таблица

Значения ЛД₅₀ яда двух видов гадюк для разных объектов

Вид гадюк	Пол	Объект	ЛД ₅₀ , мкг/г	t_{ϕ}	P
<i>V. renardi</i>	самцы	сверчки	22,2±3,62	0,117	>0,05
	самки		22,8±3,86		
<i>V. berus</i>	самцы	лягушки	47,4±3,31	0,278	>0,05
	самки		46,0±3,79		
<i>V. berus</i>	самцы	мыши	1,5±0,16	0,781	>0,05
	самки		1,3±0,20		
<i>V. renardi</i>	самцы	мыши	3,2±0,62	0,102	>0,05
	самки		3,1±0,75		

Примечание: приведенные результаты получены при внутривентральном введении растворов яда экспериментальным животным.

Ранее при подкожном введении яда мышам также было показано, что значения ЛД₅₀ яда самцов и самок обыкновенных гадюк не имеют статистически значимых различий: ЛД₅₀ яда самцов составила 3,9±0,52 мкг/г, самок – 3,7±0,50 мкг/г ($t_{\phi}=0,390$; $P>0,05$), т.е. самцы и самки продуцируют ядовитый секрет, одинаково токсичный для мышей (Маленев и др., 2007). Эти результаты были получены на ядовитом секрете обыкновенных гадюк из того же локалитета (Красноглинский район г. Самара).

Аналогичные результаты были получены и другими исследователями, в работах которых было показано отсутствие половых различий в токсичности ядов у других видов змей (Glenn, Straight, 1977; 1978). Как считают исследователи, пол змей не является причиной, влияющей на изменчивость свойств ядов (Latifi, 1984).

Дополнительным аргументом в пользу этих выводов служат результаты определения активности ферментов в ядовитом секрете исследуемых видов гадюк. Так, при анализе индивидуальных образцов ядовитого секрета было показано, что самцы и самки обыкновенной гадюки из одного локалитета продуцируют ядовитый секрет с одинаковой активностью протеаз и оксидазы L-аминокислот (Зайцева, 2011). Отсутствие половых различий в активности этих ферментов было отмечено позднее и в ядовитом секрете восточных степных гадюк (Бакиев и др., 2015).

Таким образом, приведенные экспериментальные данные определения ЛД₅₀ яда самцов и самок двух видов гадюк, полученные на нескольких группах животных, являющихся добычей гадюк в естественных условиях, позволяют сделать вывод о том, что внутри одного локалитета самцы и самки гадюк продуцируют одинаково токсичный ядовитый секрет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бакиев А.Г., Гаранин В.И., Гелашвили Д.Б. и др. Гадюки (Reptilia: Serpentes: Viperidae: *Vipera*) Волжского бассейна. Часть 1. Тольятти: Кассандра, 2015. 234 с. – **Безруков М.Е., Гелашвили Д.Б., Силкин А.А.** Методы токсикометрии в биомониторинге // Экологический мониторинг. Методы биомониторинга: Уч. пособие. Часть II. Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 1995. С. 388-441. – **Беленький М.Л.** Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Изд-во мед. лит-ры, 1963. 152 с.

Гелашвили Д.Б., Крылов В.Н., Романова Е.Б. Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты. Учебное пособие. Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2015. 770 с. – **Горелов Р.А., Маленёв А.Л.** Токсичность яда гадюк Волжского бассейна для насекомых // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2016. Т. 25, № 3. С. 155-161. – **Горелов Р.А., Маленев А.Л., Атяшева Т.Н., Гордеев Д.А., Прилипко С.К.** Токсичность ядовитого секрета гадюк *Vipera renardi* и *V. berus* для ящериц // Изв. Самар. НЦ РАН. 2016. Т. 18. № 5(3). С. 415-418.

Зайцева О.В. Популяционные особенности ядовитого секрета обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) в Волжском бассейне: Дис. ... канд. биол. наук. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2011. 108 с.

Маленев А.Л., Горелов Р.А., Бакиев А.Г. Токсичность яда обыкновенной гадюки *Vipera berus* для озерных лягушек *Pelophylax ridibundus* // Изв. Самар. НЦ РАН. 2013. Т. 15, № 3 (7). С. 2337-2340. – **Маленев А.Л., Бакиев А.Г., Зайцева О.В., Шуршина И.В.** Токсичность яда обыкновенных гадюк из различных пунктов ареала // Изв. Самар. НЦ РАН. 2007. Т. 9, № 1. С. 259-261. – **Маленев А.Л., Макарова Т.Н., Горелов Р.А.** Особенности ядовитого секрета гадюки Ренара (*Vipera renardi*) из Волгоградской области // Изв. Самар. НЦ РАН. 2014. Т. 16, № 1. С. 261-265.

Chippaux J.P., Williams V., White J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation // Toxicon. 1991. Vol. 29, № 11. P. 1279-1303.

Glenn J., Straight R.C. The midget faded rattlesnake (*Crotalus viridis concolor*) venom: lethal toxicity and individual variability // Toxicon. 1977. Vol. 15. P. 129-133. – **Glenn J., Straight R.** Mojave rattlesnake *Crotalus scutulatus scutulatus* venom: variation in toxicity with geographical origin // Toxicon. 1978. Vol. 16. P. 81-84.

Latifi M. Variation in yield and lethality of venom from Iranian snakes // Toxicon. 1984. Vol. 22, N 3. P. 373-380.