

На правах рукописи



ГОРЕЛОВ РОМАН АНДРЕЕВИЧ

**ЯДОУТДАЧА И ТОКСИЧНОСТЬ ЯДА
ГАДЮК ВОЛЖСКОГО БАССЕЙНА**

Специальность: 03.02.08 – экология (биология)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Тольятти – 2018

Работа выполнена в лаборатории герпетологии и токсикологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук

Научный руководитель: **Маленёв Андрей Львович,**
кандидат биологических наук, заведующий лабораторией герпетологии и токсикологии Института экологии Волжского бассейна РАН (г. Тольятти)

Официальные оппоненты: **Шляхтин Геннадий Викторович,**
доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой морфологии и экологии животных Саратовского национального исследовательского университета им. Н.Г. Чернышевского (г. Саратов);

Ручин Александр Борисович,
доктор биологических наук, доцент, директор «Объединенной дирекции Мордовского государственного природного заповедника им. П.Г. Смидовича и национального парка «Смольный» (г. Саранск)

Ведущая организация: **Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (г. Нижний Новгород)**

Защита диссертации состоится **14 декабря 2018 г. в 12³⁰** часов на заседании диссертационного совета Д 002.251.02, созданного на базе Института экологии Волжского бассейна РАН по адресу: 445003, Россия, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10, тел. 8 (8482) 489-977, E-mail: ievbras2005@mail.ru.

Диссертационный совет Д 002.251.02 при ИЭВБ РАН:
тел. 8 (8482) 489-169, E-mail: dissovetievb@mail.ru.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ИЭВБ РАН www.ievbras.ru и на официальном сайте ВАК www.vak.ed.gov.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



А.Л. Маленёв

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Речной бассейн Волги населяют гадюки, согласно принятой в настоящее время автором систематике, двух видов – обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) и восточная степная гадюка, или гадюка Ренара *V. renardi* (Christoph, 1861). Первый вид представлен в Волжском бассейне номинативным подвидом *V. b. berus* (Linnaeus, 1758) и лесостепным подвидом, или гадюкой Никольского *V. b. nikolskii* Vedmederja, Grubant et Rudaeva, 1986, второй – номинативным подвидом *V. r. renardi* (Christoph, 1861) и гадюкой Башкирова *V. r. bashkirovi* Garanin, Pavlov et Bakiev, 2004. На систематику гадюк Волжского бассейна имеются и другие точки зрения, их поддерживают в последние годы многие отечественные ученые (например: Ананьева, Орлов, 2005; Кайбелева и др., 2005; Великов и др., 2006 Дунаев, Орлова, 2012, 2014, 2017, 2018).

Актуальность темы исследований. Гадюки в течение всей жизни продуцируют ядовитый секрет, который используется ими для умерщвления добычи и ее частичного переваривания, а также для самозащиты. Их укусам подвергаются люди и домашние животные. Яды гадюк обыкновенной *Vipera berus* и восточной степной *V. renardi* являются источником ценных биологически активных веществ и находят применение при изготовлении лекарственных препаратов.

В настоящее время проблемы охраны и рационального использования биологических ресурсов, к которым относятся и гадюковые змеи, приобретают все большую значимость. Сохранение природных популяций гадюк при их рациональном использовании возможно не только с помощью охраны местообитаний, но и за счет внедрения научно обоснованного регламента размерно-полового состава отлавливаемых гадюк (Яды змеиные..., 1977; Рагозин и др., 1978; Бакиев, Маленёв, 1999), ядовзятия в полевых условиях (Ламброс, Недялков, 1977), выпуска в природу потомства пойманных беременных самок (Рагозин и др., 1978; Бакиев и др., 2015), увеличения сроков жизни отловленных змей (Рагозин и др., 1978; Павлов, 1998), разведения в условиях неволи (Куриленко, 1987; Luiselli, 1990; Кудрявцев и др., 1995), интенсивных методов выращивания (Грубант и др., 1972, 1973; Бережной, 1989; Маленёв и др., 2000;), а также путем повышения ядопродуктивности животных-доноров. В связи с этим исследование ядоотдачи змей в зависимости от факторов, влияющих на нее в природе и в искусственных условиях, является также не менее актуальной задачей.

Основной характеристикой биологической активности зоотоксинов, в частности змеиных ядов, является токсичность. Сравнительную оценку токсичности веществ проводят с использованием среднесмертельной дозы (ЛД₅₀), которая вызывает гибель 50% экспериментальных животных в течение фиксированного интервала времени. Опубликованные данные о токсичности ядов обыкновенной и восточной степной гадюк (Calmette, 1908; Schöttler, 1951; Яды змеиные..., 1977; Орлов и др., 1990; Calderón et al., 1993; Гелашвили и др., 1995, 2015; Хомутов, 1995; Яд гадюки обыкновенной..., 1998; Яд гадюки степной..., 1998; Маленёв и др., 2006, 2007, 2013,

2015; Starkov et al., 2007; Бакиев и др., 2008а, б; Ширяева, 2011; Malina, 2015 и др.) не позволяют составить полную картину ее изменчивости. Определение диапазона значений ЛД₅₀ ядовитого секрета в зависимости от межвидовых, внутривидовых, географических и возрастных особенностей гадюк имеет первоочередное значение для совершенствования нормативно-технической документации на яды обыкновенной и восточной степной гадюк как фармацевтического сырья.

Цель и задачи исследования. Цель работы – анализ эколого-биологических особенностей ядоотдачи и токсичности ядов гадюк Волжского бассейна. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) исследовать зависимость ядоотдачи от видовой принадлежности гадюк, половой принадлежности особей, линейных размеров и массы их тела;
- 2) выявить особенности сезонной динамики ядоотдачи змей в природных условиях;
- 3) сравнить токсичность ядовитого секрета новорожденных и взрослых гадюк;
- 4) оценить зависимость токсичности яда гадюк от его цвета и половой принадлежности змей-доноров;
- 5) определить значения среднесмертельных доз (ЛД₅₀) ядов взрослых гадюк для разных животных, являющихся объектами питания гадюк в природе.

Научная новизна. Впервые для гадюк Волжского бассейна установлены особенности выхода ядовитого секрета в зависимости от видовой и половой принадлежности особей, размеров тела и массы. Определен характер динамики ядоотдачи гадюк в течение сезона активности и показана корреляционная связь выхода яда с температурой окружающей среды в местах обитания. Впервые выявлены возрастные различия в токсичности ядов обыкновенной и восточной степной гадюк, свидетельствующие об изменениях свойств ядовитого секрета в процессе онтогенеза. Определены значения ЛД₅₀ ядов четырех подвидов гадюк, встречающихся в бассейне Волги (*V. b. berus*, *V. b. nikolskii*, *V. r. renardi*, *V. r. bashkirovi*) для разных животных, являющихся пищевыми объектами гадюк. Проанализированы видовые, подвидовые и географические особенности в токсичности ядов и показана взаимосвязь токсичности ядовитого секрета гадюк с особенностями их рациона.

Теоретическая и практическая значимость работы. Положения, выносимые на защиту, и выводы диссертации расширяют сложившиеся представления о ядопродуктивности и токсичности ядов змей. Выявленные на гадюках зависимости ядоотдачи от пола, размеров и массы особей сходны с таковыми у других видов ядовитых змей и, вероятно, имеют универсальный характер. Общебиологический интерес представляет сравнительный анализ токсичности ядов обыкновенной и восточной степной гадюк для животных разных систематических групп. Полученные результаты показывают связь токсичности ядовитого секрета гадюк с их пищевыми предпочтениями. Материалы диссертации, характеризующие ядоотдачу гадюк, необходимы при организации производства змеиных ядов и определении размерно-

полового состава заготавливаемых змей-доноров. Оригинальные данные о географической изменчивости токсичности ядовитого секрета гадюк имеют первоочередное значение для совершенствования нормативно-технической документации на яды обыкновенной и восточной степной гадюк как фармацевтического сырья. Первичный материал по ядоотдаче и токсичности ядовитого секрета гадюк может быть использован в научно-исследовательской работе для дальнейшего анализа.

Основные положения, выносимые на защиту:

- 1) выход ядовитого секрета у гадюк определяется их видовой принадлежностью, линейными размерами и массой тела;
- 2) ядоотдача гадюк изменяется в течение сезона активности и зависит от температуры окружающей среды в местах их обитания;
- 3) ядовитый секрет новорожденных гадюк отличается от такового взрослых особей значениями LD_{50} , что свидетельствует о наличии онтогенетических изменений свойств ядовитого секрета у гадюк;
- 4) токсичность яда гадюк исследуемых видов различна для разных пищевых объектов и отражает видовые и внутривидовые особенности пищевого рациона гадюк.

Личный вклад соискателя. Соискатель лично участвовал в экспедиционных исследованиях для отлова гадюк, проводил ядовзятия, принимал непосредственное участие в проведении токсикометрических экспериментов и содержании экспериментальных животных. Полученные результаты обработаны соискателем с применением современных статистических методов (расчет значений LD_{50} был проведен в среде R). Основные положения, текст и выводы диссертации, написаны автором по плану, согласованному с научным руководителем. Доля соискателя в совместных публикациях пропорциональна числу соавторов.

Апробация работы. Результаты диссертационных исследований докладывались и обсуждались на следующих конференциях: XXIII чтения памяти проф. В.А. Попова (Казань, 2012); Российская научная конференция «Экологические проблемы бассейнов крупных рек – 5» (Тольятти, 2013); Всероссийская конференция «Фундаментальные, прикладные и образовательные аспекты зоологических исследований», посвященная 100-летию со дня рождения профессора Антона Михайловича Болотникова (Пермь, 2014); V международная молодежная научная конференция «Актуальные проблемы экологии Волжского бассейна» (Тольятти, 2015); VI съезд Герпетологического общества им. А.М. Никольского (Пушино, 2015); VI всероссийская молодежная научная школа-конференция с международным участием «Актуальные проблемы экологии Волжского бассейна» (Тольятти, 2017); VII съезд Герпетологического общества им. А.М. Никольского (Махачкала, 2018).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 7 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, и две монографии.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов и списка использованной литературы. Работа изложена на 114 страницах, содержит 21 таблицу и 16 рисунков. Список литературы включает 217 источников, в том числе 36 на иностранных языках.

Благодарности. Автор благодарит научного руководителя А.Л. Маленёва за разработку тематики и поддержку на всех этапах работы, а также выражает признательность Т.Н. Атяшевой, А.Г. Бакиеву, Е.В. Еплановой, А.А. Клёниной, А.Е. Кузовенко, А.В. Павлову, М.К. Рыжову, М.В. Пестову, В.Г. Старкову, М.В. Ушакову и В.К. Шитикову за помощь при сборе материала и проведении экспериментов, а также за ценные консультации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОБЫКНОВЕННОЙ И ВОСТОЧНОЙ СТЕПНОЙ ГАДЮК (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

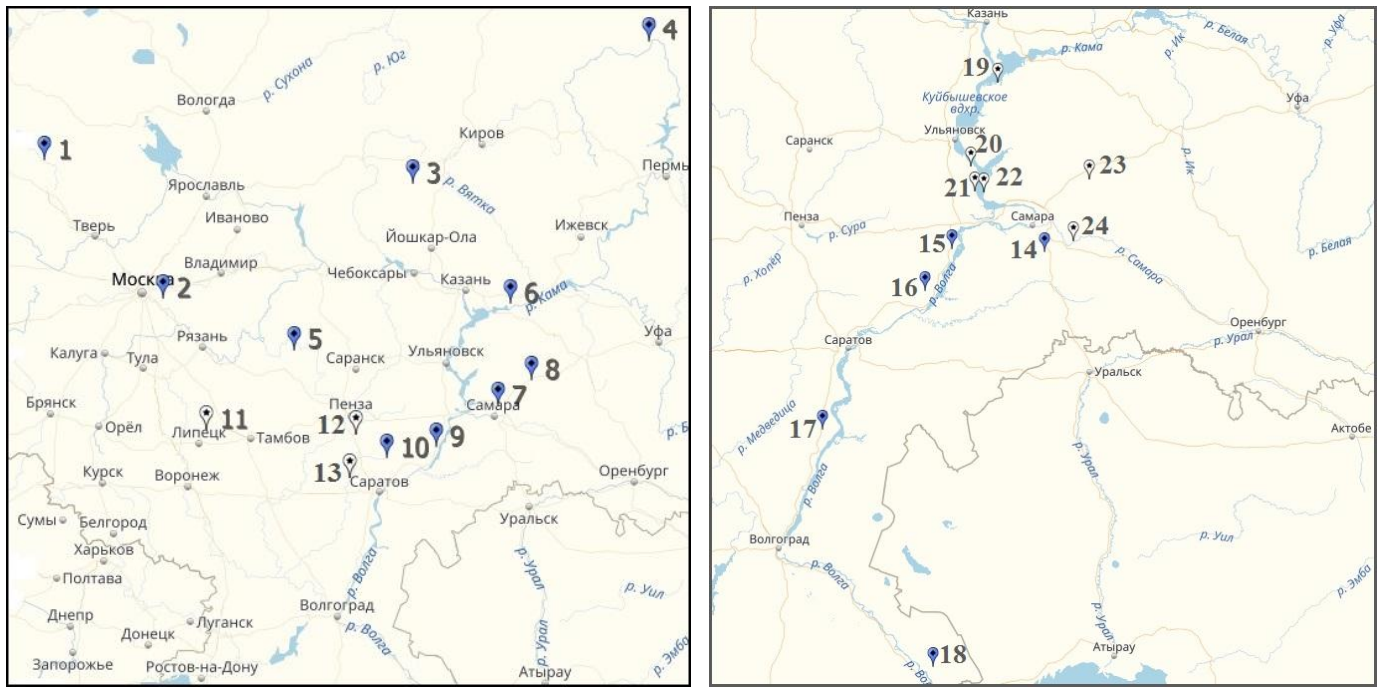
В главе представлен обзор публикаций, содержащих сведения о географическом распространении, биотопической приуроченности, питании, ядопродуктивности гадюк Волжского бассейна и токсичности их ядовитого секрета.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Образцы ядовитого секрета. Отлов гадюк для получения ядовитого секрета проводили в 2010–2017 гг. в 16 пунктах Астраханской, Волгоградской, Самарской, Саратовской и Ульяновской областей, Мордовии, Татарстана и Пермского края. Образцы яда еще из 8 пунктов любезно предоставлены коллегами (рисунок 1).

Отловленных в природе гадюк доставляли в лабораторию, где после 5–10 дней содержания в террариумных условиях у них отбирали ядовитый секрет. При исследовании сезонной динамики ядоотдачи гадюк из одного локалитета отлавливали несколько раз в течение сезона активности. Яд собирали механическим способом, массируя пальцами ядовитые железы. Полученный ядовитый секрет высушивали не менее 12 суток в эксикаторе над хлористым кальцием и хранили в темноте при температуре +5...+6°C. После отбора яда и морфологических измерений гадюк выпускали в места отлова. Ядовитый секрет новорожденных гадюк получен от потомства самок, отловленных беременными в природе.

2.2. Определение среднесмертельных доз ядовитого секрета. Для определения токсичности ядов гадюк в качестве экспериментальных животных использовали белых мышей (самцы массой 19–21 г) и банановых сверчков (на стадии предимаго, без разделения по половому признаку, массой 0,5–0,7 г). Инъекции растворов яда группам экспериментальных животных одинаковой массы проводили внутрибрюшинно. Наблюдения за экспериментальными животными продолжали в течение 24 часов, затем подсчитывали количество погибших и выживших животных.



А

Б

Рисунок 1. Места отлова гадюк *Vipera berus* (А) и *V. renardi* (Б):

V. b. berus – 1) Новгородская обл., Боровичский р-н, 2) Московская обл., Раменский р-н, 3) Нижегородская обл., Тоншаевский р-н, 4) Пермский край, Чердынский р-н, 5) Мордовия, Темниковский р-н, 6) Татарстан, Рыбно-Слободский р-н, 7) г. Самара, 8) Самарская обл., Сергиевский р-н, 9) Саратовская обл., Хвалынский р-н, 10) Саратовская обл., Базарно-Карабулакский р-н;

V. b. nikolskii – 11) Липецкая обл., Добровский р-н, 12) Пензенская обл., Пензенский р-н, 13) Саратовская обл., Аткарский р-н;

V. r. renardi – 14) Самарская обл., Волжский р-н, 15) Ульяновская обл., Радищевский р-н, 16) Саратовская обл., Хвалынский р-н, 17) Волгоградская обл., Камышинский р-н, 18) Астраханская обл., Красноярский р-н;

V. r. bashkirovi – 19) Татарстан, Спасский р-н, 20) Ульяновская обл., Сенгилеевский р-н, 21) Самарская обл., Шигонский р-н, 22) Самарская обл., Ставропольский р-н, 23) Самарская обл., Сергиевский р-н, 24) Самарская обл., Кинельский р-н

Силу воздействия яда оценивали по показателю среднесмертельной дозы ЛД₅₀, рассчитанному с использованием статистических моделей «доза-эффект» в трех вариантах (Беленький, 1963; Finney, 1971; Мастицкий, Шитиков, 2013). Все три варианта показали сходные результаты, примеры можно найти в нашей статье (Шитиков и др., 2018).

В автореферате приведены значения ЛД₅₀, полученные при использовании варианта, основанного на стандартной обобщенной модели регрессии с пробит-функцией связи (Мастицкий, Шитиков, 2013):

$$P = \Phi(b_0 + b_1 X), \text{ или } \Phi^{-1}(P) = b_0 + b_1 X,$$

где P – вероятность гибели животных, $\Phi()$ – интегральная функция плотности стандартного нормального распределения $N(\mu, \sigma)$; $b_0 = -\mu / \sigma$; $b_1 = 1 / \sigma$; $\Phi^{-1}(P)$ – обратная функция от Φ , или пробит. Коэффициенты b_0 и b_1 оценивали методом находж-

дения максимума правдоподобия относительно непосредственно целевого отклика (т.е. вероятности эффекта P) в предположении о биномиальном распределении данных. Ошибку среднесмертельной дозы оценивали дельта-методом:

$$SD_{ЛД_{50}} = (J^T V J)^{0.5},$$

где J – вектор производных функции регрессии относительно вектора параметров b ; для рассматриваемой модели $J = [1/b_1; X/b_1]$; V – дисперсионно-ковариационная матрица коэффициентов логистической модели.

Доверительные интервалы $ЛД_{50}$ рассчитывали по формуле:

$$CI_{ЛД_{50}} = ЛД_{50} \pm t_{\alpha/2, f} SD_{ЛД_{50}},$$

где $t_{\alpha/2, f}$ – квантиль t -распределения при $\alpha/2$ и f степенях свободы.

Расчеты $ЛД_{50}$ выполняли с использованием пакета *drc* статистической среды R (Ritz, Streibig, 2005).

ГЛАВА 3. ЯДОУДАЧА ОБЫКНОВЕННОЙ И ВОСТОЧНОЙ СТЕПНОЙ ГАДЮК

Под разовой индивидуальной ядоудачей мы понимаем количество сухого остатка ядовитого секрета, полученного за одно ядовзятие от одной гадюки. Ядоудача лишь косвенно отражает ядопродуктивность особи – количество ядовитого секрета, вырабатываемого железами гадюки за единицу времени.

3.1. Межвидовые различия в ядоудаче. При сравнении ядоудачи обыкновенной и восточной степной гадюк обнаружено, что последняя, несмотря на меньшие размеры тела, характеризуется более высокой ядоудачей в пересчете на одну особь. Соответствие выборок параметрам нормального распределения позволило сравнить выборочные средние с помощью t -критерия Стьюдента, выявив межвидовые различия на 0,1%-ном уровне значимости (таблица 1).

Таблица 1

Размеры и ядоудача гадюк двух видов

Вид гадюк	n	$L.corp.+L.cd.$, мм		t_{ϕ} P	Ядоудача, мг		t_{ϕ} P
		$min-max$	$M \pm m$		$min-max$	$M \pm m$	
<i>Vipera berus</i>	97	397–764	640±6,8	19,47	1,0–24,0	11,1±0,52	3,80
<i>Vipera renardi</i>	62	287–593	427±8,6	<0,001	1,0–50,0	16,0±1,39	<0,001

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия; *Vipera berus* – обыкновенные гадюки из г. Самара (сезон 2014 г.), *Vipera renardi* – восточные степные гадюки из Хвалынского района Саратовской области (сезон 2015 г.).

3.2. Выход яда у самцов и самок гадюк. Из наших результатов следует, что самки гадюк продуцируют в среднем большее количество ядовитого секрета, чем самцы того же вида. Причиной этого, скорее всего, являются более крупные размеры самок в выборках по сравнению с самцами (таблица 2).

Таблица 2

Размеры и ядоотдача самцов и самок гадюк двух видов

Вид гадюк	Пол	n	L.corp.+L.cd., мм		t_{ϕ} P	Ядоотдача, мг		t_{ϕ} P
			min-max	M±m		min-max	M±m	
<i>Vipera berus</i>	самцы	47	397–744	612±8,46	4,42	1,0–22,0	8,6±0,64	5,25
	самки	50	439–764	667±9,04	<0,001	5,0–24,0	13,4±0,65	<0,001
<i>Vipera renardi</i>	самцы	29	287–518	407±12,0	2,27	1,0–33,0	10,3±1,24	4,29
	самки	33	309–593	445±11,6	<0,05	3,0–50,0	20,9±2,04	<0,001

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия; выборки гадюк – те же, что в табл. 1.

Далее мы сравнили выход яда у самцов и самок внутри одной размерной группы каждого вида. Для корректности (чтобы исключить возможный фактор сезонной изменчивости ядоотдачи) использовали данные, полученные в мае месяце. Получившиеся выборки (таблица 3) малочисленны и не удовлетворяют критериям нормального распределения, поэтому сравнение ядоотдачи провели с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Половые различия в ядоотдаче обыкновенной и восточной степной гадюк статистически незначимы при $\alpha=0,05$, т.е. у каждого из двух видов не выявлены достоверные различия в выходе яда у самцов и самок одинаковых размеров, пойманных в одно и то же время, в одном и том же местообитании.

Таблица 3

Ядоотдача самцов и самок гадюк одинаковых размеров

Вид	L.corp.+L.cd., мм	Пол	n	Ядоотдача, мг		U P
				min-max	M±m	
<i>Vipera berus</i>	600–700	самцы	6	7,0–18,0	11,3±1,54	16,5
		самки	11	8,0–20,0	15,2±1,28	0,1015
<i>Vipera renardi</i>	400–600	самцы	4	18,0–31,0	25,3±3,38	5,0
		самки	6	24,0–48,0	34,7±3,57	0,1762

Примечание: *Vipera berus* – обыкновенные гадюки из г. Самара (май 2014 г.), *Vipera renardi* – восточные степные гадюки из Хвалынского района Саратовской области (май 2015 г.).

Аналогичные результаты были получены на 10 видах ядовитых змей из Ирана (Latifi, 1983), включая представителей рода *Vipera* – *V. lebetina*, *V. xanthina*, *V. latifi*. По-видимому, самцы и самки отдельно взятого вида гадюковых змей из одной размерной группы при сходных условиях продуцируют приблизительно одинаковое количество ядовитого секрета.

3.3. Зависимость ядоотдачи от линейных размеров тела. Известно, что более крупные особи одного вида гадюк продуцируют большее количество ядовитого секрета, чем обосновывается экономическая целесообразность увеличения размера змей, эксплуатируемых для промышленных целей. При этом увеличение размера отлавливаемых в природе змей позволяет не только повысить индивидуальную ядо-

продуктивность эксплуатируемых животных, но и снизить нагрузку на облавливаемые популяции (Бакиев, Маленёв, 1999; Маленёв и др., 2000).

Для исследуемых видов гадюк характер зависимости выхода яда от линейных размеров особей представлен на рисунке 2. Менее наглядно такая зависимость выражена у обыкновенной гадюки (рисунок 2А), поскольку выборка этого вида представлена в основном крупными особями. Судя по выборке восточной степной гадюки, в которой репрезентативно представлены змеи всех размеров, ядоотдача приблизительно пропорциональна линейным размерам тела гадюки в третьей степени, что может быть связано с пропорциональным увеличением размеров тела и размеров ядовитых желез по мере роста гадюки. Как известно, если форма тела не меняется, то объем пропорционален кубу линейного размера, т.е. когда объект подвергается пропорциональному увеличению размеров, его новый объем будет пропорционален кубу множителя. Аналогичная зависимость, близкая к кубической, получена американскими учеными (Mackessy et al., 2006) на коричневой бойге *Boiga irregularis* из семейства ужеобразных Colubridae, что свидетельствует в пользу универсального характера зависимости ядоотдачи от линейных размеров змей.

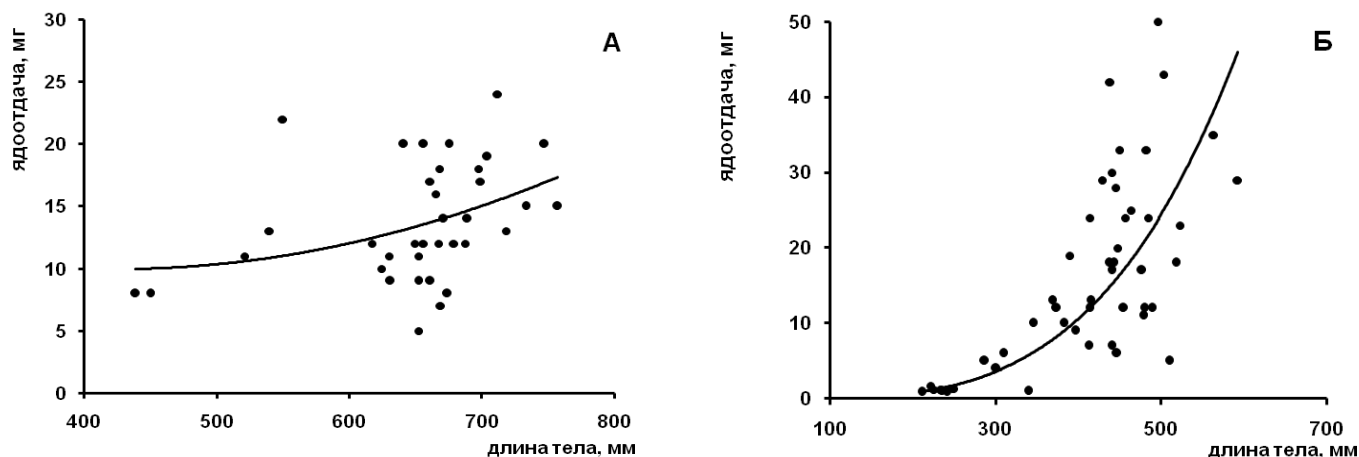


Рисунок 2. Зависимость индивидуальной ядоотдачи от размеров тела гадюк:
 А – *Vipera berus* (г. Самара, май и июнь 2014 г.), Б – *V. renardi* (Хвалынский район Саратовской области, май и июнь 2015 г.)

3.4. Зависимость ядоотдачи от массы тела. Результаты наших исследований показали, что ядоотдача и масса тела гадюк двух видов связаны зависимостью, близкой к линейной – чем больше масса тела змей, тем выше их ядоотдача. Для уменьшения возможного фактора сезонной изменчивости ядоотдачи на рисунке 3 приведены данные из «майских» и «июньских» выборок 2014 и 2015 гг. В выборке обыкновенных гадюк присутствовали в основном только особи со средней и высокой массой. Наличие в выборке восточных степных гадюк особей с малой и средней массами позволило получить картину зависимости ядоотдачи от массы змей, близкую к прямой пропорциональной. Аппроксимируя полученные данные, можно предположить, что у змей обоих видов ядоотдача растет примерно в прямой про-

порции с увеличением их массы от малой до средней, а при высокой массе несколько отстает от такой зависимости.

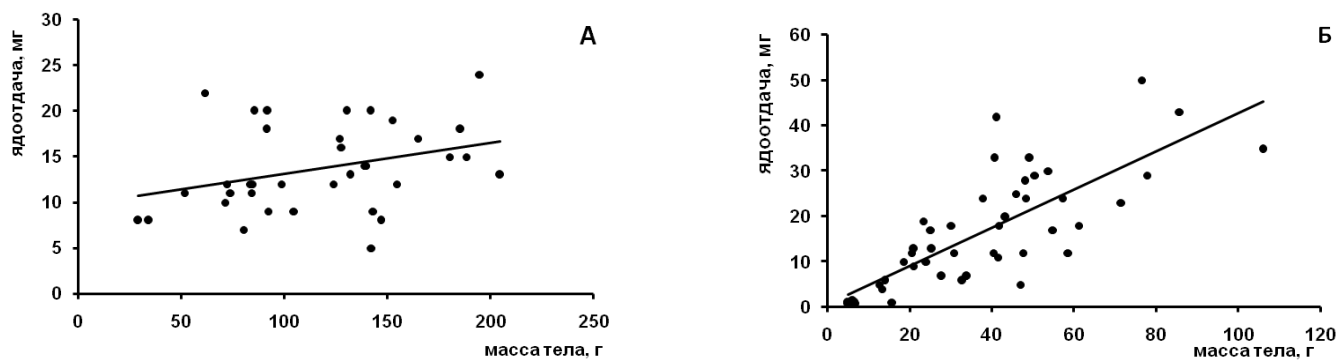


Рисунок 3. Зависимость ядоотдачи от массы гадюк:

А – *Vipera berus* (г. Самара, май и июнь 2014 г.), Б – *V. renardi* (Хвалынский район Саратовской области, май и июнь 2015 г.)

3.5. Динамика ядоотдачи в течение сезона активности. Обыкновенных гадюк отлавливали в Красноглинском районе г. Самара пять раз в течение сезона активности 2014 г.: 23 апреля, 22–28 мая, 20–22 июня, 22–25 июля и 9–14 сентября. Всего за сезон отловлено 88 взрослых особей. Результаты средней на одну змею ядоотдачи (количество сухого яда в мг) в разные месяцы представлены на рисунке 4А. Для нормирования выхода яда на единицу массы использовали предложенный нами (Маленёв и др., 2016) «индекс ядоотдачи», который представляет собой частное от деления массы сухого яда, полученного от змеи, на массу тела последней (и для удобства восприятия умноженное на 10 000) – рисунок 4Б.

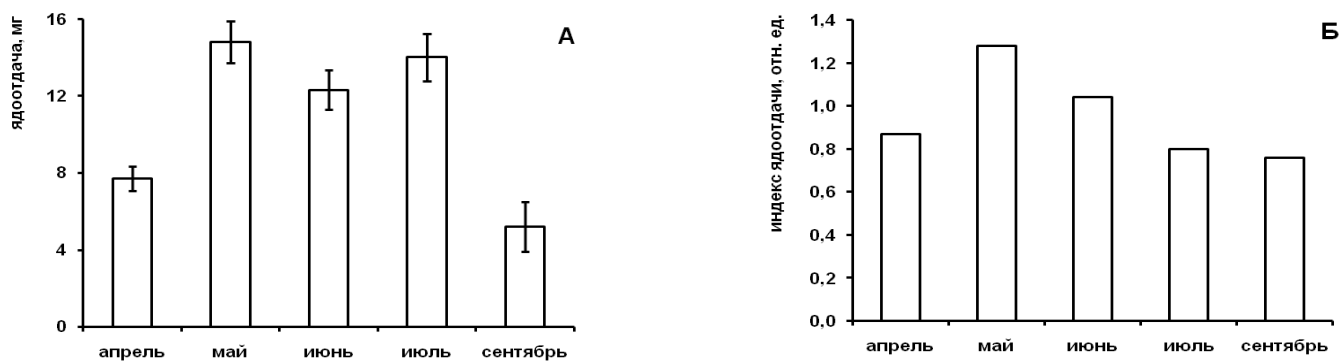


Рисунок 4. Сезонная динамика разовой ядоотдачи обыкновенной гадюки
(А – средняя с ее ошибкой, Б – индекс ядоотдачи)

На рисунке 4А видно, что наибольший выход ядовитого секрета (в абсолютных значениях) наблюдается в летние месяцы, в апреле и сентябре он значительно ниже. Индекс ядоотдачи имеет максимальные значения в мае и июне (рисунок 4Б). Отмеченный тренд можно объяснить тем, что в конце апреля змеи только выходят из зимовки, почти не питаются, и процессы расходования и восполнения запасов ядовитого секрета еще не полностью активизировались. Уровень ядоотдачи змей сопоста-

вим с таковым в сентябре. В конце мая, когда закончился период спаривания, самцы и самки интенсивно питаются, восполняя зимние потери массы, и ядоотдача гадюк наблюдается на максимально высоком уровне. С июля по сентябрь ядоотдача гадюк опять снижается.

Сходный характер сезонной динамики ядоотдачи мы получили у восточных степных гадюк из Хвалынского района Саратовской области в 2015 г. Змей отлавливали три раза: 2–9 мая, 12–17 июня и 21–22 августа. Всего за сезон отловлено 65 взрослых особей. Динамика абсолютной величины ядоотдачи и индекса ядоотдачи представлены на рисунке 5.

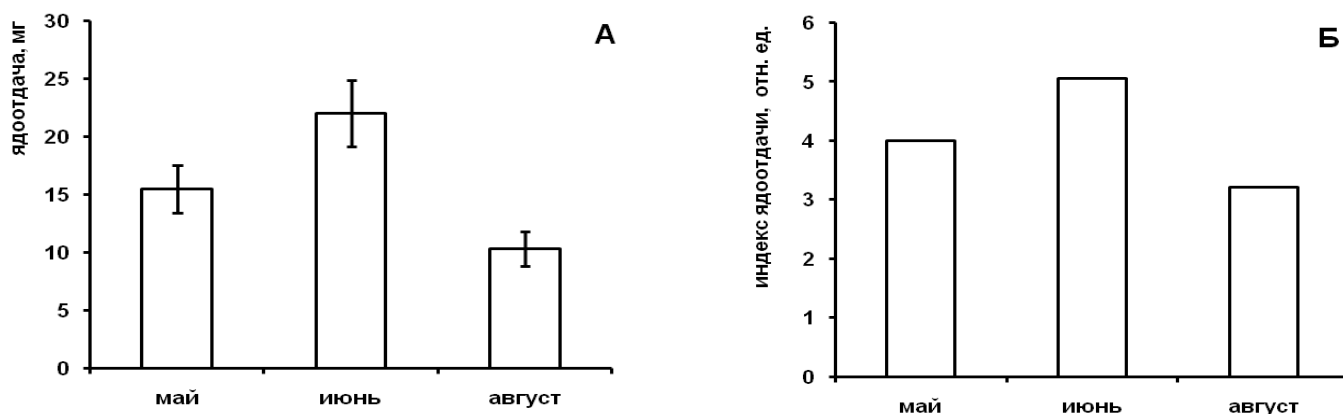


Рисунок 5. Сезонная динамика разовой ядоотдачи у восточной степной гадюки (А – средняя с ее ошибкой, Б – индекс ядоотдачи)

3.6. Связь выхода яда с температурой в местообитании. Скорее всего, выявленные сезонные различия в ядопродуктивности могут определяться изменениями микроклиматических условий в местообитаниях гадюк, и прежде всего, температуры. Поскольку пресмыкающиеся являются эктотермными животными, то температура окружающей среды является основным фактором, определяющим многие физиологические и поведенческие реакции гадюк. Для измерения температуры окружающей среды в месте отлова обыкновенных гадюк в лесопарковой зоне г. Самара был установлен термогигрохронометр iButton DS 1923, который фиксировал изменения температуры в приземном слое воздуха каждые 20 мин. Датчик был установлен на расстоянии 2 см над землей у основания дерева с теневой стороны. График изменения среднесуточных температур в период с 15 апреля по 11 октября 2014 г. в местообитании, где проходил отлов гадюк, приведен на рисунке 6А.

Выход ядовитого секрета у гадюк весной и осенью показывает наименьшие значения, в летние месяцы ядоотдача увеличивается с повышением температуры окружающей среды и снижается к осени по мере снижения температуры в местообитании. Зависимость выхода ядовитого секрета от температуры в течение сезона активности у гадюк носит линейный характер (рисунок 6Б). Проведенный корреляционный анализ значений среднесуточных температур в дни отлова гадюк и величины их ядоотдачи показал, что коэффициент корреляции этих величин положительный, равен 0,933 и статистически значимо (на 5%-ном уровне) отличается от нуля ($t_{\phi}=4,497$).

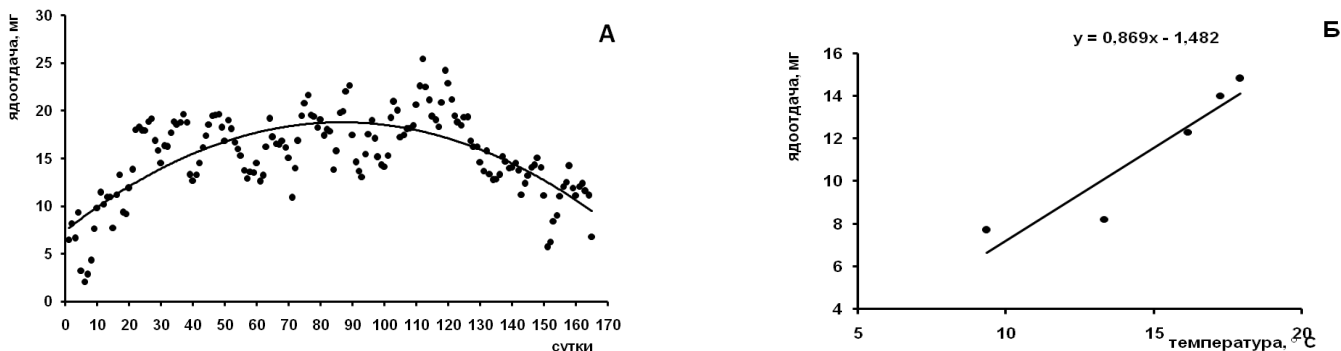


Рисунок 6. Динамика среднесуточных температур в местообитании обыкновенных гадюк (А) и зависимость их средней разовой ядоотдачи от температуры (Б)

Таким образом, приведенные выше результаты свидетельствуют о схожем характере сезонных изменений ядоотдачи двух исследованных видов гадюк. Скорее всего, данная закономерность носит более универсальный характер и характерна для других видов ядовитых змей, обитающих в условиях сезонного изменения климата.

ГЛАВА 4. ТОКСИЧНОСТЬ ЯДОВИТОГО СЕКРЕТА ГАДЮК

Токсичность ядовитого секрета гадюк зависит от его состава и свойств входящих в него компонентов. Рабочей гипотезой при планировании токсикологических экспериментов было предположение о том, что токсичность ядовитого секрета гадюк может также отражать особенности их рациона: чем выше процент данного пищевого объекта в рационе гадюк, тем токсичнее для него должен быть их ядовитый секрет. Это предположение не противоречит представлениям о том, что эволюция свойств ядовитого секрета гадюк направлена в сторону наиболее эффективного умерщвления конкретного вида добычи. В данной главе рассмотрены таксономические, географические, половые и возрастные особенности гадюк Волжского бассейна, влияющие на токсичность их ядовитого секрета. Эксперименты проведены на мышах и сверчках: мышевидные грызуны входят в рацион обоих видов змей, а прямокрылые насекомые являются пищевыми объектами восточной степной гадюки.

В данной главе используются следующие обозначения: $ЛД_{50} \pm S_{ЛД_{50}}$ – среднесмертельная доза и ее ошибка; CL и CU – нижняя и верхняя границы 95%-го доверительного интервала для среднесмертельной дозы $ЛД_{50}$.

4.1. Среднесмертельные дозы яда гадюк для мышей. Изменения свойств яда в процессе онтогенеза выявлены ранее для некоторых видов змей (Minton, Weinstein, 1986; Mackessy, 1988; Chipaux et al., 1991; Mackessy et al., 2006) – ядовитый секрет молодых особей токсичнее такового взрослых для некоторых пищевых объектов, и в процессе онтогенеза токсичность их яда имеет тенденцию к снижению. Наши результаты определения токсичности ядовитого секрета взрослых и новорожденных гадюк двух видов для мышей представлены в таблице 4. Обыкновенные гадюки отловлены в г. Самара, восточные степные гадюки – в Камышинском районе Волго-

градской области. Молодь получена от беременных самок, отловленных в указанных местах.

При сравнении среднесмертельных доз ЛД₅₀ яда взрослых и новорожденных обыкновенных гадюк, полученных на мышах, выявлены статистически значимые различия на 5%-ном уровне – яд сеголеток *V. berus* оказался токсичнее, чем ядовитый секрет взрослых змей данного вида. Новорожденные обыкновенные гадюки продуцируют яд, который по токсичности для мышей превышает яд взрослых *V. berus* более чем в два раза. Весьма вероятно, что для молодых обыкновенных гадюк мелкие грызуны в рационе имеют большее значение по сравнению со взрослыми обыкновенными гадюками. Можно также предположить, что относительно низкая ядоотдача новорожденных может компенсироваться более высокой токсичностью их ядовитого секрета для тех пищевых объектов, которые преобладают в их спектре питания. В то же время, статистически значимых возрастных различий ЛД₅₀ в яде восточных степных гадюк мы не обнаружили – для мышей яд новорожденных *V. renardi* по токсичности не отличался от ядовитого секрета взрослых особей. Вероятно, это связано с тем, что для молодых гадюк этого вида мелкие грызуны не являются основным кормом.

Таблица 4

Среднесмертельные дозы ЛД₅₀ яда взрослых и новорожденных гадюк для мышей при внутрибрюшинной инъекции (мкг/г)

Вид гадюк	Возрастная группа	ЛД ₅₀ ±S _{ЛД50}	CL	CU
<i>Vipera berus</i>	взрослые	1,37±0,042	1,28	1,45
	новорожденные	0,60±0,101	0,40	0,80
<i>Vipera renardi</i>	взрослые	2,79±0,064	2,67	2,92
	новорожденные	2,69±0,136	2,43	2,96

По-видимому, в процессе онтогенеза ядовитый секрет претерпевает ряд изменений свойств, которые могут быть обусловлены возрастными изменениями в характере питания – как в размерах, так и в типе кормовых объектов. Такой «онтогенетический сдвиг» в характере питания наблюдается у многих видов ядовитых змей и может быть связан с изменениями в составе ядовитого секрета (Mackessy et al., 2003). Качественные и количественные различия пептидного спектра яда змей разных возрастных групп, полученные методом электрофореза в ПААГ, также отмечались в литературе, например, у малоазиатской гадюки *Vipera xanthina* (Arikan et al., 2006). Кроме того, в работах А.А. Недоспасова и Е.В. Родиной (Nedospasov, Rodina, 1992), Т.Н. Атяшевой и соавторов (2016) отмечены и другие возрастные различия ядовитого секрета гадюк – в частности, в активностях протеолитических ферментов и оксидазы L-аминокислот.

Мышевидные грызуны являются главной или значительной частью питания обыкновенных гадюк обоих подвидов, а также входят в рацион гадюк Башкирова, реже – восточных степных гадюк номинативного подвида. Внутри каждого подвида

гадюк при сравнении яда самцов и самок статистически значимых различий ЛД₅₀ для мышей не было обнаружено, т.е. в популяциях самцы и самки гадюк исследованных подвидов продуцируют одинаково токсичный для мышевидных грызунов ядовитый секрет. Ранее в некоторых популяциях у исследованных подвидов гадюк (*V. b. nikolskii*, *V. r. bashrirovi*, *V. r. renardi*) был отмечен ядовитый секрет, различающийся по цвету (желтый и бесцветный) и по активности оксидазы L-аминокислот (Маленев и др., 2010; Зайцева, 2011). В наших экспериментах при определении ЛД₅₀ на мышах образцов ядов желтого цвета и бесцветного статистически значимых различий в токсичности также не выявлено. Кроме того, статистически значимых различий в устойчивости самцов и самок мышей к яду гадюк также не было выявлено.

Результаты определения ЛД₅₀ яда взрослых гадюк четырех подвидов для мышей представлены на рисунке 7. Среднесмертельные дозы ядовитого секрета для мышей увеличиваются (токсичность снижается) в ряду: *V. b. nikolskii* → *V. b. berus* → *V. r. bashrirovi* → *V. r. renardi*. Определенные нами величины ЛД₅₀ обусловлены, скорее всего, особенностями состава и свойств ядовитого секрета, присущими данным таксонам, и могут являться для них дополнительным диагностическим признаком. На наш взгляд, этот ряд изменений ЛД₅₀ отражает и пищевые предпочтения исследуемых подвидов гадюк, а именно – уменьшение доли мышевидных грызунов в рационе этих подвидов.

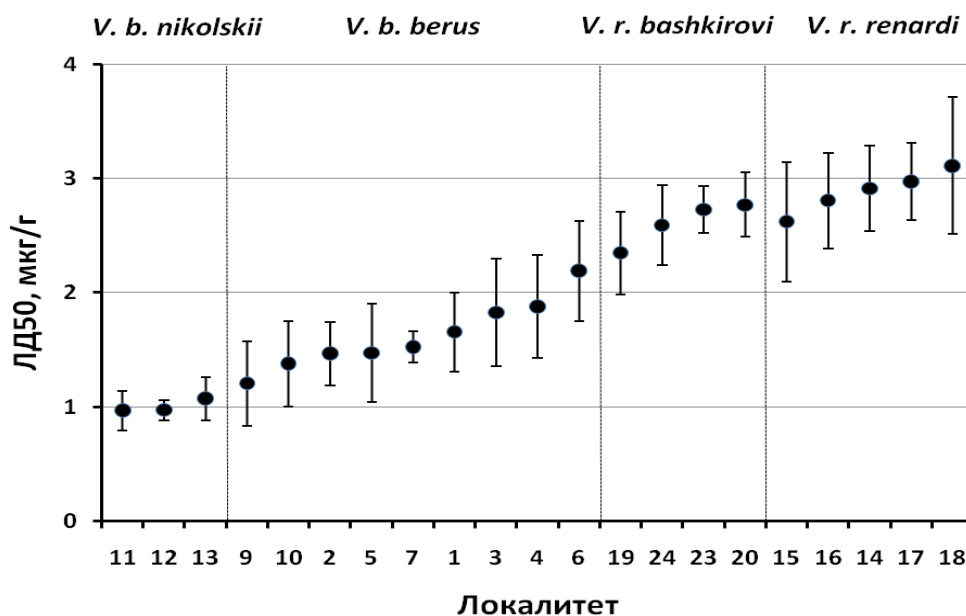


Рисунок 7. Значения среднесмертельной дозы и границы 95%-ных доверительных интервалов ЛД₅₀ ядов взрослых гадюк из разных локалитетов (см. рисунок 1) для мышей при внутрибрюшинной инъекции

При анализе значений ЛД₅₀ яда обыкновенных гадюк из разных локалитетов заметно, что яд *V. b. nikolskii* более токсичен, чем яд *V. b. berus*. В данном случае разделение на два подвида следует воспринимать как условное, поскольку часть образцов яда получены от гадюк из популяций со смешанными подвидами призна-

ками и находящимися в зоне интерградации этих подвидов. Хорошо выражен географический тренд снижения токсичности образцов, имеющий направление от Липецкой области к Пермскому краю – от локалитетов с преобладающими признаками *V. b. nikolskii* к локалитетам с преобладающими признаками номинативного подвида *V. b. berus*. Этот тренд не противоречит современным представлениям об истории расселения и гибридизации более древней гадюки Никольского с относительно молодой номинативной формой обыкновенной гадюки. Такая же тенденция изменения свойств яда гадюк Волжского бассейна была выявлена и ранее при анализе ферментативных активностей и пептидного состава ядовитого секрета гадюк из тех же популяций (Бакиев и др., 2009; Зайцева, 2011).

Кроме того, различия в токсичности ядов двух подвидов *V. berus*, обнаруженные на мышах, могут быть также связаны с наличием в яде *V. b. nikolskii* двух гетеродимерных фосфолипаз A_2 , которые обладают нейротоксической активностью и отсутствуют в яде *V. b. berus* (Ramazanova et al., 2008; Рамазанова, 2011). Это позволяет предположить, что механизм действия яда *V. b. nikolskii* на млекопитающих может отличаться от действия яда *V. b. berus*. Промежуточные значения ЛД₅₀ яда гадюки Башкирова *V. r. bashkirovi* (выше такового *V. r. renardi* и ниже, чем у *V. berus*) лишней раз свидетельствуют в пользу гибридного происхождения гадюки Башкирова, совмещающей признаки *V. berus* и *V. renardi*.

4.2. Среднесмертельные дозы яда гадюк для сверчков. Прямокрылые насекомые (отряд Orthoptera, включающий сверчков) являются значительной составляющей рациона восточных степных гадюк и отсутствуют в рационе обыкновенных гадюк. Эксперименты по токсиметрии ядовитого секрета взрослых гадюк для насекомых проведены на культуре банановых сверчков.

Так же, как и в экспериментах на мышах, мы не выявили на сверчках статистически значимых различий ЛД₅₀ яда самцов и самок гадюк, а также различий в устойчивости самцов и самок сверчков к яду гадюк. Кроме того, при сравнении ЛД₅₀ образцов ядов желтого цвета и бесцветного статистически значимых различий в токсичности для сверчков не выявлено.

При определении ЛД₅₀ яда восточных степных гадюк на банановых сверчках мы обнаружили, что яд новорожденных змей токсичнее такового взрослых особей – значения ЛД₅₀ их ядов статистически значимо отличаются. В таблице 5 использованы данные, полученные на образцах яда обыкновенной гадюки из г. Самара и восточной степной гадюки из Камышинского района Волгоградской области. Не исключено, что выявленные возрастные различия токсичности ядовитого секрета могут быть связаны с большим значением прямокрылых насекомых в питании новорожденных гадюк Ренара по сравнению со взрослыми.

Ранее было отмечено (Starkov et al., 2007), что для новорожденных гадюк *V. renardi* прямокрылые насекомые являются стартовым кормом, инициирующим у них инстинкт хищника. В условиях террариума мы также выкармливали новорожденных восточных степных гадюк сверчками, при этом новорожденные гадючата отказывались от поедания новорожденных мышат.

Таблица 5

Среднесмертельные дозы ЛД₅₀ яда взрослых и новорожденных гадюк для банановых сверчков при внутрибрюшинной инъекции (мкг/г)

Вид гадюк	Возрастная группа	ЛД ₅₀ ±S _{ЛД50}	CL	CU
<i>Vipera berus</i>	взрослые	97,74±4,239	89,43	106,05
	новорожденные	86,52±11,579	63,83	109,22
<i>Vipera renardi</i>	взрослые	28,57±0,850	26,91	30,24
	новорожденные	9.44±1.919	5,68	13,21

Анализ ЛД₅₀ ядовитого секрета обыкновенных гадюк на банановых сверчках показал следующее: 1) высокие значения ЛД₅₀ яда обыкновенной гадюки (более 80 мкг/г) говорят о низкой токсичности яда для насекомых; 2), статистически значимых возрастных различий обнаружено не было. Скорее всего, это объясняется отсутствием прямокрылых насекомых в рационе обыкновенных гадюк – как взрослых особей, так и новорожденных (Бакиев и др., 2015). В условиях лабораторного содержания молодых обыкновенных гадюк мы также ни разу не отмечали факта поедания сверчков, хотя последние неоднократно предлагались молодым обыкновенным гадюкам в качестве корма. Полученные результаты свидетельствуют о наличии значимых возрастных различий в токсичности ядовитого секрета гадюк – у обыкновенной гадюки они обнаружены на мышах, а у восточной степной гадюки – на сверчках. Это позволяет предположить, что для основных пищевых объектов токсичность яда новорожденных гадюк выше, чем таковая яда взрослых, а для основных может не меняться с возрастом змей.

Значения ЛД₅₀ для банановых сверчков ядовитого секрета взрослых особей исследованных подвидов гадюк из разных локалитетов на территории Волжского бассейна приведены на рисунке 9. Внутри трех исследованных подвидов – *V. r. renardi*, *V. b. berus*, *V. b. nikolskii* – ядовитый секрет гадюк из разных локалитетов статистически значимо не различается по ЛД₅₀. Внутри подвида *V. r. bashrirovi* более высокой токсичностью яда выделяются гадюки из двух популяций – с типовой территории (Спасский район Татарстана, пункт 19 на рисунке 1) и из Красносамарского леса (Кинельский район Самарской области, пункт 24 на рис. 1). В связи с внутривидовыми различиями следует заметить, что обе популяции гадюки Башкирова изолированы от других популяций данного подвида, имеют самостоятельные истории формирования и развития, а особенности состава яда змей из этих популяций остаются неизученными.

Хорошо видно распределение значений ЛД₅₀ на две группы – более токсичного для сверчков ядовитого секрета *V. r. renardi* и *V. r. bashrirovi* и менее токсичного – *V. b. berus* и *V. b. nikolskii*. Как указывалось выше, это подтверждает связь токсичности яда гадюк с особенностью их рациона: насекомые являются значительной составляющей в питании восточных степных гадюк *V. renardi* и отсутствуют в рационе обыкновенных гадюк *V. berus*.

Полученные нами результаты определения ЛД₅₀ на сверчках хорошо согласуются с данными других авторов (Starkov et al., 2007; Ширяева, 2011).

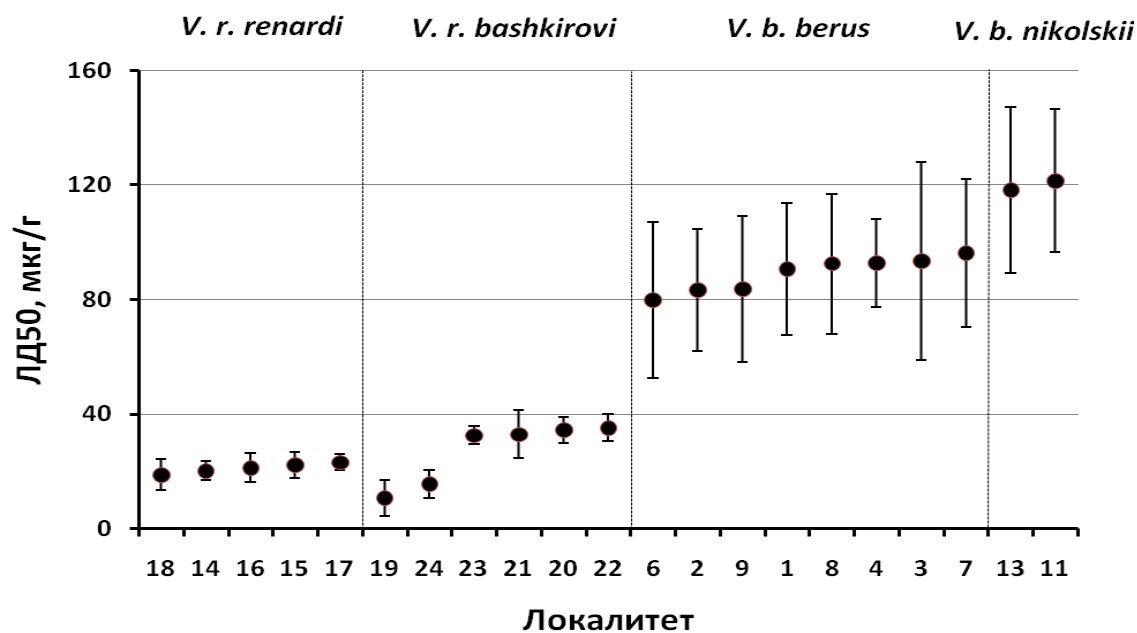


Рисунок 9. Значения среднесмертельной дозы и границы 95%-ных доверительных интервалов ЛД₅₀ ядов взрослых гадюк из разных локалитетов (см. рисунок 1) для банановых сверчков при внутрибрюшинной инъекции

В отдельной серии экспериментов на ядовитом секрете восточных степных гадюк мы определили, как изменяется токсичность яда для насекомых в течение сезона. Оказалось, что токсичность остается постоянной – статистически значимых различий в значениях ЛД₅₀ между образцами, собранными в разное время сезонной активности, не выявлено (таблица 6).

Таблица 6

Значения ЛД₅₀ яда восточных степных гадюк в разное время сезонной активности для банановых сверчков при внутрибрюшинной инъекции (мкг/г)

Пол гадюк	Месяцы 2015 г.		
	май	июнь	август
Самцы	26,13±5,181	27,87±4,454	30,17±6,020
Самки	26,13±4,173	28,234±4,1158	33,92±7,712
Самцы и самки	26,16±3,266	28,09±3,030	31,93±4,783

Незначительный тренд снижения токсичности яда самцов и самок в августе (по сравнению с маем и июлем), возможно, связан со снижением общего уровня метаболических процессов у змей перед периодом зимнего покоя. Кстати, другие параметры ядовитого секрета восточных степных гадюк – активность протеаз и оксидазы L-аминокислот – также не изменяются по сезону (Маленёв и др., 2016).

ВЫВОДЫ

1. Ядоотдача взрослых особей восточной степной гадюки выше таковой у обыкновенной гадюки, несмотря на меньшие размеры тела. Самки обоих видов гадюк отличаются, как правило, более крупными размерами и большей ядоотдачей по сравнению с самцами одного и того же вида, но при этом при сходных линейных размерах самки по ядоотдаче не отличаются от самцов. У исследованных видов змей зависимость выхода яда от размеров тела носит нелинейный характер, а от массы тела – зависимость близка к прямо пропорциональной.

2. У обоих видов гадюк выход яда изменяется в течение периода активности – весной он минимальный, возрастает в жаркие летние месяцы и к осени опять снижается. Такой характер сезонной изменчивости ядоотдачи определяется микроклиматическими условиями в местообитаниях и активностью физиологических процессов у гадюк, обитающих в условиях сезонного изменения климата. На примере обыкновенной гадюки показано, что ядоотдача зависит от температуры окружающей среды в месте обитания.

3. Токсичность ядовитого секрета у исследованных видов гадюк не зависит от его цвета и половой принадлежности змей-доноров.

4. Анализ ЛД₅₀ яда взрослых и новорожденных гадюк на разных экспериментальных животных выявил статистически значимые возрастные различия в токсичности. Для мышей яд новорожденных обыкновенных гадюк оказался токсичнее, чем яд взрослых особей, а в яде восточных степных гадюк подобных возрастных различий ЛД₅₀ не обнаружено. В то же время для сверчков токсичность ядовитого секрета новорожденных восточных степных гадюк выше, чем взрослых особей, а у обыкновенных гадюк возрастных различий в значениях ЛД₅₀ не выявлено. Это позволяет предположить, что для основных пищевых объектов токсичность яда новорожденных гадюк выше, чем таковая яда взрослых, а для неосновных – значение ЛД₅₀ с возрастом не меняется.

5. Для мышей токсичность ядов четырех подвидов гадюк убывает в ряду: *V. b. nikolskii* → *V. b. berus* → *V. r. bashkirovi* → *V. r. renardi*, который также отражает снижение доли мышевидных грызунов в рационе этих подвидов. Для сверчков токсичность ядовитого секрета яда восточных степных гадюк, потребляющих прямокрылых насекомых, значительно превышает таковую яда обыкновенных, не питающихся насекомыми, но при этом внутривидовые различия между подвидами одного вида (*V. r. renardi* и *V. r. bashkirovi*, *V. b. berus* и *V. b. nikolskii*) выражены слабо. Результаты определения ЛД₅₀ ядовитого секрета исследуемых подвидов гадюк на мышях и сверчках не противоречат предположению о связи токсичности ядовитого секрета гадюк с особенностями их спектра питания.

СПИСОК РАБОТ Р.А. ГОРЕЛОВА, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Атяшева, Т.Н. Возрастные различия свойств ядовитого секрета у гадюк Волжского бассейна / Т.Н. Атяшева, А.Л. Маленёв, Р.А. Горелов, А.А. Клёнина, А.Г. Бакиев // Вестн. Санкт-Петербург. ун-та. Сер. 3. Биология. – 2016. – Вып. 3. – С. 14–18.
2. Горелов, Р.А. Ядоотдача и свойства ядовитого секрета обыкновенной гадюки *Vipera berus* в разное время сезонной активности / Р.А. Горелов, Т.Н. Атяшева, А.Л. Маленёв, А.Г. Бакиев // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2017. – Т. 19, № 2. – С. 11–16.
3. Маленёв, А.Л. Острая токсичность яда восточной степной гадюки для сверчков: некоторые результаты, имеющие практическое значение / А.Л. Маленёв, Р.А. Горелов, Т.Н. Атяшева, А.Г. Бакиев // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2016. – Т. 18, № 5. – С. 118–121.
4. Маленёв, А.Л. Ядоотдача и свойства ядовитого секрета восточной степной гадюки *Vipera renardi* в разное время сезонной активности / А.Л. Маленёв, Р.А. Горелов, Т.Н. Атяшева, А.Г. Бакиев // Современная герпетология. – 2016. – Т. 16, вып. 3/4. – С. 129–134.
5. Маленёв, А.Л. Ядоотдача обыкновенной *Vipera berus* и восточной степной *V. renardi* гадюк из Поволжья / А.Л. Маленёв, Р.А. Горелов, Т.Н. Макарова // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2015. – Т. 17, № 4 (4). – С. 681–685.
6. Маленёв, А.Л. Особенности ядовитого секрета гадюки Ренара (*Vipera renardi*) из Волгоградской области / А.Л. Маленёв, Т.Н. Макарова, Р.А. Горелов, // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2014. – Т. 16, № 1. – С. 261–265.
7. Шитиков, В.К. Модели «доза-эффект» со смешанными параметрами на примере оценки токсичности яда обыкновенной гадюки *Vipera berus* / В.К. Шитиков, А.Л. Маленёв, Р.А. Горелов, А.Г. Бакиев // Принципы экологии. – 2018. – № 2. – С. 150–160. DOI: 10.15393/j1.art.2018.7542.

Монографии:

8. Бакиев, А.Г. Гадюки (Reptilia: Serpentes: Viperidae: *Vipera*) Волжского бассейна. Часть 1 / А.Г. Бакиев, В.И. Гаранин, Д.Б. Гелашвили, Р.А. Горелов, И.В. Доронин, О.В. Зайцева, А.И. Зиненко, А.А. Клёнина, Т.Н. Макарова, А.Л. Маленёв, А.В. Павлов, И.В. Петрова, В.Ю. Ратников, В.Г. Старков, И.В. Ширяева, Р.Х. Юсупов, Т.И. Яковлева. – Тольятти: Кассандра, 2015. – 234 с.
9. Горелов, Р.А. Ядовитые змеи Самарской области и свойства их ядов / Р.А. Горелов. – Тольятти: Кассандра, 2017. – 124 с.

Статьи в других научных изданиях:

10. Горелов, Р.А. Токсичность ядовитого секрета самцов и самок гадюк Волжского бассейна / Р.А. Горелов // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2017. – Т. 26, № 1. – С. 99–102.

11. Горелов, Р.А. Токсичность яда гадюк Волжского бассейна для насекомых / Р.А. Горелов, А.Л. Маленёв // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2016. – Т. 25, № 3. – С. 155–161.

12. Ушаков, М.В. Результаты изучения восточной степной гадюки (*Serpentes, Viperidae*) в природном, архитектурно-археологическом музее-заповеднике «Дивногорье» / М.В. Ушаков, Е.Н. Фролова, А.Л. Маленёв, Т.Н. Атяшева, Р.А. Горелов // Дивногорский сборник: Труды музея-заповедника «Дивногорье». Вып. 7. – Воронеж: ИПЦ «Научная книга», 2018. – С. 147–164.

Статьи в сборниках материалов научных конференций:

13. Горелов, Р.А. Размерные, половые и сезонные особенности ядоотдачи обыкновенных гадюк / Р.А. Горелов // Экологический сборник 5: Тр. молодых ученых Поволжья. Междунар. науч. конф. – Тольятти: ИЭВБ РАН, «Кассандра», 2015. – С. 102–106.

14. Горелов, Р.А. Возрастные различия в токсичности ядовитого секрета гадюк Волжского бассейна / Р.А. Горелов // Экологический сборник 6. Тр. молодых ученых Поволжья. Междунар. науч. конф. – Тольятти: ИЭВБ РАН, «Кассандра», 2017. – С. 96–100.

15. Горелов, Р.А. Токсичность ядовитого секрета гадюки Ренара (*Vipera renardi*) из Волгоградской области / Р.А. Горелов, А.Л. Маленёв // Чтения имени эколога и зоолога, профессора Виктора Алексеевича Попова: Материалы докладов XXV–XXVII чтений. – Казань: ООО «Фолиант», 2016. – С. 45–49.