

УДК 591.147:599.742

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МНОЖЕСТВЕННОГО ОТЦОВСТВА НА ИММУННЫЙ СТАТУС ДЕТЕНЬШЕЙ СИРИЙСКОГО ХОМЯКА (*MESOCRICETUS AURATUS*, CRICETIDAE, RODENTIA)

© 2023 г. Е. В. Поташникова^{а, *}, Е. В. Кузнецова^{а, **}, Н. Ю. Феоктистова^{а, ***},
Н. А. Васильева^{а, ****}, С. И. Мещерский^{а, *****}

^аИнститут проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН,
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

*e-mail: potashnikova.k@gmail.com

**e-mail: kuznetsovaekvl@gmail.com

***e-mail: feoktistovanyu@gmail.com

****e-mail: ninavasilieva@gmail.com

*****e-mail: nervaner6892236@gmail.com

Поступила в редакцию 27.08.2022 г.

После доработки 10.10.2022 г.

Принята к публикации 14.10.2022 г.

Оценивали влияние феномена множественного отцовства на приобретенный иммунитет у детенышей сирийского хомяка. Сравнивали контрольную группу (одиночное отцовство) и опытную (множественное отцовство). Тип отцовства определяли по 10 микросателлитным локусам. В возрасте 33 дней детенышей иммунизировали Т-зависимым антигеном (гемоцианин фиссуреллы, KLH) и измеряли уровень специфических антител (анти-KLH IgG) с интервалом в 5 дней. Не было выявлено достоверных различий в концентрации анти-KLH IgG в сыворотке крови детенышей из выводков с множественным отцовством и выводков, полученных от одного самца. Таким образом, наши результаты не подтверждают гипотезу о том, что множественное отцовство усиливает иммунитет детенышей сирийского хомяка.

Ключевые слова: гуморальный иммунный ответ, KLH, множественное отцовство, сирийский хомяк (*Mesocricetus auratus*)

DOI: 10.31857/S0044513423020137, **EDN:** HQWSRG

Промискуитет – основной тип брачной стратегии для многих млекопитающих, в том числе для большинства грызунов (Громов, Осадчук, 2015; Громов, 2017). Считается, что самка, имея возможность спариваться с несколькими партнерами, повышает свой репродуктивный успех (Keil, Sachser, 1998; Birkhead, 2000; Jennions, Petrie, 2000; Stockley, 2003; Parker, Tang-Martinez, 2005; Firman, Simmons, 2008). Успешность оплодотворения увеличивается за счет снижения генетической несовместимости между партнерами (Zeh, Zeh, 2001, 2006; Tregenza, Wedell, 2002). Например, на луговых собачках Ганнисона (*Synomys gunnisoni*) показано, что вероятность беременности и родов напрямую зависит от количества половых партнеров матери (Hoogland, 1998). Так, вероятность родов составляла 100% для самок, спарившихся с тремя или более самцами, а для самок, спарившихся только с одним или двумя партнерами, – только 92%. Спаривание с несколькими самцами, таким образом, повышает

вероятность наступления беременности и успешных родов. Кроме того, размер выводка также зависит от количества половых партнеров самки-матери (Hoogland, 1998; Parker, Tang-Martinez, 2005). У бурых сумчатых мышей (*Antechinus stuartii*) также было показано, что доля самок с детенышами была достоверно выше среди самок, спаривающихся с несколькими самцами (Fisher et al., 2006). Проведено несколько исследований, в которых непосредственно проверяли влияние множественного спаривания самок на потомство. При этом были получены данные, свидетельствующие о том, что спаривание с несколькими самцами способствовало улучшению качества потомства: у желтых навозных мух (*Scathophaga stercoraria*) была отмечена лучшая выживаемость потомства (Tregenza et al., 2003); у луковых клещей (*Rhizoglyphus robini*) повышалась плодовитость дочерей (Kozielska et al., 2004).

Часто следствием спаривания самок с несколькими самцами является множественное от-

цовство – присутствие в одном выводке детенышей от разных самцов. Преимущества множественного отцовства еще не до конца изучены. Однако предполагается, что, благодаря ему, снижаются уровень инбридинга в популяциях (Stockley et al., 1993; Yasui, 2001; Foerster et al., 2003; Waser, De Woody, 2006; Dugdale et al., 2007; Bergeron et al., 2011; Batova et al., 2021) и частота инфантицида (Wolff, Macdonald, 2004; Klemme, Ylönen, 2010; Huchard et al., 2012).

Кроме того, есть данные, что множественное отцовство влияет и на качество потомства. Так, например, у сверчков *Gryllus firmus* множественное отцовство приводило к более быстрому росту эмбрионов (Weigensberg et al., 1998). У бурых сумчатых мышей показано, что количество детенышей, доживших до перехода на самостоятельное питание, было в три раза выше в выводках, полученных от нескольких отцов (Fisher et al., 2006).

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что множественное отцовство может положительно влиять, например, на иммунный статус детенышей.

Цель работы – оценить влияние феномена множественного отцовства на приобретенный иммунитет у детенышей сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*).

Выбор данного объекта в качестве модельного обусловлен тем, что для него характерна промискуитетная система спаривания (Murphy, 1977), разными генетическими методами доказан факт возможности множественного отцовства в выводках (Huck et al., 1985; Krajnak et al., 1994; Fritzsche et al., 2006), а также подобраны праймеры для микросателлитных последовательностей (Neumann et al., 2005). Кроме того, у сирийского хомяка очень короткая беременность (16 дней) (Clemens, Witcher, 1985; Lisk, 1985), что удобно для быстрого получения выводков и дальнейшего их анализа. Также нужно отметить, что основная мировая лабораторная популяция получена всего от одного выводка, привезенного в лабораторию в 1930 году (Murphy, 1985).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Для проведения эксперимента было взято 64 детеныша сирийского хомяка возрастом 33 дня, полученных от 16 самок и 8 самцов (лабораторная колония ИПЭЭ РАН). Животных содержали на Научно-экспериментальной базе “Черноголовка” ИПЭЭ РАН (Россия, Московская обл., Ногинский р-н, г. Черноголовка) в индивидуальных клетках размером 42 × 26 × 14 см при естественном световом и температурном режиме. Животные получали корм и воду без ограничений. Рацион включал: зерносмесь из семян подсолнеч-

ника и овса, комбикорм, яблоки, морковь, свеклу, творог, вареное куриное яйцо (1 раз в неделю).

Схема ссаживания

Для получения экспериментальных детенышей спаривание 24 взрослых особей проводили в весенне-летний период (май–август 2020 г.) – период наиболее интенсивного размножения этого вида (Lisk, 1985). С этой целью были сформированы две группы: опытная группа для получения потомства с потенциальным множественным отцовством и контрольная группа для получения потомства от одного отца.

Для получения потомства с потенциальным множественным отцовством в нейтральную клетку высаживали сначала самку, а затем к ней по очереди подсаживали трех самцов. На спаривание с каждым самцом отводилось 10 мин. Успешным считалось спаривание, которое заканчивалось коитусом и включало не менее 5 садок.

В качестве контроля использовали выводки, полученные от одного самца. Для этого в нейтральную клетку высаживали самку и одного самца на 10–15 мин чтобы зафиксировать по меньшей мере 5 садок.

После завершения спариваний животных рассаживали по своим клеткам. Если в течение 16 дней (срок беременности) (Clemens, Witcher, 1985; Lisk, 1985) родов не происходило, самку вновь спаривали.

За время работы было получено 8 выводков ($N = 64$), из них 43 детеныша из пяти выводков были получены при множественном спаривании.

Материалом для проведения молекулярно-генетического анализа послужили образцы крови, которую брали у экспериментальных животных из подязычной вены (Heimann et al., 2009). Полученные образцы были заморожены в микроцентрифужных пробирках (Eppendorf; кат. № 0030 120.086) и хранились при -18°C до момента проведения анализов.

Проведение молекулярно-генетического анализа

Тотальную ДНК выделяли с использованием набора реагентов Diatom™ DNA Prep 200 (ООО “Лаборатория Изоген”, Москва, Россия) по инструкции производителя. Полученные растворы ДНК хранили при температуре -20°C до проведения анализа. Последующую постановку ПЦР осуществляли на основе смеси Mag Mix 2025 (ЗАО “Диалат”, Москва, Россия). Праймеры были синтезированы в НПК “Синтол” (Москва).

Определение аллельного состава 10 микросателлитных локусов (Mau2/4, Mau12/13, Mau14/15, Mau3/4, Mau6/4) (Neumann et al., 2005) было проведено для всех взрослых животных ($n = 24$) и для

Таблица 1. Тип отцовства и размеры полученных выводков сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*)

| Выводок | Дата рождения выводка | Размер выводка | Количество отцов | Множественное отцовство |
|---------|-----------------------|----------------|------------------|----------------------------------|
| A3-1 | 09.04.2020 | 11 | 1 | Нет |
| A3-2 | 08.06.2020 | 7 | 1 | Нет |
| B1 | 13.06.2020 | 4 | 1 | Нет |
| F1 | 15.06.2020 | 7 | 3 | Было подтверждено генетически |
| J3 | 16.06.2020 | 8 | 3 | Было подтверждено генетически |
| F3 | 21.06.2020 | 12 | 3 | Было подтверждено генетически |
| A3-3 | 10.08.2020 | 7 | 3 | Было подтверждено генетически |
| J1 | 14.08.2020 | 9 | 3 | Не было подтверждено генетически |

детенышей, полученных от спаривания с несколькими самцами ($n = 43$).

Состав полученных ПЦР-продуктов определяли методом капиллярного электрофореза на 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, US) и “НАНОФОР – 05” в присутствии размерного стандарта GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems). Для расшифровки сигнала использовали программу GeneMapper v. 4 (Applied Biosystems). Аллельный состав устанавливали путем соотношения полученных значений длин фрагментов с размерными классами, соответствующими ожидаемому мотиву локуса (два нуклеотида во всех случаях).

Аллельный состав ДНК каждого из детенышей сравнивали с генотипом самки-матери с определением аллелей, которые могли быть получены от нее и одного (не более двух дополнительных аллелей на locus в выводке) или нескольких потенциальных отцов.

По итогам молекулярно-генетического анализа было выявлено 4 выводка с подтвержденным множественным отцовством (табл. 1). Для одного выводка с девятью детенышами множественное отцовство не подтвердилось, хотя самка была спарена с тремя самцами по описанной выше схеме.

Иммунизация экспериментальных животных и оценка гуморального иммунитета

Для оценки гуморального иммунного ответа детенышей в возрасте 28 дней отсаживали от матери и на 33-й день жизни иммунизировали Т-зависимым антигеном – гемоцианином фиссуреллы (KLH, Sigma, США, кат. номер H7017). KLH является сильным иммуногеном и широко используется в иммунотоксикологических исследованиях для оценки гуморального иммунитета (Yellon et al., 1999; Drazen et al., 2000, 2001; Demas, 2002; Tian et al., 2018). Антиген вводили экспериментальным животным подкожно (в область холки) в дозе 150 мкг KLH, разведенного в 0.1 мл стерильного физраствора (0.9%-й водный раствор NaCl). Всего для определения уровня специфиче-

ских антител (анти-KLH IgG) было проанализировано 384 образца сыворотки крови от 64 детенышей. Взятие крови у экспериментальных животных для данного анализа производили из ретро-орбитального синуса (Silverman, 2012) на 5-, 10-, 15-, 20- и 25-й день после иммунизации. Отрицательным контролем служили образцы крови детенышей, взятые перед иммунизацией (30-й день жизни). Объем взятой крови не превышал 0.15 мл. Уровень анти-KLH IgG определяли с помощью разработанной нами тест-системы на основе твердофазного иммуноферментного анализа (непрямой неконкурентный метод), которая ранее была успешно апробирована для представителей п/сем Cricetinae (Кузнецова, 2019). В качестве положительного контроля использовали пулированную сыворотку крови от группы сирийских хомяков ($n = 6$), подвергшихся длительной (в течение месяца) иммунизации KLH в сочетании с адьювантами. Эту сыворотку предварительно протестировали с помощью той же тест-системы на наличие высоких уровней специфических антител (Кузнецова, 2019). Уровень иммунного ответа каждого образца вычисляли как процентное соотношение оптической плотности данного образца к оптической плотности положительного контроля.

Статистическая обработка данных

Некоторые особи ($n = 14$ из 64) не развивали иммунный ответ к 25-му дню после иммунизации; таких животных считали не отвечающими на иммунизацию; тех особей, которые развили иммунный ответ к 25-му дню и ранее, считали отвечающими на иммунизацию. С помощью теста Кохрана для повторных измерений мы сравнили динамику соотношения особей, отвечающих и не отвечающих на иммунизацию, в зависимости от дня после иммунизации.

Затем была проанализирована вероятность развития иммунного ответа (отвечали/не отвечали) у всех детенышей ($n = 64$) в зависимости от типа отцовства (множественное/единичное), по-

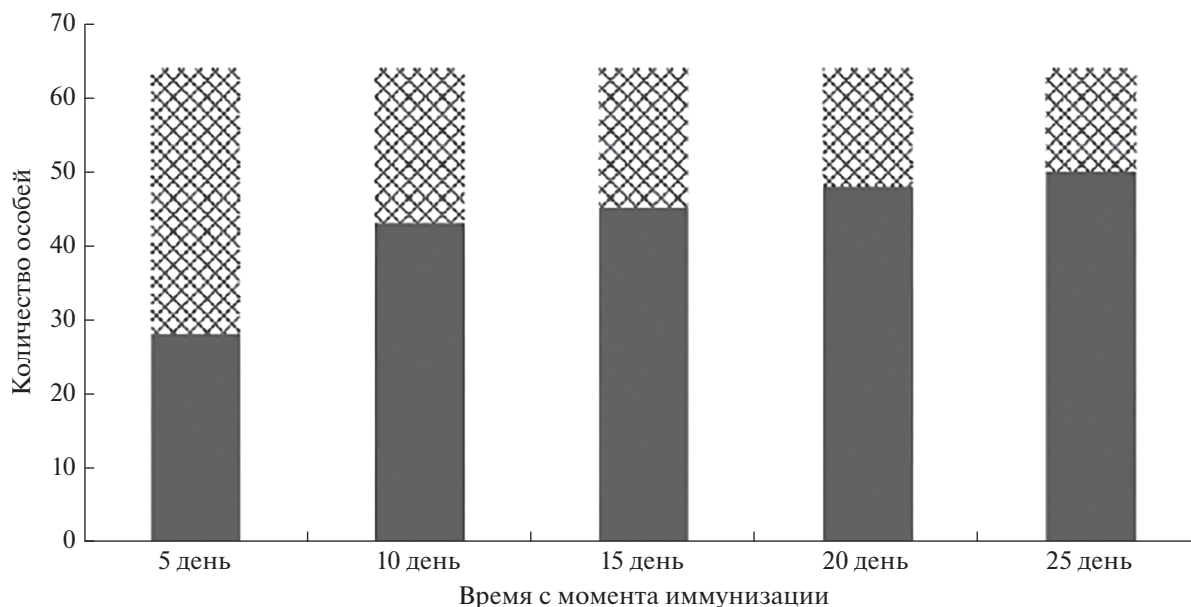


Рис. 1. Соотношение количества особей, развивших иммунный ответ (темные столбики), и особей, не имеющих специфических антител (столбики со штриховкой), в зависимости от времени, прошедшего со дня иммунизации.

ла детенышей и размера выводка с помощью метода обобщенных линейных моделей для биномиального распределения со связующей логит-функцией (Generalized linear models, GLZ) – модель 1. Значимость эффектов оценивалась на основе статистики Вальда.

Далее с помощью дисперсионного анализа для повторных измерений проанализировали влияние таких факторов, как пол, тип отцовства и размер выводка, на развитие иммунного ответа от пятого к 25-му дню (модель силы иммунного ответа). В этот анализ были включены только те особи (отващавшие на иммунизацию), которые выработали специфические антитела по крайней мере к 25-му дню после иммунизации ($n = 50$). Для последующего попарного сравнения разных дней с момента иммунизации мы использовали тест Тьюки (Tukey's test).

Результаты тестов во всех случаях считали достоверными, если уровень значимости был строго меньше 0.05. Статистический анализ данных проводили в программе Statistica 12.0 (StatsSoft, Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ концентраций специфических антител (анти-KLN IgG) в ответ на стимуляцию Т-зависимым антигеном (KLN) у детенышей из выводков с разным типом отцовства показал, что 24% детенышей ($N = 8$, пять самок и три самца) из выводков с множественным отцовством и 25% ($N = 6$, три самки и три самца) из выводков с единственным отцовством были неспособны развить иммунный

ответ вплоть до 25-го дня после иммунизации (или практически к двухмесячному возрасту). При этом не было выводков, состоящих только из не отвечающих на иммунизацию особей.

Доля особей, имеющих анти-KLN IgG, увеличивалась с течением времени ($Q = 61.8, p < 0.0001$), при этом наиболее быстрый рост доли таких особей был до 10-го дня с момента введения антигена; затем их доля росла незначительно (рис. 1).

Вероятность развития иммунного ответа (табл. 2, модель 1 и 2) у детенышей не зависела от типа отцовства, пола детенышей и размера выводка.

Ни один из факторов (пол, тип отцовства, размер выводка) также не оказал достоверного влияния на силу иммунного ответа; взаимодействие эффектов факторов “пол” и “отцовство” также было недостоверным (табл. 2, модель 2).

У всех детенышей, отвечающих на иммунизацию, уровень анти-KLN IgG достоверно увеличивался в зависимости от времени, прошедшего с момента иммунизации (табл. 2, модель 2). Концентрация специфических антител в первые дни после иммунизации была минимальной, затем к 15-му дню наблюдалось резкое увеличение: медианный уровень антител возрос в 62 раза (тест Тьюки, $p < 0.0001$) (рис. 2). После 15-го дня рост концентрации антител замедлялся. Между последовательными измерениями на 15-й и 20-й дни, а также на 20-й и 25-й дни различия были ниже порога достоверности (тест Тьюки, $p = 0.3$), а между 15-м и 25-м днями различия оказались достоверными (тест Тьюки, $p < 0.001$) (рис. 2).

Таблица 2. Влияние пола, размера выводка и типа отцовства на иммунный ответ у детенышей сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*)

| Фактор | 1. Модель вероятности иммунного ответа ($N = 64$) | 2. Модель силы иммунного ответа ($N = 50$) |
|------------------------|---|--|
| Intercept | $\chi^2 = 4.4$, $B = -2.92 \pm 1.39$, $p = 0.04$ | $F = 15.8$, $p = 0.0003$ |
| Пол | $\chi^2 = 0.74$, $B = -0.27 \pm 0.32$, $p = 0.4$ | $F = 0.2$, $p = 0.7$ |
| Тип отцовства | $\chi^2 = 0.007$, $B = 0.027 \pm 0.32$, $p = 0.9$ | $F = 0.005$, $p = 0.9$ |
| Пол \times отцовство | $\chi^2 = 0.12$, $B = -0.11 \pm 0.32$, $p = 0.8$ | $F = 0.2$, $p = 0.6$ |
| Размер выводка | $\chi^2 = 1.6$, $B = 0.19 \pm 0.15$, $p = 0.2$ | $F = 1.6$, $p = 0.2$ |
| День после иммунизации | Фактор не анализируется в данной модели | $F = 7.8$, $p = 0.00001$ |

ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам наших исследований не было выявлено достоверных различий в концентрации анти-KLN IgG в сыворотке крови детенышей из выводков с множественным отцовством и одиночным отцовством. Другими словами, в нашей работе мы не получили подтверждения выдвинутой гипотезе о влиянии множественного отцовства на иммунный статус детенышей.

Положительное влияние множественного отцовства на качество потомства отмечено многими авторами у представителей самых разных групп от членистоногих (Simmons, 2005) до позвоночных (Madsen et al., 1992; Olsson et al., 1994;

Hoogland, 1998; Garant et al., 2005; Fisher et al., 2006). Однако до сих пор не до конца понятны механизмы этого явления. Полевые исследования на позвоночных предполагают, а лабораторные эксперименты на беспозвоночных подтверждают, что даже при отсутствии отцовской заботы полиандрия и множественное отцовство, как ее итог, могут повысить выживаемость детенышей (Tregenza, Wedell, 1998; Madsen et al., 1992). Было отмечено, что потомство, полученное при множественном отцовстве, часто имеет более низкую ювенильную смертность (Madsen et al., 1992). Позже это было подтверждено в лабораторных условиях – выживаемость молодняка напрямую

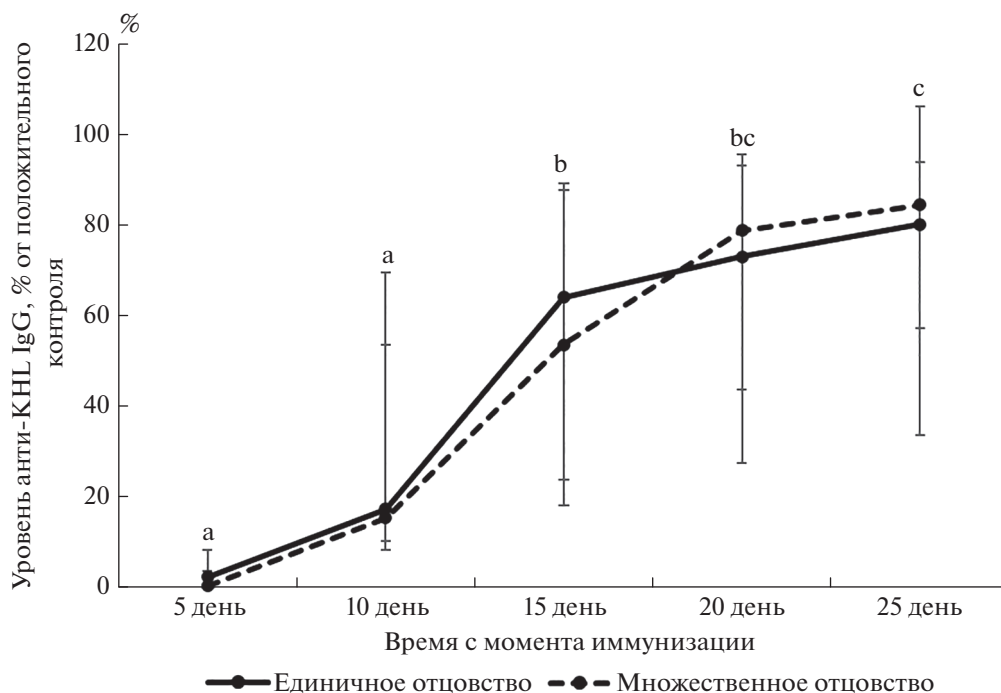


Рис. 2. Изменение уровня специфических антител у детенышей из выводков с разным типом отцовства в зависимости от времени, прошедшего со дня иммунизации. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Разными буквами обозначены достоверные различия между днями ($p < 0.01$).

связана с полиандрией (Trogenza, Wedell, 1998; Simmons, 2005).

Благодаря множественному отцовству и, как следствие, генетическому разнообразию потомства (Batova et al., 2021), выводки получаются разнокачественными (Williams, 1975; Hamilton, Zuk, 1982; Seger, Hamilton, 1988; Clayton, 1991). Это способствует, в частности, большей устойчивости потомства к заболеваниям и паразитам.

Кроме того, установлено, что при спаривании самок с несколькими партнерами качество потомства повышается за счет внутриматочной конкуренции сперматозоидов (Parker, 1984; Madsen et al., 1992; Birkhead et al., 1993; Keller, Reeve, 1995). Также показано, что при множественном спаривании материнский вклад самки в потомство увеличивается (Simmons, 2005). И эти эффекты могут объяснить более высокую выживаемость детенышей.

Однако по-прежнему было неясно, влияет ли множественное отцовство на иммунный статус детенышей и если да, то как.

Например, у птенцов древесной американской ласточки (*Tachycineta bicolor*) не было обнаружено влияния количества производителей на иммунный ответ или рост птенцов. В выводках с множественным отцовством иммунный ответ птенцов достоверно не отличался от иммунного ответа их полусибсов, полученных от одного отца. Однако авторы говорят о тенденции положительного влияния множественного отцовства на иммунный ответ птенцов (Dunn et al., 2009). В то же время в экспериментах на лабораторных мышах аналогичной тенденции выявить не удалось. Не было показано достоверных различий в устойчивости к сальмонеллезной инфекции между выводками с множественным и единичным типом отцовства (Thonhauser et al., 2016). Последняя ситуация несколько напоминает полученные нами данные об отсутствии различий в иммунном ответе у детенышей сирийского хомяка в аналогичной ситуации.

Кроме того, на наши результаты, вероятно, может влиять инбредность популяции сирийского хомяка. Так, в эксперименте мы не получили достоверных различий между группой с одиночным и множественным отцовством, кроме того, четверть животных в каждой группе не смогла развить иммунный ответ к двухмесячному возрасту. В литературе встречаются данные о влиянии инбридинга на различные характеристики (продолжительность жизни особи, репродуктивный успех и т.п.) (Стрельцов и др., 2022) и в т.ч. на иммунный ответ. Например, было отмечено, что иммунный ответ лабораторных мышей линии C57BL/6 (развивающей сильные иммунные реакции) был все равно ниже иммунного ответа мышей (*Mus musculus*), отловленных в природе. В частно-

сти, у диких мышей были более высокие концентрации и более активные ответы антиген-специфических IgG, а также более высокие концентрации общего количества IgG и IgE по сравнению с мышами, выведенными в лаборатории (Abolins et al., 2011).

В течение жизни иммунная система животных подвергается сложным морфологическим и функциональным изменениям. Для лабораторных грызунов (мыши, крысы) было показано, что к моменту отъема детенышей от матери (21-й день жизни) они становятся способными развертывать Т-зависимый иммунный ответ на введение антигена (эритроциты барана), несмотря на сохраняющуюся незрелость своей иммунной системы в течение первого месяца жизни. Однако уровень специфических антител в этом возрасте все еще низок по сравнению со взрослыми особями (Holsapple et al., 2003; Dietert, Holsapple, 2007; Burns-Naas et al., 2008). Было отмечено также, что у лабораторных грызунов максимальные уровни специфических антител в ответ на стимуляцию Т-зависимым антигеном достигаются только к 42–49-му дням жизни (т.е. к половому созреванию) (Holsapple et al., 2003; Dietert, Holsapple, 2007; Burns-Naas et al., 2008; Kuper et al., 2016). Для крыс линии Вистар было показано, что и у самок, и у самок абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов (т.е. основных звеньев, участвующих в развертывании гуморального иммунного ответа) повышалось с возрастом (Симонова и др., 2014). Однако в отличие от лабораторных крыс и мышей у самок сирийского хомяка срок беременности более короткий, а детеныши достигают половой зрелости уже в возрасте одного месяца (Lisk, 1985). Более раннее достижение половой зрелости у сирийского хомяка по сравнению с другими лабораторными грызунами свидетельствует и о более быстром их развитии, что также может оказывать влияние на темпы созревания иммунной системы. Однако, несмотря на это, отдельные детеныши в нашем исследовании так и не смогли выработать специфических антител к КЛН. Неспособность развить полноценный иммунный ответ на такой сильный иммуноген как КЛН может указывать на незрелость иммунной системы этих детенышей, которая, в свою очередь, может быть связана с более медленными темпами роста и развития по сравнению с сибсами. Для подтверждения этого предположения требуются дальнейшие исследования, включающие оценку темпов роста и развития детенышей в выводках, а также определение других иммунных параметров (в т.ч. иммунофенотипирование лимфоцитов) и повторную иммунизацию. Кроме того, снижение иммунного ответа может наблюдаться из-за инбридинга. Как указано выше, лабораторные сирийские хомяки инбредны (Murphy, 1985).

Косвенное подтверждение положительного влияния множественного отцовства на иммунный статус детенышей было получено в работе Соболевой с соавторами (Soboleva et al., 2021) на домашней кошке (*Felis catus*). Показано, что у котят из выводков с множественным отцовством в первые дни после рождения количество лейкоцитов и доля нейтрофилов были выше, чем в выводках, где отцом был только один кот. Таким образом, можно предположить, что и в нашем случае влияние множественного отцовства на иммунный статус детенышей имеет положительный эффект либо на очень ранних стадиях развития, при их непосредственной связи с матерью, либо на более поздних этапах развития.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Громов В.С., 2008. Пространственно-этологическая структура популяций грызунов. М.: Товарищество научных изданий КМК. 582 с.
- Громов В.С., Осадчук Л.В., 2015. Забота о потомстве и секреция тестостерона у самцов лесных грызунов: сенситизация и андрогенная стимуляция родительского поведения // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. № 4. С. 423–430.
- Громов В.С., 2017. Эволюция социальности у млекопитающих. М.: Товарищество научных изданий КМК. 364 с.
- Кузнецова Е.В., 2019. Эколого-физиологические адаптации представителей подсемейства Cricetinae к осенне-зимним условиям Автореф. ... дис. канд. биол. наук. М.: Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН. 24 с.
- Симонова Е.Ю., Косырева А.М., Макарова О.В., Дуатроптов М.Е., 2014. Возрастные изменения морфофункционального состояния иммунной системы у крыс Вистар // Клиническая и экспериментальная морфология. № 1. № 9. С. 35–41.
- Стрельцов В.В., Ильченко О.Г., Котенкова Е.В., 2022. Влияние инбридинга на репродуктивные показатели желтых пеструшек (*Eolagurus luteus*, Rodentia, Cricetidae) в лабораторной колонии // Зоологический журнал. Т. 101. № 9. С. 1039–1047.
- Abolins S.R., Pocock M.J., Hafalla J.C., Riley E.M., Viney M.E., 2011. Measures of immune function of wild mice, *Mus musculus* // Molecular Ecology. V. 20. № 5. P. 881–892.
- Batova O.N., Vasilieva N.A., Titov S.V., Savinetskaya L.E., Tchabovsky A.V., 2021. Female polyandry dilutes inbreeding in a solitary fast-living hibernator // Behavioral Ecology and Sociobiology. V. 75. № 10. P. 1–13.
- Bergeron P., Reale D., Humphries M.M., Garant D., 2011. Evidence of multiple paternity and mate selection for inbreeding avoidance in wild eastern chipmunks // Journal of evolutionary biology. V. 24. № 8. P. 1685–1694.
- Birkhead T.R., Moller A.P., Sutherland W.J., 1993. Why do females make it so difficult for males to fertilize their eggs? // Journal of Theoretical Biology. V. 161. № 1. P. 51–60.
- Birkhead T., 2000. Promiscuity: an evolutionary history of sperm competition and sexual conflict. Harvard University Press. 272 p.
- Burns-Naas L.A., Hastings K.L., Ladics G.S., Makris S.L., Parker G.A., Holsapple M.P., 2008. What's so special about the developing immune system? // International journal of toxicology. V. 27. № 2. P. 223–254.
- Clayton D.H., 1991. The influence of parasites on host sexual selection // Parasitology today. V. 7. P. 329–334.
- Clemens L., Wücher J., 1985. Sexual Differentiation and Development // The Hamster: Reproduction and Behavior. NY: Plenum Press. P. 155–171.
- Demas G.E., 2002. Splenic Denervation Blocks Leptin-Induced Enhancement of Humoral Immunity in Siberian Hamsters (*Phodopus sungorus*) // Neuroendocrinology. V. 76. № 3. P. 178–184.
- Dietert R.R., Holsapple M.P., 2007. Methodologies for developmental immunotoxicity (DIT) testing // Methods. V. 41. № 1. P. 123–131.
- Drazen D.L., Kriegsfeld L.J., Schneider J.E., Nelson R.J., 2000. Leptin, but not immune function, is linked to reproductive responsiveness to photoperiod // American Journal of Physiology. V. 278. № 6. P. R1401–R1407.
- Drazen D.L., Demas G.E., Nelson R.J., 2001. Leptin Effects on Immune Function and Energy Balance Are Photoperiod Dependent in Siberian Hamsters (*Phodopus sungorus*) // Endocrinology. V. 142. № 7. P. 2768–2775.
- Dugdale H.L., Macdonald D.W., Pope L.C., Burke T., 2007. Polygyny, extra-group paternity and multiple-paternity litters in European badger (*Meles meles*) social groups // Molecular Ecology. V. 16. № 24. P. 5294–5306.
- Dunn P.O., Liffeld J.T., Whittingham L.A., 2009. Multiple paternity and offspring quality in tree swallows // Behavioral Ecology and Sociobiology. V. 63. № 6. P. 911–922.
- Firman R.C., Simmons L.W., 2008. Polyandry, sperm competition, and reproductive success in mice // Behavioral Ecology. V. 19. P. 695–702.
- Fisher D.O., Double M.C., Blomberg S.P., Jennions M.D., Cockburn A., 2006. Post-mating sexual selection increases lifetime fitness of polyandrous females in the wild // Nature. V. 444. № 7115. P. 89–92.
- Foerster K., Delhey K., Johnsen A., Liffeld J.T., Kempenaers B., 2003. Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings // Nature. V. 425. № 6959. P. 714–717.
- Fritzsche P., Neumann K., Nasdal K., Gattermann R., 2006. Differences in reproductive success between laboratory and wild-derived golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) as a consequence of inbreeding // Behavioral Ecology and Sociobiology. V. 60. № 2. P. 220–226.
- Garant D., Dodson J.J., Bernatchez L., 2005. Offspring genetic diversity increases fitness of female Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Behavioral Ecology and Sociobiology. V. 57. № 3. P. 240–244.
- Hamilton W. D., Zuk M., 1982. Heritable true fitness and bright birds: A role for parasites // Science. V. 218. P. 384–387.
- Heimann M., Käsermann H.P., Pfister R., Roth D.R., Bürki K., 2009. Blood collection from the sublingual vein in mice and hamsters: a suitable alternative to retrobulbar tech-

- nique that provides large volumes and minimizes tissue damage // *Laboratory animals*. V. 43. № 3. P. 255–260.
- Holsapple M.P., West L.J., Landreth K.S., 2003. Species comparison of anatomical and functional immune system development // *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*. V. 68. № 4. P. 321–334.
- Hoogland J.L., 1998. Why do female Gunnison's prairie dogs copulate with more than one male? // *Animal behaviour*. V. 55. № 2. P. 351–359.
- Huchard E., Canale C.I., Le Gros C., Perret M., Henry P.Y., Kappeler P.M., 2012. Convenience polyandry or convenience polygyny? Costly sex under female control in a promiscuous primate // *Proceedings. Biological Sciences // The Royal Society*. V. 279. № 1732. P. 1371–1379.
- Huck U.W., Quinn R.P., Lisk R.D., 1985. Determinants of mating success in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) IV. Sperm competition // *Behavioral Ecology and Sociobiology*. V. 17. № 3. P. 239–252.
- Jennions M.D., Petrie M., 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits // *Biological Reviews. Cambridge Philosophical Society*. V. 75. № 1. P. 21–64.
- Keil A., Sachser N., 1998. Reproductive benefits from female promiscuous mating in a small mammal // *Ethology*. V. 104. P. 897–903.
- Keller L., Reeve H.K., 1995. Why do females mate with multiple males? The sexually selected sperm hypothesis // *Advances in the Study of Behavior*. V. 24. P. 291–315.
- Klemme I., Ylönen H., 2010. Polyandry enhances offspring survival in an infanticidal species // *Biology Letters*. V. 6. № 1. P. 24–26.
- Kozielska M., Krzemińska A., Radwan J., 2004. Good genes and the maternal effects of polyandry on offspring reproductive success in the bulb mite // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. V. 271. № 1535. P. 165–170.
- Krajnak K., Manzanares J., Lookingland K.J., Nunez A.A., 1994. Gender differences in tuberoinfundibular dopaminergic neuronal activity in a photoperiodic rodent (*Mesocricetus auratus*) // *Brain Res*. V. 634. P. 159–162.
- Kuper C.F., van Bilsen J., Cnossen H., Houben G., Garthoff J., Wolterbeek A., 2016. Development of immune organs and functioning in humans and test animals: Implications for immune intervention studies // *Reproductive Toxicology*. V. 64. P. 180–190.
- Lisk R.D., 1985. *The estrous cycle // The hamster*. Springer, Boston, MA. P. 23–51.
- Madsen T., Shine R., Loman J., Hakansson T., 1992. Why do female adders copulate so frequently? // *Nature*. V. 355. № 6359. P. 440–441.
- Murphy M.R., 1977. Intraspecific sexual preferences of female hamsters // *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. V. 91. № 6. P. 1337–1346.
- Murphy M.R., 1985. History of the capture and domestication of the Syrian golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse). *The hamster*. Springer, Boston, MA. P. 3–20.
- Neumann K., Maak S., Fritzsche P., Gattermann R., 2005. Microsatellites for diversity studies in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) // *Molecular Ecology Notes*. V. 5. № 4. P. 876–878.
- Olsson M., Gullberg A., Tegelström H., Madsen T., Shine R., 1994. Can female adders multiply? // *Nature*. V. 369. № 6481. P. 528–528.
- Parker G.A., 1984. *Sperm competition and the evolution of animal mating strategies*. Academic Press. INC. Orlando, Florida. P. 1–60.
- Parker P.G., Tang-Martinez Z., 2005. Bateman gradients in field and laboratory studies: a cautionary tale // *Integrative and Comparative Biology*. V. 45. № 5. P. 895–902.
- Seeger J., Hamilton W.D., 1988. Parasites and sex // *The evolution of sex*. V. 176. P. 193.
- Silverman J., 2012. *Biomedical research techniques // The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*. Academic Press. P. 786–787.
- Simmons L.W., 2005. The evolution of polyandry: sperm competition, sperm selection, and offspring viability // *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. V. 36. P. 125–146.
- Soboleva A.S., Alekseeva G.S., Erofeeva M.N., Klyuchnikova P.S., Sorokin P.A., Naidenko S.V., 2021. Leukocytes count and profile during early postnatal ontogenesis in domestic cats: Effect of litter size and multiple paternity // *Journal of Experimental Zoology. Part A: Ecological and Integrative Physiology*. V. 335. № 8. P. 637–648.
- Stockley P., Searle J.B., Macdonald D.W., Jones C.S., 1993. Female multiple mating behaviour in the common shrew as a strategy to reduce inbreeding // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. V. 254. № 1341. P. 173–179.
- Stockley P., 2003. Female multiple mating behaviour, early reproductive failure and litter size variation in mammals // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. V. 270. № 1512. P. 271–278.
- Thonhauser K.E., Raveh S., Thoss M., Penn D.J., 2016. Does multiple paternity influence offspring disease resistance? // *Journal of Evolutionary Biology*. V. 9. № 6. P. 1142–1150.
- Tian Y., Zhao H., Xu D., Zhao M., Zhang Q., Zhao Q., Zhang Y., Zhang Q., Hu X., Li Z.-Y., 2018. Wang Effect of Gradually Decreasing Photoperiod on Immune Function in Siberian Hamsters // *Trends Journal of Sciences Research*. V. 3. № 1. P. 1–9.
- Tregenza T., Wedell N., 1998. Benefits of multiple mates in the cricket *Gryllus bimaculatus* // *Evolution*. V. 52. № 6. P. 1726–1730.
- Tregenza T., Wedell N., 2002. Polyandrous females avoid costs of inbreeding // *Nature*. V. 415. № 686. P. 71–73.
- Tregenza T., Wedell N., Hosken D.J., Ward P.I., 2003. Maternal effects on offspring depend on female mating pattern and offspring environment in yellow dung flies // *Evolution*. V. 57. № 2. P. 297–304.
- Waser P.M., De Woody J.A., 2006. Multiple paternity in a philopatric rodent: the interaction of competition and choice // *Behavioral Ecology*. V. 17. № 6. P. 971–978.
- Weigensberg I., Carrie're Y., Roff D.A., 1998. Effects of male genetic contribution and paternal investment to egg and hatchling size in the cricket *Gryllus firmus* // *Journal of Evolutionary Biology*. V. 11. № 2. P. 135–146.

- Williams G.C.*, 1975. Sex and Evolution. New Jersey: Princeton University Press. 202 p.
- Wolff J.O., Macdonald D.W.*, 2004. Promiscuous females protect their offspring // Trends in Ecology & Evolution. V. 19. № 3. P. 127–134.
- Yasui Y.*, 2001. Female multiple mating as a genetic bet-hedging strategy when mate choice criteria are unreliable // Ecological Research. V. 16. № 4. P. 605–616.
- Yellon S.M., Fagoaga O.R., Nehlsen-Cannarella S.L.*, 1999. Influence of photoperiod on immune cell functions in the male Siberian hamster // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. V. 276. № 1. P. R97–R102.
- Zeh D.W., Zeh J.A.*, 2001. Reproductive mode and the genetic benefits of polyandry // Animal Behaviour. V. 61. № 6. P. 1051–1063.
- Zeh J.A., Zeh D.W.*, 2006. Outbred embryos rescue inbred half-siblings in mixed-paternity broods of live-bearing females // Nature. V. 439. № 7073. P. 201–203.

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF MULTIPLE PATERNITY ON THE IMMUNE STATUS OF SYRIAN HAMSTER (*MESOCRICETUS AURATUS*, CRICETIDAE, RODENTIA) YOUNG

E. V. Potashnikova^{1, *}, E. V. Kuznetsova^{1, **}, N. Yu. Feoktistova^{1, *},
N. A. Vasilieva^{1, ****}, S. I. Meshcherskii^{1, *****}**

¹*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences,
Leninsky Prospect, 33, Moscow, 119071 Russia*

*e-mail: potashnikova.k@gmail.com

**e-mail: kuznetsovaekvl@gmail.com

***e-mail: feoktistovanyu@gmail.com

****e-mail: ninavasilieva@gmail.com

*****e-mail: nervaner6892236@gmail.com

The effect of multiple paternity on the development of the humoral immune response in Syrian hamster pups was studied. The paternity type was found to be determined by 10 microsatellite markers. Pups were immunized with T-dependent antigens (fissurella hemocyanin, KLH) at 33 days of age, with the level of specific antibodies (anti-KLH IgG) measured in blood samples at 5, 10, 20 and 25 days after immunization. As much as 24% pups from multiple paternity litters and 25% from single paternity litters were revealed to develop no immune response. At the same time, in all pups that responded to immunization, the level of anti-KLH IgG significantly increased over time, starting with the 5th day after immunization. However, there were significant differences in the concentration of anti-KLH IgG in the blood serum of pups derived neither from litters with multiple paternity nor litters obtained from one male. Therefore, our results fail to support the hypothesis that multiple paternity enhances the immunity of Syrian hamster pups.

Keywords: humoral immune response, acquired immunity, KLH, multiple paternity, *Mesocricetus auratus*