

УДК 599.426: 574.24: 591.111.1

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ КРОВИ ДВУХ МИГРИРУЮЩИХ ВИДОВ РУКОКРЫЛЫХ УРАЛА

© 2024 г. Л. А. Ковальчук<sup>1,\*</sup>, В. А. Мищенко<sup>1,2</sup>, Л. В. Черная<sup>1</sup>, В. П. Снитко<sup>3</sup>, академик РАН В. Н. Большаков<sup>1</sup>

Поступило 29.11.2023 г.

После доработки 10.12.2023 г.

Принято к публикации 13.12.2023 г.

Представлены данные по исследованию функциональной активности системы крови мигрирующих видов фауны Урала: двухцветного кожана и лесного нетопыря. Многомерный непараметрический дисперсионный анализ параметров красной крови мигрирующих видов летучих мышей и оседлого вида прудовой ночницы показал статистически значимые видовые различия ( $p < 0.05$ ). У рукокрылых отмечена определенная генетически детерминированная разнонаправленность в мобилизации механизмов аварийного регулирования лимфоидной системы крови.

**Ключевые слова:** летучие мыши, мигрирующие виды, периферическая кровь, гранулоциты.

**DOI:** 10.31857/S2686738924020135, **EDN:** WFAAFF

### ВВЕДЕНИЕ

На Урале обитает 13 видов летучих мышей, из которых девять видов зимуют в районах летних местообитаний, а четыре вида мигрируют на дальние расстояния [1–2]. Из перелетных видов наиболее исследованы два – двухцветный кожан (*Vespertilio murinus* [Linnaeus, 1758]) и лесной нетопырь (*Pipistrellus nathusii* [Keyserling et Blasius, 1839]) [3]. Направления перелетов рукокрылых, их дальность и места зимовок в настоящее время точно не установлены, однако они могут быть весьма значительны [4–5]. Исследователи отмечают, что мигрирующие виды летучих мышей сталкиваются с многочисленными природными факторами, включая изменения климата [6, 7], потерю и фрагментацию среды обитания под усиливающимся техногенным прессом [8, 9], что существенным образом влияет

на их эврибионтность и выживание [10–12]. Учитывая, что устойчивая адаптация обеспечивается оптимально отрегулированными эколого-физиологическими процессами, значительный интерес приобретает изучение в сравнительном варианте системы крови мигрирующих и оседлых видов рукокрылых. Ранее авторами дана оценка гематологических параметров крови оседлого вида фауны Урала *Myotis dasycneme* [Voie, 1825] [13]. Представленные в настоящей статье материалы являются результатом исследований функциональной активности системы крови мигрирующих видов рукокрылых Урала.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемая группа представлена сеголетками двух видов мигрирующих летучих мышей: лесного нетопыря (*P. nathusii*) и двухцветного кожана (*V. murinus*). Лесной нетопырь широко распространен в зонах широколиственных и смешанных лесов с наличием водоемов, а двухцветный кожан тяготеет к открытым пространствам лесостепной зоны Урала и к селитебным территориям [1]. В летний период года рукокрылые приурочены к интразональным (пойменным, околородным) биотопам, обеспечивающим основные кормовые станции и возможность размещения выводковых колоний. В дневное время, обычно располагаясь в естественных укрытиях, лесной нетопырь и двухцветный кожан зачастую предпочитают неглубокие убежища (дупла деревьев, пещеры и хозяйственные постройки человека). Исследователи отмечают способность этих

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup>Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Виром” Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup>Южно-Уральский федеральный научный центр минералогии и геоэкологии Уральского отделения Российской академии наук, Ильменский государственный заповедник, Миасс, Россия

\*E-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru

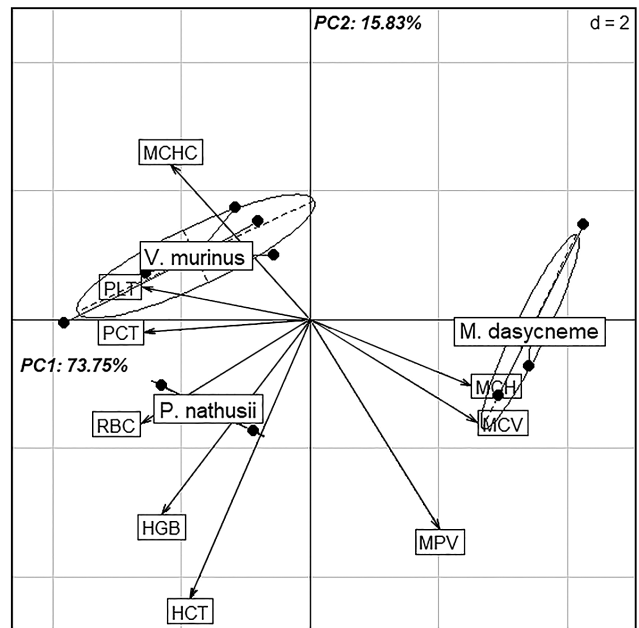
животных к дальним миграциям и к возвращению в места своего прежнего обитания (homing) [14]. У перелетных видов рукокрылых Урала возвращение с зимовки происходит с первой декады мая [1, 2]. В начале июня в Челябинской области отмечено массовое появление лесных нетопырей и двухцветных кожанов в местах их размножения. Рождение детенышей происходит с начала и до конца второй декады июня, вылет молодняка из убежищ наблюдается с конца второй и до середины третьей декады июля; миграция обоих видов к местам зимовок — с конца августа до первых чисел сентября [2].

Отлов и содержание рукокрылых, доставленных в лабораторию, осуществляли согласно международным принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, используемых для экспериментальных и научных целей [15]. Животных для исследования ( $n = 34$ ) отлавливали паутиными сетями на побережье оз. Большой Кисегач и в окрестностях оз. Малое Миассово (Челябинская область) во второй декаде июля (в период выведения потомства) в 2013–2015 гг. Численность двухцветного кожана в Ильменском заповеднике достаточно высока, и его относительное обилие составляет 21.1%, а лесного нетопыря — 7.4% [2]. Для сравнения использовали зимующий на Урале вид — прудовую ночницу, с относительным обилием в Ильменском заповеднике — 45.3%.

Забор крови проводили в стерильные вакуумные пробирки BD Vacutainer с ЭДТА (Великобритания). Параметры периферической крови (400–800  $\mu$ л) животных определяли на гематологическом анализаторе BC-5800 (Mindray, Китай). Лейкоцитарную формулу рассчитывали (на 100 лейкоцитов) в мазках крови, окрашенных по Романовскому — Гимзе. На основании лейкоцитарной формулы рассчитывали интегральный лейкоцитарный индекс (ИЛИ — соотношение гранулоцитов и агранулоцитов в отн. ед.), позволяющий оценить физиологическое состояние исследуемых особей и их адаптивный потенциал. Полученные результаты обработаны с использованием пакета лицензионных прикладных программ Statistica for Windows V 10.0. Метод главных компонент (PCA) реализован посредством статистической среды R (R 3.1.2, пакет Ade4) [16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование периферической крови летучих мышей показало, что межвидовые различия в гематограммах мигрирующих видов как по содержанию эритроцитов ( $p = 0.36$ ) и гемоглобина ( $p = 0.12$ ), так и по содержанию тромбоцитов ( $p = 0.60$ ) и тромбокритам ( $p = 0.89$ ) отсутствуют, что, несомненно, свидетельствует об идентичности адаптивных механизмов лесного нетопыря и двухцветно-



**Рис. 1.** Показатели красной крови летучих мышей в пространстве двух главных компонент. PC1, PC2 — оси главных компонент, % — процент дисперсии данных, объясненных главной компонентой; стрелки отражают корреляцию главных компонент с исходными показателями; эллипсы представляют собой 95% доверительные области.

го кожана. Животные характеризуются высоким уровнем содержания гемоглобина, гематокрита и эритроцитов, что свидетельствует о высоком уровне дыхательной функции летающих животных [17]. Статистически значимые отличия у прудовой ночницы по параметрам красной крови отмечены относительно лесного нетопыря: для эритроцитов ( $RBC = 10.0 \pm 0.03$  Т/л,  $p = 0.03$ ), гемоглобина ( $Hb: 148.9 \pm 0.93$  г/л,  $p = 0.03$ ), гематокрита ( $HCT: 41.5 \pm 0.05\%$ ,  $p = 0.03$ ) при средней концентрации гемоглобина в эритроците ( $MCHC = 372.2 \pm 1.8$  г/л,  $p = 0.02$ ) и при среднем объеме эритроцита ( $MCV = 41.4 \pm 0.07$  фл,  $p = 0.03$ ); и двухцветного кожана: по содержанию эритроцитов ( $RBC = 9.2 \pm 0.6$  Т/л,  $p = 0.01$ ), по среднему объему эритроцита ( $MCV = 36.8 \pm 0.07$  фл,  $p = 0.01$ ), при средней концентрации гемоглобина в эритроците ( $MCHC = 379.6 \pm 7.3$  г/л,  $p = 0.02$ ) [18].

На рис. 1. представлены три самостоятельные группы рукокрылых: мигрирующие виды *V. murinus*, *P. nathusii* и оседлый вид *M. dasycneme*. Анализ главных компонент показал, что 73.75% общей дисперсии параметров красной крови приходится на первую главную компоненту и 15.83% — на вторую главную компоненту. Наибольший вклад в межвидовую изменчивость показателей красной крови по PC1 вносят эритроциты (13.66%), средний объем эритроцита (13.22%), тромбоциты (13.42%), тром-

**Таблица 1.** Лейкоцитарный состав периферической крови летучих мышей

Показатели	I. <i>M. dasycneme</i>	II. <i>V. murinus</i>	III. <i>P. nathusii</i>
	$\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot} [95\% CI_{boot}]$		
Нейтрофилы, %	39.78 ± 1.42 [37.00–42.50]	54.02 ± 3.30* [47.20–60.20]	66.00 ± 0.47** [65.00–67.00]
• юные, %	2.49 ± 1.14 [0.50–4.75]	8.01 ± 1.29* [5.20–10.40]	7.52 ± 2.10 [3.00–12.00]
• палочкоядерные, %	25.99 ± 3.19 [18.75–30.00]	24.63 ± 3.02 [18.80–30.60]	38.00 ± 1.88** [34.00–42.00]
• сегментоядерные, %	11.19 ± 2.89 [6.00–16.75]	21.37 ± 2.46* [17.60–27.00]	20.50 ± 0.24* [20.00–21.00]
Лимфоциты, %	56.02 ± 1.83 [6.00–16.75]	43.41 ± 3.05* [37.60–49.20]	32.00 ± 0.01** [31.05–32.08]
Моноциты, %	2.50 ± 0.76 [0.75–3.75]	1.59 ± 0.78 [0.40–3.40]	1.00 ± 0.00 [1.00–1.01]
Эозинофилы, %	1.25 ± 0.42 [0.50–2.00]	1.00 ± 0.28 [0.40–1.60]	1.00 ± 0.47 [0.10–2.00]
Гранулоциты, %	41.01 ± 1.80 [37.50–44.50]	54.90 ± 3.40* [48.00–61.40]	67.01 ± 0.90*▲ [65.12–69.03]
Агранулоциты, %	58.50 ± 2.10 [54.50–62.50]	44.90 ± 3.50* [38.60–52.01]	33.01 ± 0.01*▲ [32.09–33.01]
ИСЛ, отн. ед.	0.8	1.2	2.0

*Примечание:* \* – статистически значимые различия: I и II, I и III ( $p < 0.05$ ); – статистически значимые различия: II и III ( $p < 0.05$ );  $\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot}$  – среднее арифметическое и ошибка среднего бутстреп-распределения;  $[95\% CI_{boot}]$  – доверительный интервал бутстреп-распределения.

бокрит (13.07%), среднее содержание гемоглобина (12.27%).

Определены и их значимые коэффициенты корреляции с PC1: –0.95, 0.94, –0.94, –0.93, 0.90 – соответственно ( $p = 0.001$ ). Значения первой главной компоненты отчетливо отделяют прудовую ночницу от обоих перелетных видов. PC2 сильно коррелирует (–0.67) с гематокритным показателем (вклад 36.86%), и в меньшей степени – с гемоглобином (вклад 18.01%), что также по данным показателям подтверждает неоднородность особей исследованных экологически контрастных видов.

У активно мигрирующих видов отмечено двукратное повышение количества тромбоцитов: у лесного нетопыря (PLT = 446.7 Г/л) и у двухцветного кожана (PLT = 476.3 Г/л) по сравнению с прудовыми ночницами (PLT = 213.1 Г/л), что указывает на возросшую долю объема цельной крови, занимаемой тромбоцитами, участвующими в качестве эффекторов иммунной системы. Тромбоциты, представляя ведущую роль в системе гомеостаза, участвуют в иммунных и аллергических реакциях организма наряду с макрофагами, нейтрофилам и эозинофилами [19]. При повреждении кровеносных сосудов тромбоциты первыми оказываются в зоне поражения, выступая как факторы врожденного иммунитета. Лейкоцитарный состав крови мигрирующих видов рукокрылых представлен двумя группами клеток: гранулоцитами (нейтрофилы:

юные, палочкоядерные, сегментоядерные, эозинофилы), определяющими реакции врожденного иммунитета, и агранулоцитами (моноциты, лимфоциты), ответственными за реакции адаптивного иммунного ответа (табл. 1).

Показателен повышенный уровень нейтрофилов у перелетных рукокрылых (см. табл. 1), что может быть связано с неспецифической защитой их организма от токсических воздействий, вирусных и бактериальных инфекций. Лейкоцитарный состав крови характеризуется значимо повышенным содержанием гетерофилов за счет увеличения числа зрелых сегментоядерных форм у двухцветного кожана ( $p < 0.05$ ) и лесного нетопыря ( $p < 0.05$ ), что обеспечивает подавление воспалительных реакций и активную неспецифическую защиту организма от патогенов (см. табл. 1).

Идентичность адаптивных механизмов исследуемых мигрирующих видов подтверждается отсутствием значимых различий в лейкограммах по содержанию факторов клеточных воспалительных реакций: эозинофильных лейкоцитов ( $p = 0.99$ ) и моноцитов ( $p = 0.99$ ), продуцирующих провоспалительные цитокины, – эндогенных регуляторов гемопоза и клеточно-опосредованного иммунного ответа [20].

Цитокины имеют широкий спектр функций, включая регулирование врожденного и адаптив-

ного иммунитета, активацию воспалительных реакций и стимуляцию кроветворения [20]. Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав периферической крови характеризуется высокой долей гранулоцитов у мигрирующих двухцветного кожана (55%) и лесного нетопыря (67%), формирующих срочную защиту организма как от инфекций, так и от токсических воздействий и обеспечивающих их выживание за пределами нативного ареала (см. табл. 1). Высокие показатели интегрального лейкоцитарного индекса ИСЛ = 1.2 для двухцветного кожана и ИСЛ = 2.0 для лесного нетопыря по сравнению с ИСЛ = 0.8 прудовой ночницы подтверждают выраженную реактивность системы естественного врожденного иммунитета, способствующего формированию адаптивных реакций, обеспечивающих эврибионтность *V. murinus* и *P. nathusii*, мигрирующих на дальние расстояния.

Результаты исследований функциональной активности системы крови показывают, что *V. murinus* и *P. nathusii* могут быть использованы для оценки их адаптационных возможностей, способствующих длительным сезонным миграциям, а также служить основой для мониторинга численности видов и популяций рукокрылых с целью сохранения биоразнообразия и рационального использования ресурсов животного мира.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Института экологии растений и животных УрО РАН в рамках государственного задания (№122021000091-2). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Отлов и содержание животных в лаборатории осуществляли с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, используемых для экспериментальных и научных целей [15]. Протокол с использованием экспериментальных животных был одобрен комиссией по биоэтике Института экологии растений и животных УрО РАН (протокол № 11 от 29.04.2022).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Большаков В.Н., Орлов О.Л., Снитко В.П.* Летучие мыши Урала. Екатеринбург: Академкнига, 2005.

2. *Снитко В.П., Снитко Л.В.* Рукокрылые (Chiroptera, Vespertilionidae) Южного Урала (Челябинская область) // Зоологический журнал. 2017. Т. 96. № 3. С. 320–349.
3. *Снитко В.П.* Рукокрылые (Chiroptera) Ильменского заповедника // Plecotus et al. 2001. № 4. С. 69–74.
4. *Alcalde J., Jiménez M., Brila I., et al.* Transcontinental 2200 km migration of a Nathusius' pipistrelle (*Pipistrellus nathusii*) across Europe // Mammalia. 2021. V. 85 (2). P. 161–163.
5. *Vasenkov D., Desmet J.F., Popov I., et al.* Bats can migrate farther than it was previously known: a new longest migration record by Nathusius pipistrelle *Pipistrellus nathusii* (Chiroptera: Vespertilionidae) // Mammalia. 2022. V. 86 (5). P. 524–526.
6. *Rebelo H., Tarroso P., Jones G.* Predicted impact of climate change on European bats in relation to their biogeographic patterns // Global Change Biology. 2010. V. 16 (2). P. 561–576.
7. *Frik W.F., Kingston T., Flanders J.* A review of the major threats and challenges to global bat conservation // Annals of the New York Academy of Sciences. 2020. V. 1469 (1). P. 5–25.
8. *Rydell J., Bach L., Dubourg-Savage M.J., et al.* Bat mortality at wind turbines in Northwestern Europe // Acta Chiropterologica. 2010. V. 12 (2). P. 261–274.
9. *Russo D., Ancillotto L.* Sensitivity of bats to urbanization: a review // Mammalian Biology. 2015. V. 80 (3). P. 205–212.
10. *Frick W.F., Reynolds D.S., Kunz T.H.* Influence of climate and reproductive timing on demography of little brown myotis *Myotis lucifugus* // Journal of Animal Ecology. 2010. V. 79 (1). P. 128–136.
11. *Amorim F., Mata V.A., Beja P., et al.* Effects of a drought episode on the reproductive success of European free-tailed bats (*Tadarida teniotis*) // Mammalian Biology. 2015. V. 80. P. 228–236.
12. *Russo D., Salinas-Ramos V.B., Cistrone L., et al.* Do we need to use bats as bioindicators? // Biology. 2021. V. 10 (8). P. 693–708.
13. *Ковальчук Л.А., Мищенко В.А., Черная Л.В. и др.* Сезонная изменчивость иммуногематологических параметров периферической крови прудовой ночницы *Myotis dasycneme* (Boie, 1825), обитающей на Урале // Доклады РАН. Науки о жизни. 2023. Т. 510 (1). С. 278–282.
14. *Стрелков П.П.* Оседлые и перелетные виды летучих мышей (Chiroptera) в Европейской части СССР. Сообщение 1 // Бюллетень МОИП. Отдел биологии. 1970. Т. 75 (2). С. 38–52.
15. *Yarri D.* The Ethics of Animal Experimentation. Oxford: Oxford UniverPress, 2005.
16. *Chessel D., Dufour A.B., Thioulouse J.* The ade 4 package-I: One-table methods // R News. 2004. V. 4. P. 5–10.
17. *Bandouchova H., Zukal J., Linhart P., et al.* Low seasonal variation in greater mouse-eared bat (*Myotis myotis*)



- otis*) blood parameters // PLoS One. 2020. V. 15 (7): e0234784.
18. Kovalchuk L., Mishchenko V., Chernaya L., et al. Haematological parameters of pond bats (*Myotis dasycneme* Boie, 1825 Chiroptera: Vespertilionidae) in the Ural Mountains // Zoology and Ecology. 2017. V. 27 (2). P. 168–175.
19. Jenne CN., Urrutia R., Kubes P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity // International Journal of Laboratory Hematology. 2013. V. 35 (3). P. 254–261.
20. Scapigliati G., Buonocore F., Mazzini M. Biological activity of cytokines: an evolutionary perspective // Current Pharmaceutical Design. 2006. V. 12. P. 3071–3081.

## FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE BLOOD SYSTEM OF TWO MIGRATORY SPECIES OF THE URAL

L. A. Kovalchuk<sup>a, #</sup>, V. A. Mishchenko<sup>a, b</sup>, L. V. Chernaya<sup>a</sup>, V. P. Snit'ko<sup>c</sup>,  
Academician of the RAS V. N. Bolshakov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Federal State Budgetary Institution of Science Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Federal Research Institute of Viral Infections "Virom" of the Russian Consumer Protection Agency, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>c</sup> South Ural Federal Scientific Centre of Mineralogy and Environmental Geology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ilmen Reserve, Miass, Russian Federation

<sup>#</sup>E-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru

The presented data on the study of the functional activity of the blood system of migratory species of the fauna of the Urals: *Vespertilio murinus* [Linnaeus, 1758], and *Pipistrellus nathusii* Keyserling et [Blasius, 1839]. Multivariate nonparametric analysis of variance of red blood parameters ( $p < 0.05$ ) of migrating bats and the sedentary pond bat showed significant species differences. In bats, a certain genetically determined multidirectionality in the mobilization of emergency regulation mechanisms of the lymphoid blood system of sedentary and migratory species has been noted.

**Keywords:** bats, migratory species, peripheral blood, granulocytes.