ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ВОСТОЧНО-СИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»

На правах рукописи

АНДРЕЕВА
Елизавета Сергеевна

ВЛИЯНИЕ ДЫМА ЛЕСНОГО ПОЖАРА НА СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ И НЕРВНОЙ СИСТЕМ У МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

1.5.15. Экология (биологические науки)

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Кандидат биологических наук,
Вокина В.А.

ЯКУТСК, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 4
1.1. Общая характеристика лесных пожаров и масштабы их распространения 12
1.2. Проблема лесных пожаров, как фактор загрязнения атмосферы 16
1.3. Влияние дыма лесных пожаров на сохранение биоразнообразия и состояние живых организмов 21
1.4. Физико-географическая характеристика и анализ динамики горимости лесов исследуемой территории Прибайкальского Национального парка. ... 26
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 33
2.1. Методы химического анализа 35
2.2. Методы оценки функционального состояния центральной нервной системы белых крыс 37
2.3. Методы гистологического исследования головного мозга 38
2.4. Методы морфофункционального состояния репродуктивной системы. 39
2.5. Методы оценки эпигенетических изменений в клетках крови, тканях коры головного мозга, семенников и яичников 41
2.6. Методы статистического анализа 42
ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 44
3.1. Характеристика лесного горячего материала исследуемой территории и описание экспериментальной модели лесного пожара 44
3.2. Характеристика экспериментальной модели лесного пожара 45
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ И НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ БЕЛЫХ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ДЫМА ЛЕСНОГО ПОЖАРА, И ИХ ПОТОМСТВА 57
4.1. Исследование состояния репродуктивной системы белых крыс сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара 57

4.2. Обследование потомства, полученного от белых крыс, сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара. 59
4.3. Исследование состояния центральной нервной системы белых крыс сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара 65
4.4. Обследование белых крыс в отдаленном периоде после воздействия дыма лесного пожара 71
ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЛОВЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ РОДИТЕЛЬСКОГО ПОКОЛЕНИЯ И ИХ РОЛИ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ У ПОТОМСТВА 78
5.1. Исследование уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках нервной ткани, половых клетках и крови белых крыс, сразу после воздействия дыма лесного пожара и в отдаленном периоде после воздействия 78
5.2. Оценка прогностического значения уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови экспонированных дымом животных 80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 86
ВЫВОДЫ 88
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 89
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 91

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В настоящее время в мире и во многих регионах России чрезвычайно актуальной является проблема крупномасштабных лесных пожаров, зачастую принимающих характер природного бедствия и наносящих значительный экологический ущерб природным сообществам (Горчаков, 2018; Oliveira et al., 2020; Holm et al., 2020). При этом, большое значение имеет сохранение биоразнообразия и устойчивости природных комплексов на особо охраняемых территориях, подверженных лесным пожарам. Даже в бореальных лесах Прибайкальского национального парка в последнее десятилетие зафиксировано регулярное возникновение лесных пожаров, при которых максимальная выгоревшая площадь достигает 10% от всей лесистой территории парка (Гос. Доклад «О состоянии озера Байкал и мерах по его охране в 2016 году»; Волчатова, 2019; Korytny and Gagarinova, 2020).

В большинстве исследований оценка влияния лесных пожаров на популяции животных проводится на основании динамики их плотности и анализа пространственного распределения животных, среда обитания и пищевые ресурсы которых были изменены на постпожарных ландшафтах (Дыржинов, Гынинова, 2014; Ревуцкая и др., 2018; Белых, Терентьев, 2019; Федорова и др., 2020; Белых, Садовская, 2021). В то же время влияние пожара как экологического фактора, обусловливающего нарушения формирования и восстановления сообществ позвоночных животных остается недостаточно изученным. Основное направление исследований сосредоточено в большей мере на вреде от огня и не включает оценку влияния дыма, выделяющегося от лесных пожаров. Тогда как нехватка кислорода и воздействие токсичных соединений в составе дыма могут быть критическими факторами для выживания, адаптации и размножения животных как находящихся в непосредственной близости к пожару, так и на удаленных территориях, подверженных задымлению. Как известно, дым от лесных пожаров распространяется на большие расстояния и пересекает географические границы,

затрагивая области, удаленные от первоначального источника (Dennekamp, Abramson, 2011).

При горении лесной биомассы в атмосферный воздух выделяется многокомпонентная смесь нейро-, репро- и генотоксикантов, включающая ультрадисперсные твердые частицы, озон, оксид углерода, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), диоксиды азота и серы, альдегиды, хлорированные диоксины, свободные радикалы и др. (Liu et al., 2016). В дыме содержание твердых частиц $PM_{2,5}$ (диаметром менее 2,5 мкм) гораздо больше и они медленнее оседают из атмосферы, по сравнению с крупными частицами размером менее 10 мкм (PM_{10}).

Известно, что мелкие млекопитающие составляют основу териофауны любой местности и являются важным звеном пищевой цепи. В связи с их высокой плотностью, хорошей изученностью, разнообразием видового состава и быстрыми темпами размножения, они являются «маркерами», которые позволяют изучить состояние сообществ и степень воздействия на них дестабилизирующих факторов (Ильяшенко и др., 2015). Однако изучение репродуктивного потенциала животных в условиях лесных пожаров затруднено и не позволяет оценить потенциальную фертильность особей, поскольку необходимы особые условия для отлова и содержания животных, а также системный анализ их репродукции (морфометрия семенника, успешность спаривания, выживаемость выводка), что возможно только в лабораторном эксперименте. Использование экспериментальных моделей в данном случае открывает широкие возможности для изучения механизмов развития патологии при воздействии продуктов сгорания лесной биомассы.

Таким образом, оценка индуцированных дымом эффектов в дикой природе является важной экологической проблемой, которая может иметь критические последствия на индивидуальном и популяционном уровнях. Все вышесказанное определяет необходимость оценки состояния нервной и репродуктивной систем мелких млекопитающих при воздействии дыма лесных пожаров.

Степень разработанности темы исследования. В современной литературе недостаточно представлены исследования по изучению влияния дыма лесных пожаров на здоровье и поведение диких животных. Немногочисленными исследованиями показано, что в период задымления происходит снижение уровня акустической активности экологических сообществ (Lee et al., 2017; Sanderfoot and Gardner, 2021) и изменение индивидуального и социального поведения, а также нарушение энергетического баланса человекообразных обезьян (Cheyne, 2008; Erb et al., 2018).

Известно, что мелкие млекопитающие в условиях пожара, пребывают в состоянии резко пониженной жизненной активности, что сопровождается оцепенением животных, обеспечивающим сохранение потребления энергии (Stawski et al., 2015; Matthews et al., 2017; Geiser et al., 2018). В конечном итоге совокупность перечисленных факторов может оказать пагубное влияние на физиологию животных, выражающуюся в нарушении способности к воспроизводству и дестабилизации репродуктивного поведения. Следует отметить, что в литературе не представлены исследования репродуктивного потенциала животных после воздействия дыма лесных пожаров. Непосредственное воздействие дыма на развивающийся организм в ранний антенатальный и пренатальный периоды описаны в исследованиях Black (2017) и Willson (2021), в которых указано, что воздействие повышенных уровней $PM_{2,5}$ при лесных пожарах может иметь негативное влияние на исходы беременности у приматов и приводит к значительному снижению общей емкости легких их потомства (Black et al., 2017; Willson et al., 2021).

Отсутствие достаточной информации о последствиях пребывания диких животных в условиях задымления при лесных пожарах обусловлено в первую очередь непредсказуемостью возникновения пожаров, что затрудняет наблюдение за животными до и после воздействия, а также сложностью сбора данных в экстремальных условиях. Контролируемые лабораторные эксперименты с использованием модельных видов животных позволяют оценивать прямые

эффекты поражающих факторов лесных пожаров при одновременном контроле каждого из них.

Таким образом, вышеизложенное, а также недостаточная информация о последствиях экспозиции дымом лесного пожара на репродуктивный потенциал и поведение мелких млекопитающих, свидетельствует об актуальности данной проблемы.

В связи с чем, основной **целью** работы явилось:

Оценить воздействие дыма лесного пожара в условиях экспериментального моделирования на показатели репродуктивной и нервной систем у мелких млекопитающих на примере беспородной белой крысы *Rattus norvegicus*.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи:**

1. Провести оценку качественного и количественного состава продуктов горения биомассы взятой на территории бореальных лесов Прибайкальского Национального парка.

2. Оценить влияние дыма лесного пожара на показатели репродуктивной и нервной систем у подопытных животных сразу после окончания экспозиции и в отдаленном периоде после воздействия.

3. Охарактеризовать поведенческие реакции у потомства подопытных животных, полученного при спаривании сразу после окончания экспозиции дымом лесного пожара и в отдаленном периоде после воздействия.

4. Оценить уровень полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, в тканях коры головного мозга и гонадах животных, подвергавшихся воздействию продуктов горения, и его сопряженность с нарушениями функционального состояния нервной системы у потомства.

Научная новизна. Получены новые научные знания о формировании нарушений репродуктивной и центральной нервной систем у мелких млекопитающих при воздействии дыма, выделяющегося при горении лесной биомассы в условиях экспериментального моделирования, заключающиеся в угнетении сперматогенеза, циклической функции яичников и снижении

выживаемости у потомства. Впервые показаны нарушения поведенческих реакций у потомства белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма лесного пожара, характеризующиеся подавлением двигательной и исследовательской активности на фоне повышенного уровня негативного эмоционального состояния и нарушения показателей пространственной памяти. Выявленное повышение уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови экспонированных животных, что может являться одним из критериев биоиндикации при влиянии дыма лесного пожара на животных. Установлена связь между эпигенетическими модификациями ДНК клеток крови у родительского поколения, экспонированного дымом лесного пожара, и нарушением нейробиологии поведения их потомства.

Теоретическая и практическая значимость результатов. Внесен теоретический вклад в обоснование экологических последствий воздействия дыма лесного пожара на мелких млекопитающих, согласно которым ответная реакция выражается в снижении репродуктивного потенциала животных, а также нарушении функционального состояния нервной системы настоящего и последующего поколений.

Результаты проведенных исследований расширяют представления об обусловленности показателей тревожности и двигательной активности потомства индуцированными дымом лесных пожаров эпигенетическими модификациями ДНК в клетках крови родительского поколения.

Практическая значимость работы заключается в перспективном использовании предложенной экспериментальной модели задымления при горении лесной биомассы для обоснования экологического анализа воздействия дыма на биообъекты (подана заявка на изобретение «Устройство для моделирования интоксикации у мелких лабораторных животных продуктами горения биомассы»). Результаты проведенных исследований, свидетельствующие о гиперметилировании ДНК в клетках крови экспонированных дымом животных,

позволяют рекомендовать данный показатель в качестве критерия биоиндикации при воздействии дыма лесных пожаров.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Репродуктивная функция мелких млекопитающих при воздействии дыма лесного пожара характеризуется угнетением сперматогенеза, изменением циклической функции яичников, снижением выживаемости и нарушением поведения их потомства.

2. Интоксикация дымом лесного пожара вызывает у мелких млекопитающих стойкие нарушения поведения и когнитивных способностей на фоне нейродегенеративных изменений ткани коры головного мозга.

3. Вклад уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови у экспонированного дымом родительского поколения в вариацию показателей поведения их потомства составляет 8–17%.

Методология и методы исследования. Методология исследования состояла в экспериментальном моделировании воздействия дыма, выделяющегося вследствие лесных пожаров, на белых крысах; их обследование и спаривание в раннем и отдалённом периодах после окончания воздействия для получения потомства. Основные методы обследования животных включали в себя гистологическое и морфометрическое исследования половых гонад и головного мозга, определение показателей поведения и когнитивных способностей, а также определение уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, мозга и половых гонадах. С последующей статистической обработкой и интерпретацией.

Степень достоверности и апробация материалов исследования. Степень достоверности результатов определяется достаточным числом экспериментальных животных в группах, формированием контрольных групп, адекватными токсикологическими, патоморфологическими и статистическими методами исследования, длительными сроками наблюдения за животными.

Апробация результатов. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на:

III Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Экология и здоровье населения» (Иркутск-Байкальск, 2018), Международной научной конференции «Современные проблемы биологии, экологии и почвоведения» (Иркутск, 2019), III Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Социально-экологические проблемы Байкальского региона и сопредельных территорий» (Иркутск, 2020), III Международном Молодежном форуме Профессия и Здоровье (Суздаль, 2020), IV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2020), Международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда» (Минск, 2020), Annual multidisciplinary youth academic research conference «Science Present and Future: Research Landscape in the 21st century» (Иркутск, 2021), Международном конкурсе научных работ молодых ученых медико-биологических специальностей, работающих в Сибири и Монголии (Иркутск, 2021).

Личный вклад автора. Автором проведён сбор и анализ научной литературы по вопросам проблемы лесных пожаров и их воздействия на экологические сообщества диких животных. Сформулированы цель и задачи исследования, определены объекты и объём работы, проведено освоение методов исследований для решения поставленных задач. Осуществлён основной эксперимент по воздействию продуктов горения выделяющихся при лесных пожарах на организм мелких млекопитающих. В частности, проведена затравка белых крыс продуктами горения, выполнено обследование родительского поколения и потомства, полученного сразу после воздействия дымом лесных пожаров и в отдаленном периоде, проведена обработка полученных результатов, их обобщение и обсуждение. Также автор самостоятельно произвёл оформление

диссертации, подготовил публикации по теме диссертации. Доля участия автора в получении и накоплении результатов составляет 85%.

Связь работы с научно-исследовательскими темами и программами. Исследования проведены в рамках базовой НИР ФГБНУ ВСИМЭИ «Изучение механизмов метаболических нарушений и их роли в формировании чувствительности к воздействию производственных факторов (НИР030–1, 2018–2020), гранта РФФИ «Оценка вклада эпигенетических изменений, обусловленных воздействием продуктов горения (на экспериментальной модели лесного ландшафтного пожара) в развитии отдаленных последствий у последующих поколений» (№ 18–315–00237, 2018–2019 гг.); Крупного проекта «Фундаментальные основы, методы и технологии цифрового мониторинга и прогнозирования экологической обстановки Байкальской природной территории» (РАН № 2020–1902–01–071, 2020–2022).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК, Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных работ, 2 – в журналах индексируемых в международных базах WOS.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 108 страницах, состоит из введения, обзора литературы, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 22 таблицами, 17 рисунками. Список литературы включает 153 источника, из которых 108 – иностранные.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая характеристика лесных пожаров и масштабы их распространения

В настоящее время хорошо известно, что дым от лесных пожаров оказывает негативное воздействие на функциональные и структурные изменения лесных экосистем, а также приводит к сокращению многих видов диких животных. Ежегодно лесные пожары охватывают огромные территории, достигающие 550 млн. га лесной площади (Cascio, 2018).Согласно данным системы контроля лесных пожаров в Европе (EFFIS) в период 2000-2017 года площадь, пройденная лесными пожарами, составила 8,5 млн. га. (Rigo et al., 2017). В ряде сообщений указывается, что лесопожарная обстановка, зачастую имеющая чрезвычайный характер, значительно возросла в европейских, средиземноморских странах, Австралии и Северной Америке (Fann et al., 2018; Adame et al., 2018; Kondo et al., 2019; O'Neill et al., 2021). С каждым годом увеличиваются регионы наиболее пострадавшие от лесных пожаров, так Португалия, серьезно пострадала от масштабного пожара в 2017 году, в результате которого выгорело более 10 тыс. га леса (Kok, Stoof, 2021). В 2020 году Румыния была признана наиболее пострадавшим регионом от лесных пожаров, где было зарегистрировано 627 лесных пожаров, затронувших более 5 тыс. га леса (Kok, Stoof, 2021).

На территории РФ за период с 2016 по 2019 гг. наблюдалась тенденция роста площади лесных пожаров. Следует отметить, что в 2020 году снизился рост площади лесных пожаров, однако общее количество лесных пожаров продолжает расти. Так по данным официальной статистики, на территории лесного фонда РФ за период с 2016 по 2020 гг. зарегистрировано 59,248 единиц лесных пожаров (в среднем 11,850 ед. в год) (Гос.докдад…, 2020).

Согласно российским и зарубежным данным спутникового мониторинга площадей лесных пожаров, в период с 2001 по 2016 гг. средняя площадь пожаров в РФ составляла около 10 млн. га в год, в периоды аномальной горимости лесов данный показатель достигал 16–18 млн. га (Лупян и др., 2017) Анализ тенденций динамики лесопожарной обстановки на территории России в 2009–2020 годы выявил увеличение числа пожаров, которые достигают экстремально больших площадей (20 тыс. га и более). (Пономарев, Швецов, 2015).

В бореальных лесах Сибири ежегодно наблюдаются лесные пожары, которые затрагивают огромные территории, вследствие чего исчезают многие виды растений и животных. В 2019 году в Восточной Сибири были зафиксированы масштабные лесные пожары за последние 20 лет (Спутниковый…, 2019). Основные очаги были расположены в Красноярском крае, Иркутской области и Республике Саха (Якутия), вследствие чего было уничтожено около 5 млн. га леса (Федеральное…, 2019). Шлейф дыма достигал Западной Сибири, Казахстана и Арктики, но, несмотря на регулярное возникновение масштабных лесных пожаров и их разрушительное воздействие в Сибири, научные публикации по исследованиям и оценкам их выбросов крайне малочисленны и недостаточны (Мониторинг…, 2019). Самыми крупными в мире за 2021 год являлись лесные пожары в Якутии, когда площадь пожаров достигла 8,7 миллиона гектаров, побив рекорды с начала XXI века. При этом, дым от пожаров дошел до Урала, Хакасии, Ямала, Забайкальского края, Иркутской области, Югры, Сахалина и других субъектов Российской Федерации, а также до северо-востока Казахстана, Аляски.

В зависимости от характера возгорания, скорости распространения и состава лесной растительности выделяют низовые, верховые и подземные пожары. Подземные (почвенные, торфяные) пожары в лесу чаще всего связаны с распространением огня в торфяном слое лесных почв. При этом в условиях беспламенного горения происходит термодеструкция гумуса, торфа, сгорают находящиеся в нем корни древесных пород. Горение происходит медленно, почти

без доступа воздуха, с выделением большого количества дыма и образованием выгоревших пустот (прогаров). Количество подземных пожаров в РФ варьирует от 0,5% до 1% от общего числа возгораний, при этом пройденная огнем площадь не превышает 1% площади всех лесных пожаров (Исаев и др., 1995; Исаев и др., 2005; Залесов, 2011).

Развитие верховых пожаров, как правило, происходит из низовых, и характеризуется горением крон деревьев. При устойчивом верховом пожаре огнем охвачены не только кроны, но и стволы деревьев, сгорает подстилка, живой напочвенный покров, валежник, сухостой, подрост и подлесок. Следствием таких пожаров являются резкие изменения микроклимата, гидрологических и почвенных условий, что, в свою очередь, происходит к смене фитоценозов. Верховые пожары в РФ составляют примерно 1,5–2% от общего количества лесных пожаров, при этом происходит поглощение значительное количество биомассы и образуются длинные шлейфы дыма темного цвета, способного распространяться на большие расстояния от первоначального источника (Sapkota et al., 2005).

В лесах РФ наиболее распространены низовые пожары, составляющие 98% от общего числа возгораний и более 88% пройденной огнем лесной площади. При низовых пожарах распространение огня осуществляется по напочвенному покрову, при этом горит лесная подстилка, лесной опад, состоящий из опавших веток, коры, хвои, листьев; живой напочвенный покров из травы, мхов и лишайников; подлесок, валежник, пни и другие горючие материалы, находящиеся на поверхности почвы без захвата крон деревьев. Кроме того низовые пожары высокой интенсивности приводят к значительному нарушению ландшафта (Collins, Stephens, 2010) и выраженной гомогенизации среды обитания, что существенно снижает биоразнообразие на данной территории (Hessburg et al., 2016; Shive et al., 2018; Steel et al., 2018).

Для оценки масштабов воздействия лесных пожаров на состояние и биологическое разнообразие лесных экосистем, как в России, так и за рубежом

используется комплексная оценка пройденной огнем площади лесов и размеров прямых пирогенных эмиссий. При этом главной пирологической характеристикой надпочвенных покровов является оценка запасов лесных горючих материалов (ЛГМ) или растительных горючих материалов (РГМ) если речь идет о нелесных участках (болота, луга, степи, тундра). В России в основе всех методик составления современных карт РГМ лежит классификация Н.П. Курбатского, предусматривающая разделение всех РГМ на 3 класса в зависимости от того, какое горение они дают – пламенное или беспламенное, в которой учитывается распределение различных РГМ в пространстве лесного биогеоценоза, а также их роль в возникновении, распространении и развитии лесного пожара. Существует американская классификация лесных горючих материалов (Deeming et al., 1972), согласно которой ЛГМ разделяются на живые и мертвые (усохшие) травянистые растения. К живым горючим материалам относятся травянистые и древесные хвоя, листва и побеги толщиной до 6 мм. Мертвые горючие материалы делятся на три класса по времени восстановления их влажности (*timelag*). Комплекс из мертвых горючих материалов первого класса и живых травянистых растений называется мелким горючим материалом (*Finefuels*).

Лесной пожар представляет собой неконтролируемое горение, которое сопровождается реакцией, проходящей под воздействием высокой температуры, кислорода воздуха и горючих материалов. При различных типах и интенсивностях горения доля сгоревшего ЛГМ зависит от степени сгорания верхнего полога, древесно-кустарникового яруса, надпочвенного покрова и лесной подстилки. Следует отметить, что химические соединения, обнаруженные в составе дыма от конкретного лесного пожара, определяются многими, часто уникальными факторами, такими как тип сгоревшей растительности и погодные условия (Urbanski et al., 2013). В зависимости от типа сгораемого субстрата (зеленая или сухая растительность, твердая и мягкая древесина) и климатических условий существенно варьирует качественный и количественный состав дыма лесного пожара, разные стадии горения (открытое пламя или тление) также дают

разные химические профили (Battye, Battye, 2002; Fine et al., 2001; Urbanski et al., 2009; Zhang et al., 2013). В связи с этим, химический состав дыма от естественных или случайных лесных пожаров в сухой сезон, может существенно отличаться от предписанных (контролируемых) пожаров, производимых пожарными в сезон дождей (Urbanski et al., 2013; Zhang et al., 2013). Лесные пожары также имеют длительную фазу тления, поскольку стратегии сдерживания лесных пожаров сосредоточены на тушении фазы пламенного горения, в то время как фаза тления остается догорать, иногда в течение нескольких месяцев после того, как пожар считается локализованным (Graham et al., 2004). Фаза тления при сжигании древесины связана с более высоким выходом твердых частиц и может составлять большую часть общих выбросов загрязняющих веществ в атмосферу при лесных пожарах(Radke et al., 1991; Tian et al., 2008; Urbanski et al., 2013).

1.2. Проблема лесных пожаров, как фактор загрязнения атмосферы

Одним из главных негативных экологических последствий лесных пожаров является сильное загрязнение атмосферного воздуха, сопровождающееся продолжительным воздействием токсичных продуктов горения, влияющих на основные компоненты лесных экосистем, их биоразнообразие и функции (Гераськина и др., 2021; Гонгальский и др., 2020). Основными компонентами в эмиссии при горении лесной биомассы являются органический углерод, а также газы, включая диоксид углерода, монооксид углерода, оксиды азота и серы, летучие органические соединения (такие как формальдегид и бензол), а также твердые частицы диаметром <10 мкм (Wohlsein et al., 2016). Присутствующие в составе дыма лесных пожаров нейро-, репро- и генотоксичные соединения оказывают негативные последствия на здоровье животных, влияя на многие системы организма (Cope, 2020).

Дым от лесных пожаров является основным источником загрязнения атмосферного воздуха твердыми частицами (Black, 2017; Dennekamp, Abramson, 2011). Многочисленными исследованиями доказано, что количество мелких ($PM_{2,5}$ – диаметром менее 2,5 мкм) и ультрадисперсных ($PM_{0,1}$ – диаметром менее

0,1 мкм) частиц в условиях задымленности от лесных пожаров пропорционально больше по сравнению с крупными частицами, определяемыми как частицы размером менее 10 мкм (PM_{10}) (Radke et al., 1991; Blake et al., 2009; Makkonen et al., 2010; Losacco, Perillo et al., 2018).

Ультрадисперсные частицы составляют значительную долю частиц, образующихся в результате лесных пожаров, хотя средний размер частиц дыма зависит от интенсивности пожара, типа РГМ и вида горения (тление или пламенное горение) (Reid et al., 2005). Твердые частицы, образующиеся при лесных пожарах, состоят из множества микроскопических аэрозольных материалов, включая пыль, золу, сажу и оксиды металлов (Monroe et al., 1999). В работе Verma с соавторами (2009) показано, что твердые частицы, собранные во время реальных лесных пожаров в Калифорнии в 2007 году, обладают более высоким окислительным потенциалом, чем частицы из городской окружающей среды этого же района после пожара, из-за присутствия в них большего количества полярных органических соединений (Verma et al., 2009). Результаты исследований Karthikeyan с соавторами (2006) и Williams с соавторами (2013) также свидетельствуют о том, что частицы от лесных пожаров могут генерировать больше свободных радикалов и, соответственно, вызывать более выраженный окислительный стресс в легких, чем твердые частицы городской окружающей среды из того же региона (Karthikeyan et al., 2006; Williams et al., 2013).

В ситуациях с лесными пожарами в Колорадо 2012 года, Калифорнии 2003, 2008, 2017 годов, которые непрерывно продолжались в течение нескольких недель и даже месяцев и затрагивали обширную территорию, стало возможным сформировать базу данных по широко варьирующим концентрациям $PM_{2,5}$. В исследовании He с соавторами (2016) показано, что во время стихийных пожаров в Австралии уровни твердых частиц в воздухе в 10 раз превышали допустимые пределы ВОЗ (He et al., 2016). Artaxo и Yamasoe (1994) количественно оценили уровни PM_{10} во время сезона сжигания биомассы в бассейне Амазонки, и

обнаружили, что концентрации достигали 0,15–0,7 мг/м^3, что значительно превышает фоновые концентрации PM_{10}, составлявшие 0,01 мг/м^3 (Artaxo, Yamasoe, 1994). В последние два десятилетия в Калифорнии произошло несколько разрушительных лесных пожаров, которые оказали отрицательное воздействие ~~сказывается~~ на качество атмосферного воздуха (Reisen et al., 2015). Так, в результате пожаров в Южной Калифорнии в 2003 году, уровни PM_{10} увеличились в 3–4 раза, причем в одном из регионов данный показатель достигал 0,21 мг/м^3 (Phuleria et al., 2003). В 2008 году во время лесных пожаров в долине реки Сакраменто (Калифорния, США) значения $PM_{2,5}$ достигали 0,26 мг/м^3 (Wegesser et al., 2009). Лесные пожары в северной Калифорнии в 2017 году привели к повышению концентрации $PM_{2,5}$ в атмосферном воздухе до 0,19 мг/м^3. Данные показатели загрязнения воздуха твердыми частицами значительно превышали национальные стандарты качества атмосферного воздуха принятыми ВОЗ по $PM_{2,5}$ (0,015 мг/м^3) и PM_{10} (0,045мг/м^3).

Большинство данных по исследованию загрязнения атмосферного воздуха, полученных при оценке последствий лесных пожаров в Индонезии, позволили предположить, что содержание в атмосферном воздухе твердых частиц $PM_{2,5}$ и PM_{10} было повышено до гораздо более опасных уровней, чем газообразных соединений (Kunii et al., 2002; Pinto and Grant, 1999). В связи с этим в дальнейшем значительная часть клинических и экспериментальных работ была сфокусирована на последствиях токсического воздействия именно твердых частиц ($PM_{2,5}$ и PM_{10}), в то время как роль газообразных соединений рассматривалась значительно реже. Известно, что мелкие и ультрамелкие твердые частицы медленнее оседают из атмосферы, чем крупные, поэтому могут распространяться на тысячи километров от источника задымления, тем самым создавая опасные условия качества воздуха на больших географических территориях (Losacco, Perillo, 2018). Действительно, Sapkota с соавторами (2005) исследовали процесс переноса загрязняющих веществ на большие расстояния от лесных пожаров в Квебеке (Канада) и, в частности, $PM_{2,5}$, и продемонстрировали, что качество воздуха было изменено на

расстоянии более чем тысячи километров от источника задымления (Sapcota et al., 2005). В результате этого дым от одного лесного пожара может повлиять на здоровье и поведение, а также на демографию популяций диких животных в гораздо большем пространственном масштабе, чем площадь пожара.

Как было отмечено ранее, ежегодно в бореальных лесах Сибири наблюдаются лесные пожары, вследствие чего происходит перенос и накопление аэрозольно-газовых примесей в акватории озера Байкал (Заяханов и др., 2019; Ходжер и др., 2021). Известно, что атмосфера над озером Байкал занимает огромную территорию (31 500 км^2) и по-прежнему является малоизученным объектом. Выбросы загрязняющих веществ от лесных пожаров, являются важными источниками загрязнения атмосферы Байкальского региона, число которых увеличивается в результате изменения климата (Изместьева и др., 2016; Швиденко, Щепащенко, 2013; Семенов и др., 2017; Заяханов и др., 2018). Известно, что после попадания в верхние слои тропосферы дым от лесных пожаров может распространяться на большие расстояния от Сибири до Арктического бассейна (Fisher et al., 2011; Qi et al., 2017; Sharma et al., 2013; Stohl, 2006). Большинство исследователей сходятся во мнении о не достаточной информации характера влияния дымовых аэрозолей на флору и фауну, что определяет необходимость их дальнейшего изучения. В настоящий момент экспериментальные исследования количественного и качественного состава аэрозольных примесей являются нерегулярными и ограничиваются исследованиями с участием научных коллективов Сибирского отделения РАН (Институт физических материалов, Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева, Лимнологический институт), которые проводятся в летних экспедициях. Так в работе Ходжер с соавт. (2019), было проведено исследование газовых примесей в приводном слое озера Байкал в июле 2018 года во время лесных пожаров в Сибири. По результатам проведенного исследования были установлены высокие концентрации газовых примесей в приземном слое атмосфере озера Байкал, дельты реки Селенги, Баргузинского залива, бухты Песчаная. Авторы отмечали

резкое повышение концентрации диоксида серы (SO_2) до 0,04 мг/м^3 и диоксида азота (NO_2) до 0,03 мг/м^3. Максимальные значения SO_2 наблюдались во время стоянки в бухте Песчаная и составили 0,06 мг/м^3 (Ходжер и др., 2019; Заяханов и др., 2015). В исследовании Жамсуевой и соавт. (2021), проведенном на исследовательском судне во время бореальных лесных пожаров в Сибири летом 2019 года был проведен анализ и оценка загрязнения атмосферы над озером Байкал (Жамсуева и др., 2021). По данным спутниковых наблюдений MODIS, дым от лесных пожаров с 13 июля и 7 августа 2019 года распространился по всей акватории и побережью озера Байкал. Авторы отмечали резкое увеличение содержания SO_2 до 0,032 мг/м^3 вблизи мыса Мужинай, что связано с лесными пожарами в районе бухты Сосновка на северо-восточном побережье озера Байкал. Самые высокие концентрации SO_2 наблюдались вблизи бухты Сосновка из-за близости лесных пожаров, и составили до 0,047 мкг/м^3. Концентрации NO находились ниже предела обнаружения, авторы связывают это с тем, что дым может полностью поглощать NOx (Martin et al., 2003). В 2020 году были продолжены экспериментальные исследования Жамсуевой с соавт. (2022), где был проведен анализ дисперсного состава аэрозолей и газовых примесей во время маршрутных судовых измерений в акватории озера Байкал (Жамсуева и др., 2022). Авторы отмечают, что, в отличие от прошлых лет, в период экспедиционных исследований в 2020 году лесных пожаров в самом Байкальском регионе не наблюдалось (Ходжер и др., 2021). Основные очаги лесных пожаров были сосредоточены в северных районах Иркутской области и Якутии. С появлением дымовых шлейфов на Северном Байкале пришедших из центра интенсивных лесных пожаров (Спутниковый…, 2021) было резкое увеличение концентрации субмикронного аэрозоля от 60 частиц/см^3 до 300 частиц/см^3 , и оставался на высоком уровне, в то время как высокодисперсные частицы оставались в среднем на уровне 1000 частиц/см^3. Кроме того во время появления дымовых шлейфов наблюдались высокие концентрации SO_2 до 0,018 мг/м^3. С уменьшением влияния дымовых выбросов вдоль маршрута судна было отмечено

значительное снижение концентрации субмикронного аэрозоля с 200 до 20 частиц/см^3.

Несомненно, лесные пожары действуют как биокатализатор необходимых изменений в окружающей среде, вызывая обновление химического состава почвы и воздуха и повторное использование доступных питательных веществ (Oliveira et al., 2020). Пожары уничтожают низкорослый подлесок, очищают лесную подстилку от мусора, питают почву, а также играют решающую роль в создании высококачественной среды обитания для некоторых видов диких животных. Однако в последние годы лесные пожары приобрели настолько масштабный размах, что вызвали глобальные изменения в структурно-функциональных процессах лесных экосистем и животного мира. Многие биологи рассматривают лесные пожары как губительный для биоты фактор, после воздействия которого требуется длительное восстановление (Гераськина и др., 2021). Если во время лесного пожара сохраняются участки земной поверхности, где отдельные виды пережили неблагоприятный для них период, это не означает, что выживают целые популяции (Гонгальский, 2014). Вследствие этого разрушается длительно складывавшееся биоразнообразие, сокращаются популяции животных надземной и подземной биоты, в экосистеме начинается самый ранний этап развития восстановительной сукцессии (демутации), а при частом возникновении лесных пожаров, это приводит к ухудшению состояния экосистем, биотических сообществ и как следствие ограничению видового разнообразия.

1.3. Влияние дыма лесных пожаров на сохранение биоразнообразия и состояние живых организмов

Современные эпидемиологические и токсикологические данные свидетельствуют о негативном воздействии дыма лесных пожаров на здоровье человека (Jaffe et al., 2020; Cascio, 2018; Johnson, Garcia-Menendez, 2021). Однако в отечественной и зарубежной литературе представлены лишь некоторые данные о влияния дыма лесных пожаров на здоровье и поведение диких животных (Cheyne, 2008; Lee et al., 2017; Sanderfoot, Holloway, 2017; Erb et al., 2018). Так в

исследовании Lee et al., (2017), посвященном изучению биоразнообразия во время пожаров в лесах и торфяниках Индонезии 2015 году показано, что уровни акустической активности экологического сообщества резко упали во время задымления. Авторы связывают наблюдаемый эффект с уровнем загрязнения воздуха по показателям средних концентраций шести распространенных загрязнителей воздуха: $PM_{2,5}$, PM_{10}, SO_2, CO, O_3 и NO_2 (Lee et al., 2017). Немногочисленные исследования поведенческих реакций определенных видов животных в период задымления в основном сосредоточены на изучении приматов и птиц, являющихся видами-индикаторами, здоровье и поведение которых напрямую зависит от качества окружающей среды (Erb et al., 2018; Brown et al., 1997). Erb et al., (2018) и Cheyne (2008) при исследовании последствий масштабных пожаров на острове Калимантан в 2006 и 2015 годах показали, что дым от лесных пожаров отрицательно влияет на активность, социальное поведение и энергетический баланс человекообразных обезьян. Так в исследовании, проведенном Erb et al (2018), была установлена активность Борнейских орангутангов (*Pongo pygmaeus wurmbii*) до, во время и после задымления от лесных пожаров. Исследователи установили, что у орангутангов была снижена двигательная активность как во время, так и после задымления, а также было увеличено потребление пищи. Несмотря на это, орангутанги сжигали больше калорий, чем потребляли после длительного воздействия дыма, что свидетельствует о том, что вдыхание дыма негативно влияет на их энергетический баланс. Авторы считают, что это могло быть вызвано стрессом или усиленным иммунным ответом (Erb et al., 2018). В исследовании Cheyne (2008) было установлено, что дым от лесных пожаров может влиять на вокализацию животных. Так, исследование певческого поведения белобородых гиббонов Борнео (*Hylobates albibarbis*) показало, что в период задымления было снижено как количество, так и продолжительность пения гиббонов (Cheyne, 2008). В работе Sanderfoot с соавторами (2021) выявлена взаимосвязь между концентрациями $PM_{2,5}$ в окружающей среде во время продолжительного периода

задымления вследствие лесных пожаров и обнаружением многих видов птиц (Sanderfoot и Beth, 2021). Авторы связывают полученные результаты с поведенческими реакциями птиц на загрязнение воздуха, которые могут свидетельствовать о нарушении их здоровья. Yang et al., (2021) во время сильного задымления, вызванного лесными пожарами на западе США в августе 2020 года, обнаружили, что дым от лесных пожаров способствовал массовой гибели птиц. По мнению авторов, выбросы твердых частиц и летучих органических соединений вследствие лесных пожаров приводят к утрате мест обитания и представляют серьезную угрозу для дикой природы, особенно для видов птиц, дыхательная система которых чувствительна к загрязнению воздуха. Авторы подчеркивают важное влияние стихийных бедствий, связанных с лесными пожарами на выживание и миграцию птиц, что может дать важную информацию о биоразнообразии птиц, сохранении и устойчивости экосистем (Yang et al., 2021).

Таким образом, изменение поведения диких животных в период задымления от лесных пожаров может быть опосредовано как изменением окружающей среды (нарушение видимости), так и действием факторов стресса и токсичных соединений в составе дыма.

Следует отметить, что негативные последствия для здоровья, связанные с вдыханием дыма от лесных пожаров, могут повлиять на репродуктивный потенциал популяций диких животных. Однако в литературе такие исследования не представлены, описаны лишь эксперименты, в которых животные намеренно подвергались воздействию дыма или составляющих дыма в контролируемой среде («контролируемое воздействие»). Непосредственное воздействие дыма на развивающийся организм в ранний антенатальный и пренатальный периоды описаны в исследованиях Black et al., (2017) и Willson et al., (2021).Так, в исследованиях Black с соавторами (2017) указано, что воздействие дыма от лесных пожаров, произошедших в Северной Калифорнии летом 2008 года, привело к значительному снижению общей емкости легких у макак-резус обследованных в раннем возрасте. Авторы отмечают, что изменения,

произошедшие у животных имеют половые различия, которые зависят от возраста (Black et al., 2017; Willson et al., 2021).Так у самцов функция легких ниже, чем у самок в постнатальный период, но увеличивается по сравнению с самками в подростковом возрасте (Carey et al., 2007). Данные о влиянии воздействия дыма от лесных пожаров в Калифорнии на фертильность, время родов и исходы беременности макак-резус (*Macacamulatta*), представлены в исследовании Willson с соавторами (2021), результаты которого свидетельствуют о том, что воздействие повышенных уровней $PM_{2,5}$ при лесных пожарах на ранних сроках беременности, может иметь негативное влияние на исходы беременности у приматов. В работах Anderson et al (2020) и Eid et al (2021), установлена связь между повышенными концентрациями $PM_{2.5}$ вследствие воздействия дыма от лесных пожаров и увеличением смертности у молочных коров, особенно телят (Anderson et al., 2020; Eid et al., 2021).

Также в нескольких исследованиях было оценено воздействие дыма на виды животных, которые используют определенные места обитания во время предписанных (контролируемых) пожаров. Известно, что предписанные пожары могут имитировать естественные пожары, позволяя снизить пожарную опасность в лесах и тем самым предупредить возникновение новых очагов возгораний. Однако контролируемый пожар может также оказать негативное влияние на экологические сообщества. Так, при сжигании больших площадей выделяется дым и твердые частицы, которые ухудшают качество воздуха, а вследствие этого снижение популяций некоторых видов животных (Контролируемые…,2021). Thompson и Purcell (2016) провели исследование по воздействию дыма во время предписанных лесных пожаров на репродуктивный потенциал пека́на – хищного млекопитающего семейства куньих (*Pekania pennanti*), обитающего в Северной Америке. В период с 2012 по 2014 год авторы измеряли качество воздуха в отверстиях, которые пеканы могли использовать как укрытие во время задымления. Авторы установили, что уровни CO во время задымления могут не оказывать негативного воздействия на взрослых животных, тогда как опасны для

эмбрионального развития плода и новорожденных млекопитающих (Thompson и Purcell, 2016). Dickinson et al (2010) использовали данные о качестве воздуха, собранные во время предписанных лесных пожаров, для того чтобы установить, угрожает ли воздействие дыма летучим мышам Индианы (*Myotis sodalis*), находящимся под угрозой исчезновения. Они определили, что концентрации CO во время задымления, не превышающие пороговых значений, не оказывают воздействия на животных, однако, летучие мыши, гнездящиеся в листве или под корой, могут быть более уязвимы воздействию дыма во время пожаров, чем летучие мыши, которые гнездятся в полостях или щелях, где концентрации загрязняющих веществ ниже (Dickinson et al., 2010).

Дым от лесных пожаров также может оказывать влияние на продуктивность растений, в зависимости от степени выброса концентраций загрязняющих веществ в окружающую среду (Hemes et al., 2020). Кроме этого, загрязняющие вещества, содержащиеся в дыме, могут оседать на почвах или растительности, что может повлиять на дикую природу, так как растения могут поглощать токсичные вещества, находящиеся в составе дыма, которые, могут поставить под угрозу здоровье травоядных животных (Phaneuf et al., 1995; Tan et al., 2018).

Дым от лесных пожаров также оказывает воздействие на водные среды обитания (Jaafar и Loh, 2014). Так было показано, что воздействие дыма от лесных пожаров может ограничить проникновение солнечного света в воду и тем самым повлиять на вертикальное распределение микроорганизмов (Urmy et al., 2016), снизить качество воды (Corbin, 2012), а также изменить поведенческие реакции рыб (Gonino et al., 2019).

Научные исследования о влиянии дыма природных пожаров в литературе представлены двумя подходами:

1. Эксперименты, в которых животные намеренно подвергались воздействию дыма или составляющих дыма в контролируемой среде («контролируемое воздействие»).

2. Оппортунистический мониторинг свободно живущих животных или животных в неволе во время задымления от лесных пожаров («воздействие на месте»).

К настоящему времени накоплены многочисленные данные о влиянии дыма лесных пожаров, которые сосредоточены на вреде от огня и не включает оценку влияния дыма, выделяющегося от лесных пожаров на здоровье и поведение диких животных. Этот недостаток исследований объясняется в первую очередь непредсказуемостью возникновения пожаров, что затрудняет наблюдение за животными до и после воздействия, а также сложностью сбора данных в экстремальных условиях. Таким образом, контролируемые лабораторные эксперименты с модельными видами позволяют оценивать прямые эффекты поражающих факторов лесных пожаров при одновременном контроле каждого из них.

1.4. Физико-географическая характеристика и анализ динамики горимости лесов исследуемой территории Прибайкальского Национального парка

Прибайкальский Национальный парк (ПНП) является особо охраняемой природной территорией федерального значения, в 1996 г. В составе участка «Озеро Байкал» он был включен в список Всемирного Природного Наследия ЮНЕСКО. Парк расположен в Иркутском, Ольхонском и Слюдянском районах Иркутской области, на юго-западном побережье Байкала.

Площадь парка составляет 417 297 га, при этом территория парка в виде узкой полосы охватывает большую часть (около 470 км) западного побережья оз. Байкал – от пос. Култук на юге до мыса Кочериковского на севере – это самый протяжённый национальный парк в России. Парк занимает восточные склоны Приморского хребта, южную часть Олхинского плато, бассейн р. Большая Речка, а также о. Ольхон. Южная часть рассечена вытекающей из Байкала р. Ангарой.

Рисунок – 1
https://baikal-1.ru/wp-content/uploads/2018/03/180328-00-2-reserve-border.jpg

Территория парка лежит в пределах Южно- и Средне-Байкальского климатических округов, которые характеризуются смягченной континентальностью и специфическим сочетанием режимов температур и увлажнения. Климат парка в целом резко континентальный, но в значительной степени подвержен влиянию Байкала. Огромные запасы воды озера зимой оказывают на прилегающие слои воздуха отепляющее, а летом – охлаждающее действие. Продолжительность периода с температурами выше +10˚С составляет 60–70 дней – с конца июня до начала сентября, в отдельных районах до 80–90 дней. Безморозный период, как правило, длится со второй половины мая до конца сентября. При этом климатические условия территории бассейна оз. Байкал крайне неоднородны. Зимой на некоторых участках побережья, защищенных от северо-западных ветров, наблюдаются самые высокие в Прибайкалье температуры воздуха, а бухта Песчаная считается самым теплым местом во всей

Восточной Сибири (среднегодовая температура воздуха +0,4˚С). Средние температуры воздуха зимой составляют -16…-20˚С; летом +12…+14˚С. Абсолютный минимум температур отмечен на о. Ольхон (Хужир): -46˚С, максимальная температура воздуха, зафиксированная в прибрежной части парка: +32˚С. Среднегодовая температура в ПНП близка к 0˚С, при этом средняя температура января – до – 18˚С, июля – до + 15˚С.

Летом массы холодной байкальской воды ослабляют восходящие потоки воздуха, что приводит к уменьшению облачности. В результате, на побережье преобладает ясная с переменной облачностью погода. Годовая сумма летних осадков в южной части парка 500–600 мм, минимальная в Приольхонье и на Ольхоне – 150–200 мм. Над озером до замерзания против устьев долин и падей непрерывно удерживаются туманы, переходящие в низкую облачность. Летние туманы очень густы и могут удерживаться до нескольких дней.

Для территории парка характерны наиболее высокие в Прибайкалье показатели солнечной радиации. В холодный период года здесь господствует обширный сибирский антициклон (Прибайкальский…,2021).

Особенности теплового и водного баланса, а также ветрового режима, имеют ярко выраженную зависимость от особенностей ландшафтной структуры. Так, в южной части парка циклоническая циркуляция воздушных масс обусловлена низкогорным рельефом Олхинского плато и характеризуется режимом влажного лета и снежной зимы. Наоборот, к северу от Ангары, и наиболее выражено – в Приольхонье, господствует режим дождевой тени, связанный с вдольбереговым положением Приморского хребта и преобладающим северо-западным воздушным переносом. Здесь наблюдается сухое лето и малоснежная зима, что составляет резкий контраст с расположенными на западных склонах этого же хребта верховьями рек бассейнов Лены и Ангары.

К особенности байкальской котловины относятся ветры, многообразие которых нашло свое отражение в огромном количестве местных названий. В

весенне-зимний период преобладают северо-западные ветра, летом часты также северо-восточные и юго-западные (Климат…, 2021).

Главной особенностью рельефа Прибайкальского Национального парка является преобладание отрицательных форм, представленных реликтовыми образованиями, - древними впадинами, не прекратившими своего тектонического развития до настоящего времени. Рельеф парка отличается сильной расчлененностью при относительно небольших (в пределах 900 м) колебаниях абсолютных высот. Преобладают горные перегнойно-подзолистые почвы, распространены также горные перегнойно-карбонатные и подзолисто болотные почвы.

Ландшафты парка разнообразны и живописны: это горные каменистые степи Приольхонья, населенные растениями-реликтами, песчаные дюны, соленые тажеранские озера, темнохвойные кедрово-пихтовые леса, тундра и галечные пляжи на побережьях. Территория парка принадлежит в основном к группе районов с господством умеренно-влажных горнотаежно-лесостепных светлохвойных и смешанных лесов. В лесных насаждениях преобладают хвойные породы 73%, среди которых доминирует сосна (*Pinus sylvestris*, 51,4%), значительную долю составляет также лиственница (*Larix sibirica*, 11,7%) и кедр (*Pinus sibirica*, 7,9%). Лиственные породы составляют 26% насаждений, в том числе береза (*Betula sp.*) – 18,1%, осина (*Populus tremula*) – 8,2%. Кустарниками занят 1% насаждений, в основном это кедровый стланик (*Pinus pumila*). Список редких и охраняемых видов растений национального парка включает 76 видов растений.

Прибайкальский национальный парк сохраняет уникальный растительный и животный мир, крупнейшее в Иркутской области собрание редких и исчезающих видов флоры и фауны.

Среди всех субъектов Российской Федерации территория Иркутской области имеет самую высокую лесистость (78%) (Госдоклад…, 2018; Воронова О. С. и др., 2020). Особо охраняемые природные территории федерального значения

занимают в Иркутской области 1844,858 тыс. га, или 2,38% ее площади, и представлены пятью объектами, два из которых находятся в центральной экологической зоне Байкальской природной территории – это Байкало-Ленский заповедник и Прибайкальский национальный парк. При этом особенностью лесного фонда Иркутской области является преобладание пожароопасных хвойных насаждений. На современном этапе одной из главных проблем этих территорий является ухудшение экологической обстановки за счет лесных пожаров, спровоцированных изменением метеорологических условий. Сильный ветер, высокие температуры воздуха, длительное отсутствие осадков способствуют возникновению очагов возгораний и быстрому распространению огня.

Анализ динамики горимости лесов, находящихся на территории Прибайкальского национального парка и Байкало-Ленского заповедника показал, что максимальная площадь, пройденная пожарами, пришлась на 2015 г., когда в условиях чрезвычайной засухи и гроз выгорели 10% лесистой территории Прибайкальского национального парка и 15% Байкало-Ленского заповедника (табл. 1). Наиболее пострадали леса Байкало-Ленского заповедника и прилегающего к нему Онгуренского лесничества Прибайкальского национального парка в связи с их удаленностью и труднодоступностью, тушение нескольких пожаров продолжалось в течение 1 месяца.

Больше половины всех пожаров, зарегистрированных на территории Прибайкальского национального парка (57%) в последние годы, приходится на лесничества Иркутского района (Листвянское, Прибайкальское, Большереченское), 30% - на лесничества Ольхонского района (Онгуренское, Береговое, Островное, Еланцинское), 13% - на лесничества Слюдянского района (Половинское, Маритуйское, Байкальское) (Летопись…, 2018-2022). По числу пожаров выделяется Островное лесничество, расположенное в пределах излюбленного места отдыха туристов - о. Ольхон. Дополнительным фактором уязвимости лесов на данной территории является преобладание сосняков,

слабоустойчивых к пирогенному фактору из-за сухих местообитаний с легко возгораемым напочвенным покровом и высокой горимости доминирующего вида в биоценозе.

Таблица 1 – Количество зарегистрированных пожаров на территории Прибайкальского национального парка и Байкало-Ленского заповедника в период с 2015 по 2020 годы

Годы	Прибайкальский национальный парк		Байкало-Ленский заповедник	
	Площадь, га	Количество, шт	Площадь, га	Количество, шт
2015	34 423,83	38	92 080	14
2016	150	9	6398	15
2017	610,1	7	13 408,57	16
2018	21,72	7	0	0
2019	1 313,4	8	2 017,9	16
2020	126,5	7	40,02	2

Распределение лесных пожаров по видам в пожароопасном сезоне на данной территории в официальной статистике не представлено, однако опираясь на данные по всему региону в соответствующий период (табл. 2) можно сделать о том, что в среднем низовыми пожарами разной степени интенсивности пройдено 533 325 га, или 86,9%, верховыми пожарами 32 134 га площади, или 11,4% (Гос. доклад…, 2020).

В период масштабных лесных пожаров в 2019 году в Иркутской области площадь возгораний и их количество превысили среднегодовые значения примерно в 1,5 раза (Пожары в…, 2020). В Прибайкальском национальном парке было ликвидировано 6 очагов возгорания, при этом наибольшая выгоревшая площадь зафиксирована на территории Прибайкальского лесничества (посёлок Большое Голоустное) и составила 1250 га.

Таблица 2 – Распределение лесных пожаров по видам на территории Иркутской области с 2015 по 2020 годы увеличила интервал

Годы	Низовые пожары	Верховые пожары

	Площадь, тыс.га	Количество, %	Площадь, тыс.га	Количество, %
2015	259,812	66	91,845	24
2016	723,569	97	20,425	3
2017	257,376	90	27,178	10
2018	63,503	72	24,626	28
2019	1618,195	98,6	22,932	1,4
2020	277,500	98	5,800	2

Таким образом, наряду с ландшафтным и биологическим разнообразием, территория Прибайкальского национального парка представляет интерес в рамках исследования экологических последствий лесных пожаров и является универсальным местом для набора образцов лесного горючего материала с целью экспериментального моделирования лесного пожара в контролируемых лабораторных условиях.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования проведены на базе вивария (Ветеринарное удостоверение 238 № 0019994 от 16.10.2019) ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» с использованием 320 беспородных белых половозрелых крыс (60 самцов и 60 самок родительского поколения F_0; 100 самцов и 100 самок потомства F_1) массой 180–200 г. Животные содержались в специальном помещении с 12 часовым светлым/тёмным циклом, регулируемой температурой (22±3°С) и влажностью 60%, со свободным доступом к чистой водопроводной воде и пище, включающей в себя все необходимые витамины и микроэлементы. Все экспериментальные животные получены путем собственного воспроизводства в виварии ФГБНУ ВСИМЭИ.

Работа выполнена с соблюдением правил гуманного отношения к животным в соответствии с Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция – октябрь 2008 г.), Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.), а также «Правил лабораторной практики» (приказ Минздравсоцразвития №708н от 23.08.2010 г.). На проведение экспериментов было получено разрешение Локального этического комитета (Протокол ЛК ФГБНУ ВСИМЭИ № 32/19 от 10.05.2019 г.).

Для достижения цели и решения поставленных задач был выполнен комплекс методов химического анализа, токсикологических, патоморфологических и статистических методов исследований. Для создания токсического эффекта продуктов горения, выделяющихся при лесных пожарах, белых крыс (30 самцов, 30 самок) подвергали ингаляционному воздействию дыма в течение 4 недель в экспозиционных камерах. Крысам контрольной группы (30 самцов, 30 самок) в камеру подавался чистый воздух. Определяли концентрации оксида углерода (CO), твердых частиц размером менее 2,5 мкм ($PM_{2,5}$), метана

(CH_4), бензола (C_6H_6), диоксида азота (NO_2), диоксида серы (SO_2), формальдегида, фурфурол, ацетальдегида, ∑предельных углеводородов C_1H_4–C_5H_{12}, ∑углеводородов алифатических предельных C_2–C_{10}.

Обследование экспонированных дымом животных проводили в 2 этапа: I – сразу после окончания экспозиции, II – в отдаленном периоде после воздействия, (через 60 дней). Обследование включало в себя исследования показателей репродуктивной и центральной нервной систем подопытных животных. Для оценки двигательной, ориентировочной активности, эмоционального состояния животных проводили обследование в тестах «открытое поле»; для оценки пространственной памяти и способности экспериментальных животных к навигационному научению использовали тест «водный лабиринт Морриса». Для детекции эпигенетических изменений в клетках крови, тканях коры головного мозга, семенников и яичников проводили анализ уровня полногеномного метилирования ДНК с использованием метода ДНК-комет. Далее с целью оценки состояния сперматогенного эпителия, яичников и сенсомоторной коры головного мозга часть животных умерщвляли путем декапитации под легким эфирным наркозом для проведения микроскопического исследования сразу после экспозиции и в отдаленном периоде после воздействия. В эксперименте были использованы 60 животных опытной группы (самцы, самки) и 60 животных группы контроля (самцы, самки).

Для получения потомства F_1 сразу после экспозиции и через 60 дней проводилось спаривание экспонированных животных с интактными партнерами в соотношении 1:3 (1 самец и 3 самки). За два дня до предполагаемой даты родов самок рассаживали в отдельные клетки. Крысята всех групп были отсажены от матерей и разделены по полу на 30 день жизни. Всего было обследовано 200 особей полученного потомства, которые составили 10 групп животных (по 20 особей в каждой), дизайн исследования представлен на рисунке 2.

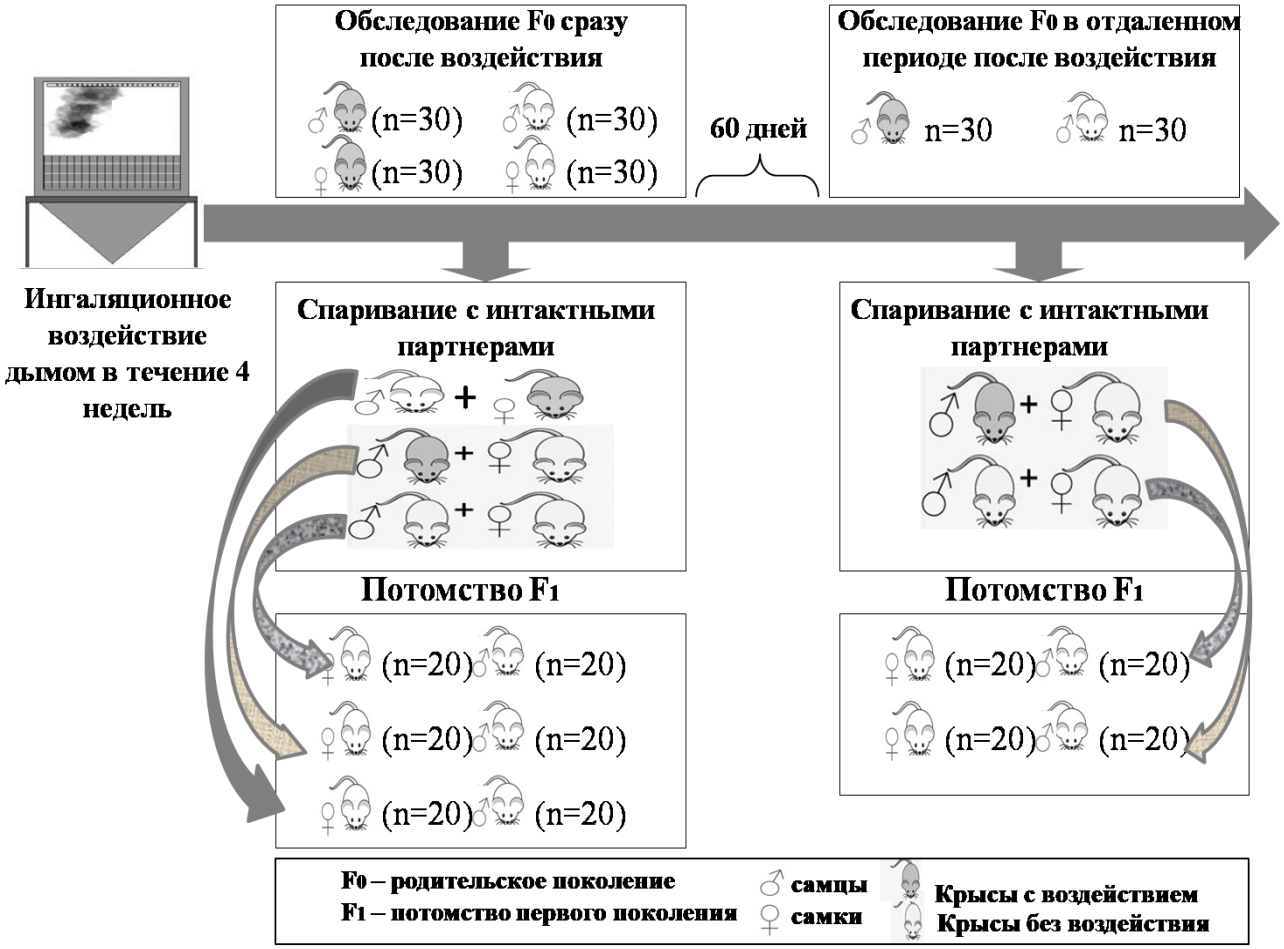

Рисунок 2 – Дизайн исследования

В половозрелом возрасте (3 мес.) было проведено обследование функционального состояния ЦНС, полученного потомства, с использованием тестов «открытое поле» и «водный лабиринт Морриса», а также взят забор материала для гистологических и морфометрических исследований головного мозга (n=160).

На завершающем этапе проведена обработка, анализ и обобщение полученных данных, формулировка выводов и рекомендаций.

2.1. Методы химического анализа

При моделировании токсического воздействия дыма природных пожаров на протяжении всего срока воздействия ежедневно каждый час после начала экспозиции в затравочных камерах оценивали концентрации $PM_{2,5}$, CO, CH4, NO2, SO2, формальдегида, фурфурола, ацетальдегида, $\sum C_2–C_{10}$, C_6H_6, $\sum C_1H_4$–

C_5H_{12}. Концентрацию CO измеряли с помощью газоанализатора ГАНК-4 (НПО «Прибор», Москва, Россия). Массовую концентрацию $PM_{2,5}$ измеряли с помощью пьезобалансного монитора пыли Kanomax 3521 (KanomaxInc., Андовер, Нью-Джерси, США). Общий качественный анализ воздуха в камере и качественный анализ летучих альдегидов проводили с помощью газового хроматографо-масс-спектрометра Agilent 5975 (AgilentTechnologies, Санта-Клара, Калифорния, США). На протяжении все срока воздействия наблюдали за показателями температуры и относительной влажности.

Отбор пробы воздуха осуществляли в газовую пипетку вместимостью 125 мл для общего качественного анализа и в дистиллированную воду для целевого качественного анализа на карбонильные соединения. Из газовой пипетки летучие органические соединения извлекали методом твёрдофазной микроэкстракции (МТФЭ) на микроволокно 85 μmCarboxen/PDMS в течение 10 мин специальным шприцом МТФЭ (Газохроматографическая… 2010). Затем вводили шприц МТФЭ в разогретый испаритель до 250 ºС газового хромато-масс-спектрометра, выдерживая 1 мин в режиме без деления потока 0,7 мин. Разделение компонентов осуществляли на капиллярной колонке HP-5ms (30 м, 0,25 мм 0,25 мкм) в режиме температурного градиента 40°С 3 мин, подъём 5 °С/мин до 55°С 0 мин, затем 10 °С/мин до 220°С 5 мин. Диапазон сканирования масс 40–600 а.е.м. (атомная единица массы). Идентификацию компонентов на хроматограмме проводили с помощью библиотеки масс-спектров NIST (Schmarr et al., 2008) и расчётом линейных индексов удерживания (ИУ). Для расчёта линейных индексов удерживания проанализрована в идентичных условиях хромато-масс-спектрометрического анализа смесь нормальных алканов C_6–C_{19}.

Целевой качественный анализ на летучие альдегиды и кетоны C_1–C_6 осуществлен с помощью реагента *о*-пентафторбензилгидроксиламина (ПФБГА) (Sugaya, Nakagawa, Sakurai, 2001). Для этого воздух аспирировали через дистиллированную воду со скоростью 1,5 л/мин в течение 3 мин. Аликвоту воды (0,5 мл) помещали в стеклянный флакон на 1,5 см^3, добавляли 0,1 мл 0,1%

раствора ПФБГА и выдерживали 30 мин при 60ºС для дериватизации карбонильных соединений в (ПФБ)оксимы. Данные производные альдегидов и кетонов из водной матрицы извлекали жидкостно-жидкостной экстракцией гексаном в течение 2 мин. Вводили в испаритель хромато-масс-спектрометра 2 мкл гексанового экстракта в режиме без деления потока 0,5 мин. Разделение компонентов осуществляли на капиллярной колонке HP-5ms (30 м, 0,25мм 0,25 мкм) в режиме температурного градиента 60 °С 2 мин, затем 7 °С/мин до 150 °С 1 мин, затем 5 °С/мин до 200 °С 3 мин. Диапазон сканирования масс 35-500 а.е.м

Исследование выполняли совместно со старшим научным сотрудником лаборатории аналитической экотоксикологии и биомониторинга ФГБНУ ВСИМЭИ к.б.н. А. Н. Алексеенко.

2.2. Методы оценки функционального состояния центральной нервной системы белых крыс

Для оценки функционального состояния ЦНС белых крыс проводили исследование двигательной, ориентировочной активности, эмоционального состояния, когнитивных способностей животных с использованием следующих тестов «открытое поле» и «водный лабиринт Морриса».

Методика открытого поля используется для изучения влияния веществ на ориентировочно-исследовательское поведение, двигательную активность животных, а также позволяет оценить выраженность и динамику отдельных поведенческих элементов (Исмайлова и др., 2007). Установка «открытое поле» представляла собой круглую арену белого цвета диаметром 97 см, с высотой стенок – 42 см, диаметром отверстий в полу – 2 см. В течение 3 мин регистрировали элементы поведения (паттерны), с помощью компьютерной программы RealTimer. Фиксировали горизонтальную двигательную активность (ГДА) – количество пересеченных квадратов; вертикальную двигательную активность (ВДА) – количество вертикальных стоек и стоек с упором передними лапами в стену; «обнюхивание» (Обн) – принюхивание и повороты головы; «перемещение» – передвижение, обнюхивание и поиск (П); неподвижные

паттерны: «сидит» (Сид); замирание («фризинг», Фр); «норка» – обнюхивание краев круглых отверстий пола камеры или засовывание головы внутрь отверстий (Н). Рассчитывали объем паттернов. Все паттерны систематизировали, после чего выделяли следующие интегральные характеристики индивидуального поведения:

1. Эмоциональная реактивность: сумма неподвижных паттернов «сидит» и «фризинг» (ЭР=Сид+Фр).

2. Коэффициент ориентировочно-исследовательской активности: сумма активных паттернов – «перемещение», «обнюхивание», «норка» (Коиа=П+Обн+Н).

3. Коэффициент подвижности – отношение подвижного паттерна «перемещение» к эмоциональной реактивности КП=П/ЭР.

Водный лабиринт Морриса широко используется для изучения воздействия неблагоприятных средовых факторов на показатели пространственной памяти и способности к обучению. Установка представляла собой круглый бассейн 1,5 метра в диаметре высотой 60 см, наполненный водой температуры около 25°С до высоты 25 см, замутненной путем добавления мела, что помогало скрыть погруженную платформу. Верхняя поверхность скрытой платформы составляла 14 см в диаметре и находилась на 1,5 см ниже поверхности воды. Проводили четырехкратное тестирование животных последовательно из различных секторов бассейна с интервалом 60 с, при этом местоположение скрытой под водой платформы оставалось постоянным. Если животное в течение 60 с не находило платформу, его принудительно помещали на нее. Время пребывания на платформе составляло 60 с. Регистрировали время поиска скрытой платформы (латентный период) (D'Hooge, 2001; Morris, 1981).

2.3. Методы гистологического исследования головного мозга

Для выполнения патоморфологических исследований после декапитации головной мозг от каждого исследуемого животного был извлечен (Буреш, Бурешова, Хьюстон, 1991) и фиксирован в нейтральном буферном растворе формалина (10%), обезвожен этанолом восходящей концентрации (70, 80, 90, 95 и

100%) и помещен в гомогенизированную парафиновую среду для гистологических исследований HistoMix (BioVitrum, Россия). Далее приготовленные с помощью микротома МС-1(Россия) серийные фронтальные срезы толщиной 4–5 мкм на уровне Bregma -6,10 мм, Interaural 3,90 мм, окрашивали на обычных гистологических предметных стеклах гематоксилин-эозином (Коржевский, 2005). Для обзорной микроскопии был проанализирован участок теменной зоны сенсомоторной коры головного мозга, представляющий собой нервный центр, обеспечивающий регуляцию основных физиологических функций организма и сложные формы поведения (Руководство…, 2001). Затем визуализировали срезы с помощью светооптического исследовательского микроскопа Olympus BX 51 («OlympusCo», Япония) при увеличении X400. Ввод микроизображений срезов в компьютер осуществлялся при помощи камеры Olympus E420 («OlympusCo», Япония). Морфометрический анализ ткани коры головного мозга включал в себя: обзорную оценку состояния ткани коры головного мозга, подсчет числа нормальных нейронов, дегенеративно измененных нейронов, глиальных клеток, количества актов нейронофагии. Исследование выполняли совместно со старшим научным сотрудником лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ к.б.н. Е. А. Титовым.

2.4. Методы морфофункционального состояния репродуктивной системы.

Ритмичность функционирования яичников животных изучалась путем оценки влагалищных мазков (Хабриев, 2005). Забор материала осуществлялся ежедневно за 10 дней до экспозиции, для установления характера эстрального цикла и по 2 цикла с 10-дневным перерывом во время экспозиции. Мазки анализировались на микроскопе Olympus BX 51 («OlympusCo», Япония), после окраски 0,5%-ным спиртовым раствором метиленового синего. Мазки классифицировали по соотношению клеточных элементов (на 100 клеток) при осмотре под микроскопом: в соответствии с преобладанием клеток (проэструс:

ядерные эпителиальные клетки; эструс: ороговевшие эпителиальные клетки; метаэструс: ороговевшие и ядросодержащие эпителиальные клетки и лейкоциты; диэструс: лейкоциты). Диэструс – в мазке содержатся в основном лейкоциты (≥60%) и редкие эпителиальные клетки; проэструс – мазок содержит преимущественно ядерные эпителиальные клетки (≥60%) и незначительное число лейкоцитов (≥10%); эструс – мазок практически состоит из ороговевших безъядерных эпителиальных клеток (≥90%); метаэструс – в мазках преобладают лейкоциты(≥60%) и много больших ядерных эпителиальных форм.

Для количественной оценки структурно-функциональных элементов яичники подопытных животных фиксировали смесью Карнуа, заливали в парафин и готовили серийные срезы толщиной 6–7 микрон. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином (Коржевский, 2005) и под микроскопом Olympus BX 51 («OlympusCo», Япония) подсчитывали количество фолликулов с одним, двумя и более слоями гранулезных клеток, а также количество атретических тел и граафовых пузырьков (Mandl, Zuckerman, 1952).

Для микроскопического исследования сперматогенного эпителия семенники фиксировали в 10% растворе формалина, заливали в парафин, делали срезы толщиной 6-7 микрон и окрашивали гематоксилин-эозином. Определяли индекс сперматогенеза, где учитывали сумму всех подсчитанных в 100 срезах семенных канальцев стадий клеток сперматогенеза (в процентах). Также, учитывали общее количество сперматогоний, канальцев со слущенным эпителием, и число клеток Лейдига, приходящихся на поперечный срез одного извитого семенного канальца (Ukhov, Astrakhantsev, 1983). Количество канальцев со слущенным сперматогенным эпителием, находящимся в просвете канальца, подсчитывали при просмотре 100 канальцев, выражая в %. Среднее число сперматогониев также выражали в процентах (%). Исследование выполняли совместно со старшим научным сотрудникам лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ к.б.н М.А. Новиковым и лаборантом-исследователем Е.В. Буйновой.

2.5. Методы оценки эпигенетических изменений в клетках крови, тканях коры головного мозга, семенников и яичников

Оценку уровня полногеномного метилирования ДНК осуществляли с использованием метода ДНК-комет с применением рестриктаз HpaII и MspI («СибЭнзим», Россия) в клетках крови, тканях коры головного мозга, семенников и яичников (Wentzel et al., 2010).

Для анализа уровня полногеномного метилирования ДНК после декапитации крыс под легким эфирным наркозом осуществляли забор материала согласно методике (Дурнев и др., 2010). Из забранного материала выделяли клетки и готовую суспензию клеток (60 мкл) добавляли к 1% раствору легкоплавкой агарозы (250 мкл) в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и наносили на предварительно покрытые 1%-ной универсальной агарозой стекла, инкубировали с покровным стеклом на льду 10 мин. После затвердевания агарозы стекла помещали в лизирующий буфер (10 мМтрисHClpH 10, 2.5 М NaCl, 100 мМ ЭДТАNa2, 1% Тритон Х100, 10% DMSO) и инкубировали не менее 1 ч. при 4ºС. После инкубации стекла 3 раза отмывали раствором 10 мМ ЭДТА с 5%-ным DMSO в ФСБ в течение 10 мин., после чего на стекло наносили 100 мкл раствора, содержавшего 1 Ед. HpaII или 1.5 Ед. MspI с реакционным буфером («СибЭнзим», Россия), и инкубировали во влажной камере 1 ч. при 37ºС. Затем проводили щелочной электрофорез в растворе (0.3М NaOH и 1мМ ЭДТА-Na, pH13) в течение 20 мин. при напряженности поля 1 В/см, затем стекла фиксировали 10 мин в 70%-ном этаноле, высушивали и хранили при комнатной температуре. Для одного и того же исследуемого образца ДНК в опыт брали три варианта: с MspI, с HpaII и без добавления ферментов. Последний вариант служил контролем сохранности ДНК в реакционном буфере. Окраска препаратов осуществлялась SYBR GreenI, регистрацию проводили на микроскопе «OLYMPUS BX-52», совмещенном с цифровой камерой «OLYMPUSRX-420» при увеличении «×100». Изображения ДНК-комет (по 100 клеток от каждого животного) анализировали с помощью программы «CASP 1.2.2». Уровень полногеномного метилирования

рассчитывали по формуле: 100 - (HpaII/MspI *100), где HpaII и MspI – средний процент ДНК в хвосте кометы в 100 ядрах на препаратах, обработанных HpaII и MspI соответственно.

2.6. Методы статистического анализа

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.1 for Windows (лиц. № AXXR004E642326FA) (Реброва, 2002). Для принятия решения о виде распределения признаков использовали W-критерий Шапиро-Уилка. Проверку значимости различий выборок изучаемых показателей контрольных и экспериментальных животных проводили при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни. Для оценки возможной взаимосвязи между уровнем полногеномного метилирования ДНК родительского поколения и показателями функционального состояния ЦНС их потомства проведен корреляционный анализ соответствующих переменных. Для переменных, которые не отвечали нормальному закону распределения, определен коэффициент корреляции Кендалла, в остальных случаях определен коэффициент парной корреляции Пирсона. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p \leq 0,05$.Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me(LQ;UQ)) (Гублер Е.В., 1978; Закс Л., 1976).

Работа выполнена в рамках НИР030-1 «Изучение механизмов метаболических нарушений и их роли в формировании чувствительности к воздействию производственных факторов», гранта РФФИ № 18–315–00237 «Оценка вклада эпигенетических изменений, обусловленных воздействием продуктов горения (на экспериментальной модели лесного ландшафтного пожара) в развитии отдаленных последствий у последующих поколений» 2018–2019гг; Крупного проекта «Фундаментальные основы, методы и технологии цифрового мониторинга и прогнозирования экологической обстановки Байкальской природной территории» (грант в форме субсидий на проведение крупных

научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития) (РАН № 2020–1902–01–071).

ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Характеристика лесного горячего материала исследуемой территории и описание экспериментальной модели лесного пожара

Исследование проводилось на территории Прибайкальского национального парка, на восточном склоне Приморского хребта, в 10 км к северо-востоку от центра сельского поселения, посёлка Бугульдейка, с координатами 52.51º с. ш. и 105.97º в. д. и высотой 922 м. над уровнем моря.

Рисунок 3 – Расположение участка отбора проб ЛГМ на территории Прибайкальского национального парка.

В период подготовки к полевым исследованиям по спутниковой информации, а также по данным МЧС о возникновении лесных пожаров на данной территории были определены наиболее длительно негоревшие участки

леса. Сбор лесного горючего материала (ЛГМ) проводили в середине июля 2019 г. из межкронового пространства с помощью рамок размером 0,25×0,25 м, на одном участке было взято 3 образца. Отбор образцов осуществлялся на 10-ти участках: сосняки с примесью лиственницы осочково-разнотравные (5 участков) и сосняки с примесью лиственницы рододендроновые бруснично-разнотравные (5 участков). На данной территории наиболее распространены светлохвойные породы – лиственница даурская (*Larix gmelinii*) и сосна обыкновенная (*Pínus sylvéstris*), однако широко представлены и темнохвойные – пихта сибирская (*Ábies sibírica*), сосна сибирская (*Pínus sibírica*). Подлесок редкий, образован рододендроном даурским (*Rhododendron dauricum*) и таволгой средней (*Spiraea media*), в травяно-кустарничковом покрове преобладает разнотравье (Экологический атлас…, 2015).

Образцы ЛГМ представляли собой биомассу, полностью выгорающую в условиях реального низового пожара и представляющую собой живой напочвенный покров и опад. Собранные образцы ЛГМ подвергали механическому измельчению и хранили в помещении со стандартной температурой и влажностью без прямого доступа солнечного света.

3.2. Характеристика экспериментальной модели лесного пожара

Для выявления токсических последствий воздействия продуктов горения, выделяющихся при лесных пожарах, нами была разработана экспериментальная модель лесного пожара, отражающая естественный процесс горения лесного субстрата, а также проведена оценка химического состава выделяемых газов.

Главным критерием достижения необходимого уровня загрязнения воздушной среды, близкого к реальным замерам в период задымления от лесных пожаров, являлись показатели содержания в воздухе $PM_{2,5}$ и CO. Опытным путем был подобран режим термодеструкции (тление) и воздухообмена с целью воспроизведения модели задымления, близкой к натурной. Принципиальная схема экспозиционной установки для моделирования лесного пожара представлена на рисунке 4.

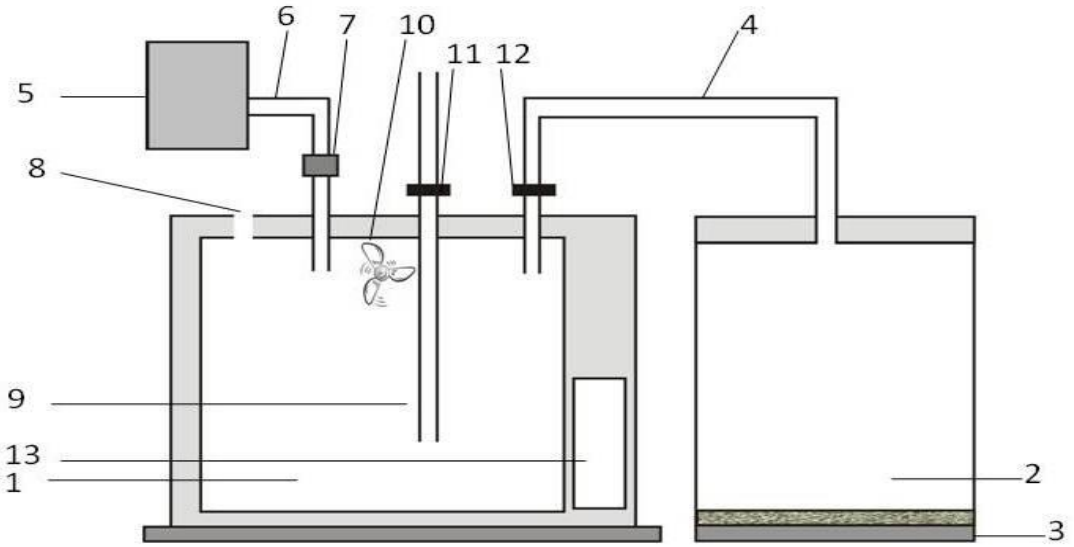

Рисунок 4 – Схема экспозиционной установки для моделирования лесного пожара. Экспозиционная камера (1), металлическая емкость (2), нагревательный элемент (3), подающая трубка (4), компрессор (5), шланг (6), ротаметр (7), отверстие для выхода отработанных газов (8), зонд (9) вентилятор (10); заслонки (11) и (12), закрывающееся отверстие (13)

В дымогенератор помещали навеску исследуемых образцов ЛГМ (150г), для исследования влияния продуктов горения на подопытных животных. Вся система подключалась к приточно-вытяжной вентиляции, с помощью ротаметра устанавливался расход воздуха на выходе из экспозиционной камеры. Животных помещали в экспозиционную камеру, которую герметично закрывали. Дым, выпущенный из дымогенератора, смешивался с чистым воздухом, нагнетаемым с помощью компрессора, для регулировки концентрации исследуемых газов и твердых частиц и достижения необходимого уровня $PM_{2,5}$ и CO. Затем дым направлялся в экспозиционную камеру, с животными, где с помощью вентилятора поддерживался максимально возможный режим равномерного потока дыма в область дыхания животных. Скорость воздухообмена в камере подбиралась с учетом достижения необходимого уровня задымления с одновременным исполнением требований нормы объема воздуха на одно животное (5л/крыса/час). Для обеспечения устойчивости воздушной среды общий объем, занимаемый животными, не превышал 5% от объема камеры. Климатические условия в

экспозиционной камере во время экспозиции были стабильными, температура составляла 24–25°С, относительная влажность 40–60%. Для отбора проб воздуха в экспозиционной камере на уровне зоны дыхания животных устанавливался зонд для непрерывного мониторинга концентрации исследуемых газов и твердых частиц.

Основными компонентами древесной (растительной) биомассы являются целлюлоза, лигнин, гемицеллюлоза и экстрактивные вещества. Соотношение данных компонентов варьирует в зависимости от породы деревьев и растительности, региона их произрастания. Содержание целлюлозы в древесине составляет 40–45% для хвойных деревьев и 38–50% для лиственных пород, лигнина – от 26 до 34% для хвойных деревьев и от 23 до 30% для лиственных деревьев, гемицеллюлозы – 7–15 % для хвойных и 19–26% для лиственных (Alén, Kuoppala, & Oesch, 1996). Известно, что под воздействием внешнего теплового потока из растительной биомассы выделяются летучие соединения (терпены, дубильные вещества или кетоны). Эти соединения высвобождаются перед пиролизом, т.е. без разрушения древесины или биомассы при температуре окружающей среды до 200°С. При более высоких температурах основные компоненты начинают разлагаться, термодеструкция гемицеллюлозы сопровождается образованием окиси углерода и двуокиси углерода, при разложении целлюлозы образуются легкие углеводороды (метан, этан, этилен). Кроме того, происходят вторичные реакции, увеличивающие разнообразие получаемых продуктов (реакции и рекомбинации продуктов путем полимеризации, дегидратации или крекинга). В составе дыма при горении различного типа биомассы присутствует до 100 производных соединений полисахаридов для холоцеллюлозы и 80 соединений (в частности, углеводородов и фенолов) для лигнина.

Проведение качественного анализа воздушной среды в экспозиционных камерах при моделировании лесного пожара показало, что в камере экспонирования присутствуют в основном соединения следующих классов:

гетероциклические альдегиды, терпены, производные терпена, ароматические углеводороды и фенолы (рис. 5). В пробах воздуха при горении биомассы идентифицировано 20 летучих органических соединений, список идентифицированных молекул представлен в таблице 3.

Отмечено значительное выделение следующих соединений: 2-фуральдегид (фурфурол), α-пинен, 5-метил-2-фуральдегид, лонгифолен, δ-кадинен. (рис. 5).

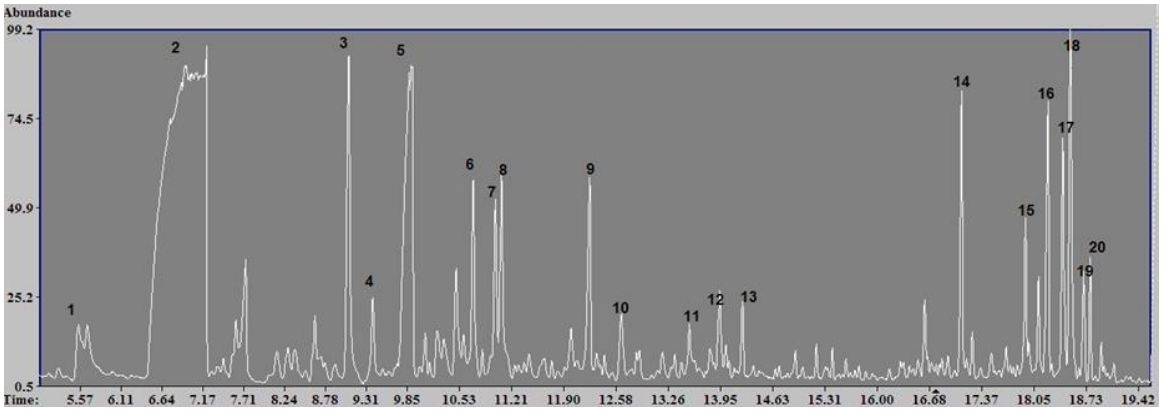

Рисунок 5 – Хроматограмма компонентов, отобранных методом ТФМЭ. Идентифицированные компоненты: (1) гексаналь, (2) фурфурол, (3) α-пинен, (4) камфен, (5) метилфуральдегид, (6) 3-карен, (7) п-цимен, (8) D-лимонен , (9) о-гваякол, (10) левоглюкозенон, (11) борнеол, (12) креозол, (13) бербенон, (14) лонгифолин, (15) γ-мууролен, (16) α-мууролен, (17) γ-кадинен, (18) δ-кадинен, (19) α-кадинен и (20) α-калакорен.

Таблица 3 – Результаты идентификации летучих органических соединений, отобранных в газовую пипетку

Вещество	Эмпирическая формула	Время удерживания, мин	Процент совпадения масс-спектров	ИУ	ИУ по NIST
Гексаналь	$C_6H_{12}O$	5,54	90	794	796
2-фуральдегид	$C_5H_4O_2$	7,226	91	848	840
α-Пинен	$C_{10}H_{16}$	9,09	96	936	935 937
Камфен	$C_{10}H_{16}$	9,402	97	952	951 952
5-метил-2-фуральдегид	$C_6H_6O_2$	9,860	91	974,5	966

(продолжение таблицы 3)

3-карен	$C_{10}H_{16}$	10,719	97	1017	1011 1010 1005
п-цимол	$C_{10}H_{14}$	11,005	97	1031	1021 1026
D-лимонен	$C_{10}H_{16}$	11,080	99	1035	1030 1035 1044
о-Гваякол	$C_7H_8O_2$	12,239	97	1092	1090 1092 1096
Левоглюкозенон	$C_6H_6O_3$	12,653	90	1116,5	-
Борнеол	$C_{10}H_{18}O$	13,542	95	1171	1165 1166 1168
Креозол	$C_8H_{10}O_2$	13,925	96	1194	1192
Бербенон	$C_{10}H_{14}O$	14,237	98	1215,8	1206
Лонгифолен	$C_{15}H_{24}$	17,106	99	1421,8	1402 1403 1404
γ-Мууролен	$C_{15}H_{24}$	17,939	98	1487	1474 1481
α-Мууролен	$C_{15}H_{24}$	18,232	98	1510	-
γ-Кадинен	$C_{15}H_{24}$	18,429	96	1525,7	1511 1534 1512
δ-Кадинен, (+)-	$C1_5H_{24}$	18,525	93	1532,9	1519 1521 1530 1541
α-Кадинен	$C_{15}H_{24}$	18,703	96	1547	1533 1536 1538 1544
α-Калакорен	$C_{15}H_{20}$	18,786	87	1553	1522 1524 1542

По результатам целевого качественного анализа летучих альдегидов показано, что в камере экспонирования присутствуют в основном карбонильные соединения следующих типов: альдегиды, линейные С1-С6 кетоны – ацетон, дикетоны – диметилглиоксаль и гетероциклические альдегиды – 2-фуральдегид (фурфурол). В наибольшем количестве отмечено выделение следующих соединений: ацетальдегид, формальдегид, пропионовый альдегид и диметилглиоксаль (диацетил) (рис. 6).

Сравнение масс-спектров производных карбонильных соединений, зарегистрированных на хроматограмме (рис.6), показало, что некоторые из них имеют молекулярные ионы с интенсивностью менее 1%. Это в свою очередь делает не достоверную идентификацию каждого соединения по библиотекам масс-спектров. В данном случае более достоверной идентификацией является расчёт линейных индексов удерживания с последующим их сравнением с литературными данными, что и было проделано (табл.4).

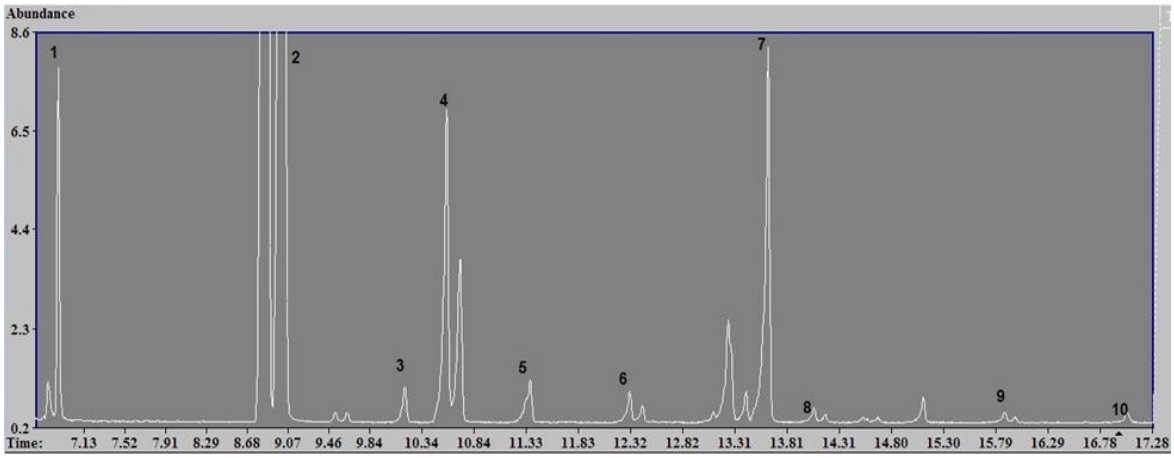

Рисунок 6 – Хроматограммадериватизированных альдегидов PFBHA. Идентифицированные компоненты: (1) формальдегид, (2) ацетальдегид, (3) ацетон, (4) пропионовый альдегид, (5) изобутиловый альдегид, (6) бутиловый альдегид, (7) диацетил, (8) валериановый альдегид, (9) гексаналь, (10) - фурфурол.

Таблица 4 - Результаты идентификации ПФБоксимов карбонильных соединений

Производное ПФБоксимов	Молекулярная масса,	Время удерживания, мин	m/z	ИУ	ИУ по данным статьи
Формальдегид	225	6,88	181 (100%) 195 (10%) 225 (0.1%)	1008	-
Ацетальдегид	239	8,83 (Z) 8,99 (E)	181 (100%) 195 (3%) 209 (9%) 239 (0.7%)	1102 1111	1112
Ацетон	253	10,17	181 (100%) 195 (4.2%) 236 (3) 253 (5%)	1166	1167
Пропионовый альдегид	253	10,575 10,703	181 (100%) 195 (3%) 236 (6.5%) 253 (0.7%)	1185 1191	1193
Изобутаналь	267	11.334 11,370	181 (100%) 195 (9.7%) 250 (5%) 267 (0.9%)	1222 1224	-
Бутаналь	267	12,313	181 (100%) 195 (5.4%) 239 (12%) 267 (0.4%)	1271 1277	1271
Диметилглиоксаль (диацетил)	476	13,249 13.63	181 (100%) 195 (4.6%) 239 (2.5%) 281 (1%)	1319 1339	1319 1344
Пентаналь	281	14.067 14.174	181 (100%) 195 (4.3%) 207 (2.8%) 222 (1.7) 239 (17.5%)	1362 1367	1364 1369
Гексаналь	295	15,880 15,977	181 (100%) 195 (4.2%) 207 (4.2%) 222 (2.2%) 239 (16%)	1453 1458	1456 1460

(продолжение таблицы 4)

2-Фуральдегид	291	17,036	181 (100%) 195 (6%) 248 (6.5%) 261 (3.4%) 291 (29%)	1509	1510

Многие из идентифицированных компонентов обладают выраженным раздражающим действием на глаза, кожу и дыхательные пути. В то же время, значительное выделение альдегидов (ацетальдегида, формальдегида и фурфурола), обладающих кроме раздражающего и общетоксического действия нейротоксическими и генотоксическими эффектами, определило необходимость их количественного определения, наряду с такими общеизвестными и обязательными для мониторинга компонентами дыма, как твердые частицы $PM_{2,5}$, оксид углерода, метан, бензол, диоксиды азота и серы и суммы углеводородов ∑C2–C10 и ∑C1–C5.

Концентрации оксида углерода в камере определяли ежедневно один раз в час после начала экспозиции. В течение всего срока экспозиции содержание CO варьировало в диапазоне 20–37 мг/м^3, средняя концентрация CO составила 27,5 ± 1,2 мг/м^3. Самые высокие концентрации CO в камере определялись через 2–3 часа после начала затравки, в данные периоды содержание CO составляло 27–34 мг/м^3 и 24–37 мг/м^3, соответственно, что, вероятно, может быть связано с более интенсивным процессом тления вследствие снижения исходной влажности субстрата (табл. 5, рис. 7). Превышение ПДКм.р. для атмосферного воздуха составило 5,5 (при ПДК м.р.=5 мг/м^3) (рис. 8).

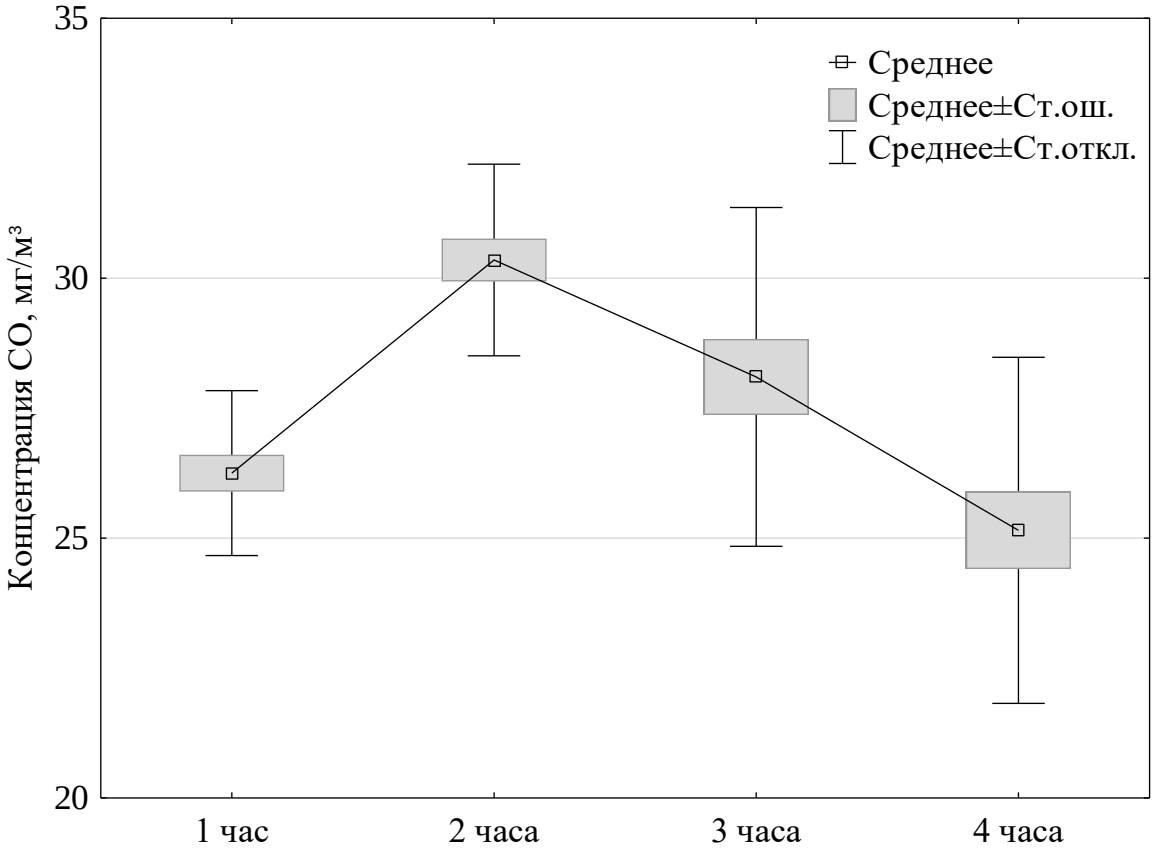

Рисунок 7 – Концентрации оксида углерода в экспозиционной камере

Содержание твердых частиц $PM_{2,5}$ в экспозиционной камере варьировало в диапазоне от 0,68 до 1,91 мг/м^3. средняя концентрация $PM_{2,5}$ составила 1,9 ±0,5мг/м^3. Превышение ПДКм.р. для атмосферного воздуха составило 11,8 (при ПДК м.р.=0,16 мг/м^3). При отсутствии подачи дыма воздух в экспозиционной камере имел следующие характеристики: $PM_{2,5}$<0,07 мг/м^3, CO <2,0 мг/м^3 (табл.5, рис. 8).

Концентрация диоксида азота в экспозиционной камере составила 0,032 ± 0,008 мг/м^3, содержание диоксида серы не превышало 0,0025 мг/м^3, таким образом, по данным показателям не наблюдалось превышения допустимых норм (ПДК м.р. NO_2=0,085 мг/м^3; ПДК м.р. SO_2=0,125 мг/м^3; табл.5, рис. 8).

Средние концентрации метана и смеси углеводородов $\sum C_2$-C_{10} и $\sum C_1$-C_5 составили 1,42 мг/м^3, 2,28 мг/м^3 и 1,28 мг/м^3, при ПДК м.р. в атмосферном воздухе равном 50 мг/м^3, 50 мг/м^3 и 200 мг/м^3 , соответственно (табл.5, рис. 8).

Кроме того, в пробах воздуха выявлены высокие концентрации бензола,

фурфурола и ацетальдегида, составившие 0,39, 0,18, и 0,65 мг/м^3 и превышавшие гигиенический норматив в 1,3, 3,6 и 65 раз, соответственно (ПДКм.р. для бензола равно 0,3 мг/м^3, для фурфурола – 0,05 мг/м^3; для ацетальдегида – 0,01 мг/м^3; табл.5, рис. 8).

В таблице 5 представлены результаты замеров в камере проб воздуха при моделировании пожарной эмиссии.

Таблица 5 – Содержание некоторых продуктов горения воздухе экспозиционной камеры

Вещество	Концентрация,мг/м^3
$PM_{2,5}$	1,9 ±0,5
Углерода оксид	27,5 ±1,2
$\sum C_1–C_5$	1,28 ±0,29
Метан	1,42 ±0,33
$\sum C_2–C_{10}$	2,28 ±0,52
Бензол	0,39 ±0,10
Азота диоксид	0,032 ±0,008
Сера диоксид	0,0025
Формальдегид	0,018±0,002
Фурфурол	0,18±0,06
Ацетальдегид	0,65±0,12

Примечание: даны средние значения концентраций за весь период воздействия.

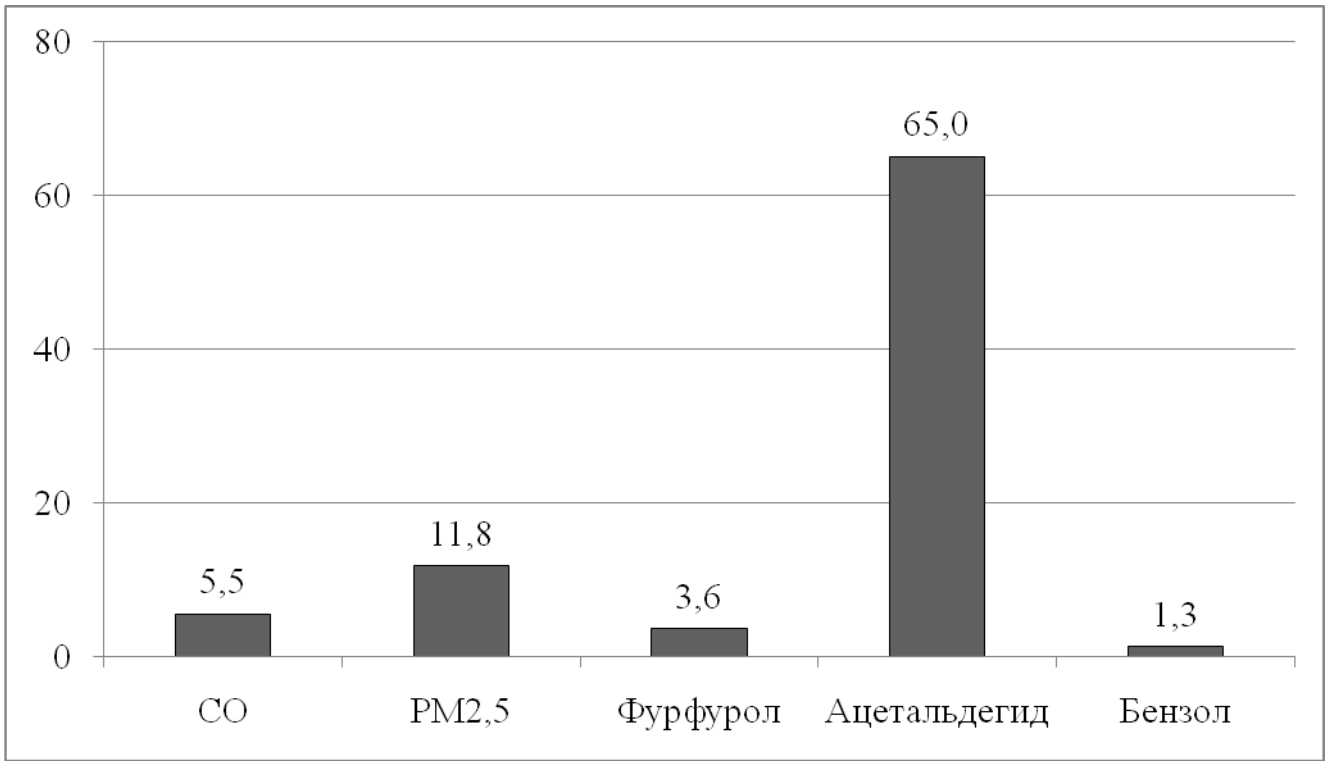

Рисунок 8 – Характеристика воздушной среды в экспозиционной камере при моделировании лесного пожара. Кратность превышения максимально разовых ПДК в атмосферном воздухе ($ПДК_{м.р.}$).

Таким образом, для выявления токсических последствий воздействия продуктов горения, выделяющихся при лесных пожарах, создана модель устойчивого низового лесного пожара, в процессе которого длительное время горит лесная постилка, с выделением сильного дыма, при отсутствии пламени. Отмечено, что, несмотря на увеличение количества лесных пожаров, в научной литературе недостаточно информации по оценке выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух. Так, согласно результатам инструментальных замеров и расчетов концентрации $PM_{2.5}$ в штате Вашингтон и на Аляске, где лесные пожары спровоцировали появление дыма и подвергли диких животных воздействию выбросов загрязняющих веществ, содержание $PM_{2,5}$ достигало уровня 0,5 мг/м^3, при допустимых пределах 0,015 мг/м^3 (Sanderfoot and Beth, 2021; Witkop et al., 2021). Концентрации CO в некоторых городах РФ, где лесные пожары спровоцировали появление дыма, в воздухе населенных мест варьировали в диапазоне 3,6–30 мг/м^3 (Звягинцев и др., 2011; Панов и др., 2018; Air…, 2010).

Согласно данным мониторинга атмосферного воздуха в населенных пунктах в периоды задымления от лесных пожаров в 2018 году в г. Братск и г. Якутск содержание CO в атмосферном воздухе превышало гигиенический норматив в 5 и 2,8 раза, в 2021 году в г. Оренбург превышение ПДКм.р. по CO составило 2,9–6,9 раза, в Свердловской области – в 1,4 раза, в Якутии – в 1,02–3,71 раза было выявлено превышение допустимых пределов по CO. В условиях задымления при природных пожарах в Свердловской области наблюдалось превышение ПДКм.р. по содержанию твердых частиц $PM_{2,5}$ в 1,56 раза (0,25 мг/м^3 при допустимом уровне в 0,16 мг/м^3) и превышение ПДКм.р. по NO_2 в 1,8 раза (0,36 мг/м^3 при допустимом уровне в 0,085 мг/м^3). В Якутии в период задымления фиксировали превышение уровня $PM_{2,5}$ в 2,69–4,06 раза от ПДКм.р., NO_2 – в 1,05–1,95 раза, SO_2 – в 2–2,2 раза. Целевые исследования газовых примесей в приводном слое озера Байкал летом 2018 года во время лесных пожаров в Сибири, установили, резкое повышение концентрации SO_2 до 0,04 мг/м^3 и концентрации NO_2 до 0,03 мг/м^3 (Заяханов и др., 2015; Ходжер и др., 2019). В условиях экспериментального моделирования мы поддерживали уровень загрязняющих частиц в экспозиционных камерах в пределах данных измерений. Таким образом, выбранный нами режим проведения эксперимента позволил воспроизвести уровень задымленности близкий к реальным замерам в условиях лесных пожаров. Мы также продемонстрировали, что разработанная нами модель лесного пожара может обеспечивать стабильные концентрации дыма биомассы (по ТЧ и CO) и поддерживать целевые заданные значения компонентов дыма в зоне дыхания животных.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ И НЕРВНОЙ СИСТЕМ БЕЛЫХ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ДЫМА ЛЕСНОГО ПОЖАРА, И ИХ ПОТОМСТВА

Для оценки состояния репродуктивной системы, а также морфофункционального состояния центральной нервной системы экспонированных дымом природного пожара половозрелых белых крыс, проведено изучение циклической функции яичников, морфометрическое исследование семенников и яичников, изучение структуры видоспецифического поведения животных, когнитивных функций, а также патоморфологическое обследование головного мозга подопытных животных и их потомства.

4.1. Состояние репродуктивной системы белых крыс сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара

Воздействие дыма лесного пожара привело к значительным нарушениям репродуктивной системы белых крыс. Выявлено нарушение циклической функции яичников у опытных самок, выражающееся в неритмичности эстрального цикла и изменении длительности основных фаз. У опытных самок наблюдалось статистически значимое увеличение (p=0,021) длительности фазы диэструса (у 70% особей), во время которой происходит рост и созревание фолликулов, а также значительное снижение (p=0,002) продолжительности (у 60% особей) либо отсутствие фазы эструса (у 20% особей) (табл. 6).

Таблица 6 – Результаты морфометрического исследования яичников белых крыс, Me(LQ;UQ)

Группа	Длительность, дни			Количество особей с изменением длительности фаз, %	
	Цикл	Эструс	Диэструс	Эструс	Диэструс
Контроль(n=20)	5(4;6)	2(1;2)	3(2;3)	0	0
Опыт(n=20)	5(4;6)	1(1;2)*	4(3;4)*	60	70

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при p<0,05.

Для более детального анализа состояния гонад самок проведено морфометрическое исследование яичников экспонированных особей (табл. 7). Как следует их представленных в таблице данных, воздействие дыма природного пожара на самок крыс не повлияло на количественные показатели структурно-функциональных элементов яичников.

Таблица 7 – Результаты морфометрического исследования яичников белых крыс, Me(LQ;UQ)

Показатели	Опыт	Контроль
Атретические тела яичника	1184 (1158,9;1214,4)	1176 (1149,3;1234,0)
Граафовы пузырьки	6,6 (5,7;7,6)	6,75 (6,1;8,7)
Фолликулы с одним слоем гранулезных клеток	684,1 (616,8;704,1)	683,35 (634,6;694,5)
Фолликулы с 2-мя и более слоями гранулезных клеток	87,3 (81,6;91,2)	86,5 (79,9;94,8)

Примечание: Количество животных в группе n=8.

При проведении макроскопического исследования образцов семенников белых крыс, сразу после воздействия дыма лесного пожара, наблюдалось умеренное кровенаполнение, не отличающееся от нормы, нарушений реологии крови выявлено не было. Сосудистые стенки не изменены, кровоизлияний не обнаружено. Извитые канальцы нормального размера, просветы в норме. Собственная оболочка различается по всей поверхности, без утолщений и разрывов.

При проведении морфометрического исследования семенников белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма, выявлено нарушение функционального состояния мужских гонад, о чем свидетельствовало статистически значимое снижение индекса сперматогенеза с одновременным сокращением процентного содержания сперматогониев (p=0,03 и p=0,01, соответственно) по сравнению с контрольной группой. Известно, что сперматогонии являются полипотентными

стволовыми клетками сперматогенного эпителия, снижение которых свидетельствует об угнетении процесса сперматогенеза. Кроме того, у животных данной группы выявлено значительное снижение относительного количества клеток Лейдига (p=0,0015, рис. 9, 10). Данные клетки являются основным местом синтеза секреции андрогенов, в том числе тестостерона, играющего важную роль в регуляции процессов размножения у самцов, и характеризующего мужской репродуктивный потенциал (Bergh, 1982; Mori, Christensen, 1980).

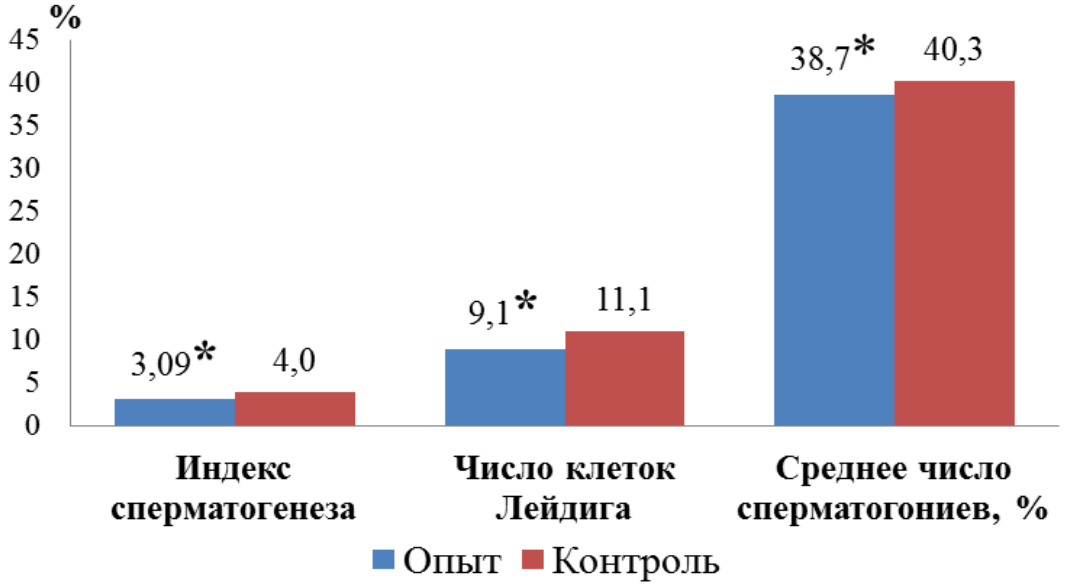

Рисунок 9 – Результаты морфометрического исследования семенников белых крыс,подвергавшихся воздействию дыма.

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с контролем при p<0,05.

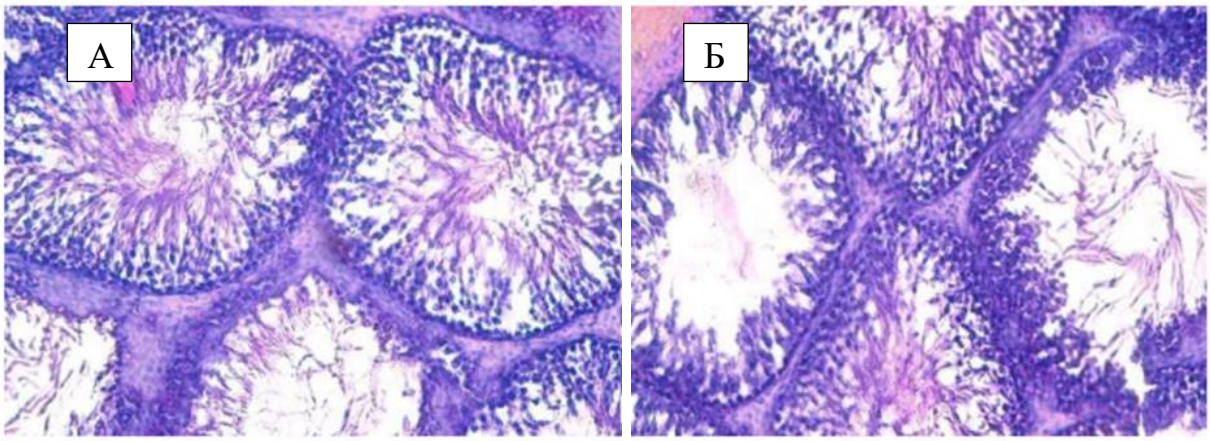

Рисунок 10 – Срез семенника белых крыс контрольной (А) и опытной групп (Б) сразу после воздействия дымом. Окр. гематоксилин-эозин. Ув Х 400.

В современной литературе данные о влиянии дыма пожаров на

репродуктивный потенциал у животных крайне малочисленны и сосредоточены в основном на исследованиях в период беременности. Показано, что при нахождении в условиях сильной задымленности от природных пожаров в период беременности, у приматов повышается риск преждевременных родов и снижения жизнеспособности потомства (Willson et al., 2021). Экспериментальными исследованиями Горбатовой Д. М. с соавторами, (2014) показано, что экспозиция торфяным дымом в пренатальный период вызывала снижение прироста массы тела беременных крыс, увеличение постимплантационной гибели, снижение массы и увеличение числа гематом и кровоизлияний у плодов, а также увеличение двигательной активности и нарушение ориентировочно-исследовательского поведения половозрелого потомства при повторных тестированиях (Горбатова и др., 2015; Горбатова и др., 2015). В дальнейших исследованиях Горбатовой с соавторами (2016) при воздействии торфяного дыма в пренатальный период было выявлено повреждение ДНК в клетках плацент и эмбрионов крыс. Авторы отмечают, что при экспозиции торфяным дымом у эмбрионов уровень ДНК повреждений по сравнению с контрольными значениями возрос в 4,4 раза, в плаценте – в 4,1 раза, что может быть связано с содержанием в торфяном дыме твердых частиц, которые проникают в альвеолы материнского организма, попадают в системный кровоток, преодолевают плацентарный барьер и достигают тканей эмбрионов (Hougaard et al., 2015; Kim et al., 2014). Учитывая, что эмбриональные предшественники гамет являются первичными зародышевыми клетками (Donovan, 1998), воздействие химических факторов в пренатальный период не исключает воздействия на весь фолликулярный запас и непосредственное влияние на плод.

4.2. Характеристика состояния потомства, полученного от белых крыс, сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара

Анализ постнатальной смертности показал, что среди крысят от контрольных особей случаи мертворождения не наблюдались, тогда как среди потомства от экспонированных самок и самцов данные показатели составили 27,8

и 29,4%, соответственно. Кроме того, у потомства от опытных самок наблюдалось значительное повышение частоты случаев летальных исходов в первую неделю жизни (7,9%) по сравнению с контрольной группой, где случаи гибели после родов не превышали 2,4%. Смертность потомства от опытных самцов в первую неделю жизни составила 3,6%. Суммарно смертность потомства от опытных самок составила 35,7% смертность потомства от опытных самцов – 33%.

Результаты исследования поведения потомства, полученного от белых крыс сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара, показали, что наиболее выраженные изменения произошли у потомства, полученного при спаривании экспонированных дымом самцов с интактными самками (табл. 8).

Таблица 8 – Показатели поведения потомства экспонированных дымом крыс,Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования			
	Потомство, полученное от экспонированных самцов		Потомство, полученное от экспонированных самок	
	Самцы, n=20	Самки, n=20	Самцы, n=20	Самки, n=20
Количество актов «груминг»	0,5(0;2) 0(0;1)	0,5(0;0,1) 0(0;0)	0(0;1) 0(0;1)	0(0;1) 0(0;0)
Количество актов «фризинг»	6(5;7)** 1(0;3)	7(4;9)* 1(1;1)	3,5(2;5) 1(0;3)	5,5(4;8)** 1(1;1)
Норка	1,5(1;2) 3(0;4)	2,5(2;4)* 5(5;7)	2(1;4) 3(0;4)	2(1;4)* 5(5;7)
Количество дефекаций	0(0;0) 1(0;1)	0(0;0) 0(0;0,1)	0(0;1) 1(0;1)	0(0;0) 0(0;1)
Обнюхивание, с	64(57;71,4) 69,4(67;80,4)	58,3(42,1;63)** 77(71;79,1)	53(46;59,1)* 69,4(67;80,4)	55(49;60,3)** 77(70,8;79,1)
Локомоции, с	83(72;88,1) 81(64,0;96,1)	88,2(82;91) 93,4(89;96,2)	91(85;96) 81(64;96,1)	85(78,6;89,6) 93,4(89;96,2)
Сидит, с	31,4(27;46,1)** 16,4(7,1;18,2)	33(22;45)** 5(3;7,4)	35(23,3;42,1)* 16,4(7,11;18,2)	35(26,6;39,4)** 4,8(2,8;7,4)

(продолжение таблицы 8)

ГДА	55(51;57) 38(24;51)	66(55;74) 65(54;74)	56(40;59) 38(24;51)	51,5(50;52) 65(54;74)
ВДА	13(12;17)* 10(8;12)	9(8;11) 11(8;14)	9,(6;13) 10(8;12)	13,5(10;15) 11(8;14)
ЭР	39,4(33;51,1)** 16,4(8,1;21,2)	38,2(34;48)** 6(3,2;8,4)	39(26,3;45,1)* 16,4(8,1;21,2)	40(29,6;47,5)** 5,8(3,2;8,4)
$К_{оиа}$,	149,2(133;154)* 160(158;168,4)	149(130,2;155)** 179,1(174;181)	144(138,2;154) 160(158;168,4)	140,4(137;148)** 179(173,5;181)
КП	2,2(1,6;2,6)* 3,8(3;5,8)	2,4(1,3;3)** 15,3(11;30)	2,4(2;3,5) 4(3;6)	2,2(1,9;2,7)** 15,3(10,8;30)

Примечание: под чертой – показатели соответствующей контрольной группы; * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$, ** – при $p \leq 0,01$.

Так, в группе потомства полученного от экспонированных самцов как у самцов, так и у самок наблюдалось резкое снижение ориентировочно-исследовательской активности. Обычно, после попадания животного в новую обстановку, у него преобладает ориентировочно-исследовательский рефлекс, однако в нашем исследовании грызуны не проявили характерного поведения, несмотря на несколько возросший объем паттернов горизонтальной двигательной активности (Беляев и др., 2012). Кроме перемещения, в состав исследовательского рефлекса также входят продолжительность акта обнюхивание и заглядывание в норки, что в полной мере не было реализовано у животных, отцы которых были экспонированы дымом. $К_{оиа,}$ у животных обоего пола из потомства опытных групп был значимо ниже такового, чем у животных контрольных групп, ($p=0,024$ и $p=0,0012$, соответственно). Эмоциональная реактивность потомства, полученного от экспонированных животных, была с высоким уровнем значимости выше, чем таковая у особей контрольной группы. Особенно ЭР возросла у самок и превысила ЭР самок контрольной группы в 6,6 раза ($p=0,0005$), у самцов ЭР была выше в 2,4 раза, чем в соответствующей контрольной группе ($p=0,001$). Эмоциональная реактивность изменяется при действии на животного физических факторов, а также при поступлении в

организм различных токсичных веществ, что обычно связано с появлением сильного страха или свидетельствует о повышении уровня возбуждения животных. От 1,7 до 6 раз снизился у животных опытных групп коэффициент подвижности с уровнем значимости у самцов p=0,002, у самок p=0,0009 по сравнению с таковым у потомства контрольной группы. В целом, наблюдаемые изменения свидетельствовали о нарушении баланса оборонительной реакции, связанной с возникновением страха и исследовательской реакции, направленной на ознакомление животного с новой средой у особей, родители которых были экспонированы дымом лесного пожара. Разбалансирование основных защитных механизмов определило нестандартное поведение потомства крыс, помещенное в открытое пространство.

При обучении потомства в водном лабиринте Морриса установлено повышение латентного периода поиска скрытой платформы у самцов из потомства, полученного от экспонированных дымом самцов по сравнению с контролем (p=0,037), что может свидетельствовать о снижении когнитивных способностей данных особей, выражавшихся в нарушении показателей пространственной памяти и возможности навигационному научению. У самок из потомства также данный показатель был выше, чем в контрольной группе, но не достигал уровня статистической значимости (p=0,061, табл. 9). Потомство экспонированных самок не демонстрировало снижение когнитивного потенциала.

Таблица 9 – Показатели поведения потомства экспонированных дымом крыс, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования			
	Потомство, полученное от экспонированных самцов		Потомство, полученное от экспонированных самок	
	Самцы, n=20	Самки, n=20	Самцы, n=20	Самки, n=20

(продолжение таблицы 9)

ЛП поиска скрытой платформы, с	26,3(21,8;34,5)* 18,0(10,3;23,2)	28,0(17,3;28,5) 34,0(27,7;38,3)	26,6(23,0;36,7) 18,0(10,3;23,2)	25,2(20,5;44,7) 34,0(27,7;38,3)
Количество животных, выполнивших тест, %,	70,0	90,0	90	90

Примечание: под чертой – показатели соответствующей контрольной группы; * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

При проведении макроскопического исследования потомства, полученного от белых крыс, после воздействия продуктов горения лесного горючего материала, изменений внутренних органов и желез не было обнаружено.

При проведении морфометрического исследования нервной ткани головного мозга потомства, полученного при спаривании экспонированных животных с интактными партнерами сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара, не выявлено статистически значимых отличий при сравнении с контролем (рис. 11, табл. 10).

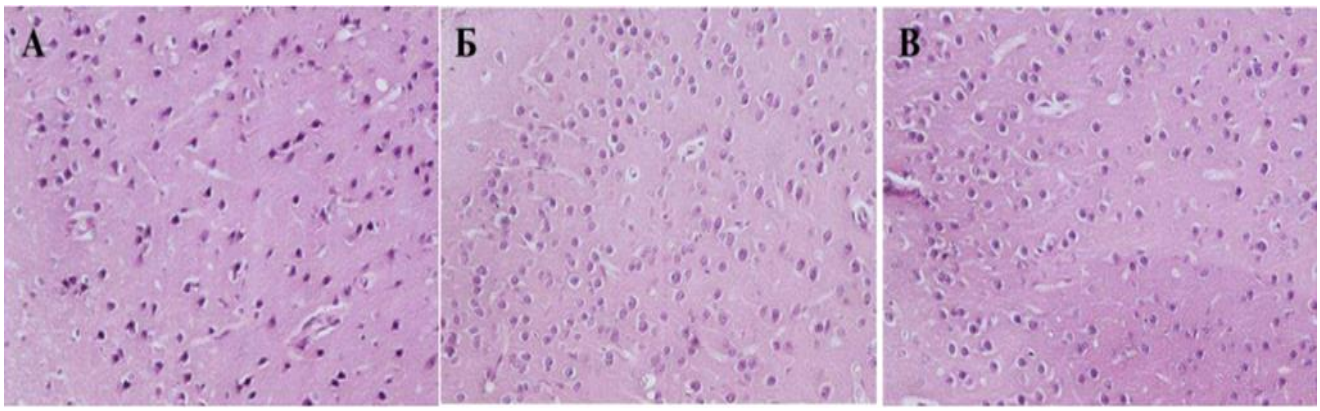

Рисунок 11 – Ткань головного мозга самки белой крысы контрольной группы (А), потомство от опытных самцов - самки (Б), потомство от опытных самцов - самцы (В). Все структуры в норме. Окр. гематоксилин-эозин. Ув Х 400.

Таблица 10 – Результаты морфометрического исследования головного мозга потомства белых крыс, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования			
	Потомство, полученное от экспонированных самцов		Потомство, полученное от экспонированных самок	
	Самцы, n=20	Самки, n=20	Самцы, n=20	Самки, n=20
Число нормальных нейронов	250,5(236;278) 254(224;287)	199,5(177;229) 189,5(177;261)	241(215;295) 278(214;291)	219,5(198;231) 192,5(187;294)
Число дегенеративно изменённых нейронов	2,5(2;5) 3(1;4)	1(1;3) 2(0;4)	2(1;6) 3(1;4)	1(0;5) 1(0;3)
Число глиальных клеток	179,5(164;219) 180,5(169;191)	190(174;224) 188,5(156;225)	182(160;202) 172,5(159;211)	197,5(167;222) 168,0(166;245)
Количество актов нейронофагии	2(1;4) 2(1;5)	1(1;3) 1(0;3)	2(1;4) 1,5(1;5)	1(0;2) 1(0;3)

Примечание: под чертой - показатели соответствующей контрольной группы.

В результате проведенного исследования выявлено снижение выживаемости потомства, полученного при спаривании непосредственно после воздействия дыма лесного пожара, что позволяет, с учетом сроков развития особей данного вида, прогнозировать динамику численности данной популяции на определенный период времени. Потенциальная способность к размножению в будущем будет определяться в первую очередь снижением доли особей неполовозрелого возраста в структуре популяции мелких млекопитающих, что позволит предположить снижение их численности после дыма лесного пожара.

При обследовании половозрелого потомства первого поколения выявлен трансгенерационный эффект экспозиции дымом, проявляющийся в виде изменений структуры поведения. Особи из полученного потомства демонстрировали ярко выраженные однонаправленные нарушения целостной

структуры поведения при отсутствии половых различий, их поведение характеризовалось значительным снижением двигательной и исследовательской активности на фоне повышения уровня негативного эмоционального состояния. Существуют убедительные доказательства того, что воздействие на отцов таких факторов окружающей среды как стресс и физическая нагрузка могут повлиять на здоровье потомства. Полученные данные согласуются с результатами исследования Saavedra-Rodriguez L. and Feig L.A., (2013) в котором показано, что хронический социальный стресс у самцов мышей в подростковом и раннем взрослом возрасте, может вызвать социальный дефицит и повышенное тревожное поведение у потомков женского пола. Кроме того, имеются сведения, свидетельствующие о влиянии длительного стресса отцов на изменения в репродуктивной системе и последующей дисрегуляции стрессового ответа у потомства (Short et al., 2016). В то же время в литературе имеются данные о том, что физическая нагрузка самцов белых крыс до спаривания оказывает влияние на память и обучение, нейропластичность и уровни метилирования ДНК в гиппокампе у потомства мужского пола при отсутствии значительных изменений глобального метилирования ДНК сперматозоидов (Spindler et al., 2019).

Таким образом, негативное влияние на реализацию репродуктивного потенциала мелких млекопитающих наряду с другими экологическими факторами, может оказать длительное нахождение в условиях задымления от лесных пожаров без непосредственного воздействия огня или постпирогенного изменения мест обитания.

4.3. Состояние центральной нервной системы белых крыс сразу после окончания воздействия дымом лесного пожара

Исследование показателей поведения, когнитивных способностей и морфометрической структуры нервной ткани животных, подвергавшихся воздействию дыма, позволило объективно оценить эффект воздействия продуктов горения выделяющихся при лесных пожарах на морфофункциональное состояние ЦНС. При тестировании в «открытом поле» выявлены изменения в структуре

поведения животных, экспонированных дымом, характеризовавшиеся значительным снижением двигательной и исследовательской активности. Так, в группах опытных самцов и самок наблюдалось статистически значимое снижение коэффициента подвижности (p=0,02 и p=0,0001, соответственно) по сравнению с соответствующими показателями группы контроля, что свидетельствовало об усилении у данных особей состояния стрессированности при попадании в незнакомую обстановку.

Таблица 11 – Результаты тестирования белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма в «открытом поле», Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования			
	Самцы		Самки	
	опыт	контроль	опыт	контроль
Количество актов «груминг»	0(0;1)	0(0;1)	0(0;1)	0(0;0)
Количество актов «фризинг»	3,5(2;4)	2(2;2)	5(3;7)**	0,5(0;1)
Норка	1(0;2)	2(1;3)	1(0;2)	2(0;3)
ГДА	38(36;40)	40(30;52)	35,5(27;40)**	47,5(40;53)
ВДА	12,5(12;21)	11(9;14)	13,0(12,1;22)	14(12;17)
Обнюхивание, с	73,2(60,6;78,3)	74,0(70,0;89,8)	56,9(49,7;71,2)	71,8(63,1;81,9)
Локомоции, с	76,8(72,8;82,4)	77,2(73,8;85,3)	71,7(56,6;79,9)**	89,3(82,7;95,2)
Сидит, с	28,8(22,0;31,2)*	18,2(12,7;22,4)	47,1(34,2;58,7)**	12,2(9,8;19,5)
ЭР	32 (24;35)**	20(15;25)	51(34;64)**	13(10;20)
Коиа,	150(137;157)	157(152;165)	130(117;145)**	163(160;168)
КП	2,5(2,3;3,2)**	3,6(3,1;5,0)	1,3(0,9;2,3)**	7,1(4,8;9,7)

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p<0,05$, ** – при $p\leq0,01$. Количество животных в группе n=30.

Кроме того, показатель эмоциональной реактивности был с высоким уровнем значимости выше по сравнению с таковым у особей контрольной группы в 1,6 раза (p=0,01) у самцов и в 3,9 раза (p=0,01) у самок. Данный показатель, состоящий из эпизодов замирания и неподвижности животного, свидетельствовал о повышении уровня тревожности у экспонированных дымом особей. В тоже время последствием экспозиции продуктами горения у самок белых крыс являлось значительное снижение коэффициента ориентировочно-исследовательской активности (p=0,001; табл. 11) по сравнению с контрольной группой.

Оценка показателей пространственной памяти и способности экспериментальных животных к навигационному научению осуществлялась с помощью водного лабиринта Морриса. Результаты исследования показали, что латентный период поиска скрытой платформы у самцов белых крыс не имел статистически значимых изменений по сравнению с группой контроля. Однако 30% животных с экспозицией дымом не справились с тестом, т.е. не смогли найти платформу за 4 попытки, в то время как в контрольной группе животные демонстрировали выполнение теста в 90% случаев (табл. 12).

Таблица 12 – Результаты тестирования белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма в водном лабиринте Морриса, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования			
	Самцы		Самки	
	опыт	контроль	опыт	контроль
ЛП поиска скрытой платформы, с	27,3(21,3;49,5)	27,7(12,0;38,7)	35,2(35,0;49,4)**	27,4(16,8;32,0)
Количество животных, выполнивших тест, %,	70,0	90,0	90	90

Примечание: ** - различия статистически значимы по сравнению с контролем, при p≤0,01. Количество животных в группе n=30.

В целом повышение длительности латентного периода поиска скрытой платформы может свидетельствовать о снижении когнитивных способностей данных особей, выражавшихся в нарушении показателей пространственной памяти и возможности к навигационному научению. В то же время в группе экспонированных самок наблюдалось статистически значимое повышение латентного периода поиска скрытой платформы по сравнению с контрольной группой (p=0,01). Наблюдаемые изменения поведенческих реакций и когнитивных способностей у экспонированных животных позволили констатировать более высокую чувствительность самок белых крыс к действию дыма по сравнению с самцами.

После окончания воздействия проводилось вскрытие и макроскопическое исследование всех внутренних органов животных всех опытных и контрольных групп. По результатам макроскопического исследования при воздействии продуктов горения лесного горючего материала не было обнаружено видимых изменений внутренних органов и желез.

Более детальное гистологическое исследование проведено в ткани коры головного мозга экспериментальных животных всех групп. По результатам проведённого гистологического исследования нервной ткани головного мозга животных, подвергавшихся воздействию дыма, кровенаполнение сосудов вещества мозга было в норме, сосудистые стенки без изменений. Кровоизлияний, клеточной инфильтрации не обнаружено. Эпендима без патологических изменений. Однако в образцах животных, обоего пола, подвергавшихся воздействию дыма, обнаружены множественные очаги нейронофагии по сравнению с таковыми в группе контроля (рис.12Б). Кроме того, отмечалось образование глиальных узелков и расширение периваскулярных пространств (рис. 12Б). В срезах ткани головного мозга контрольных животных указанные изменения отсутствовали, либо носили единичный характер (рис. 12А).

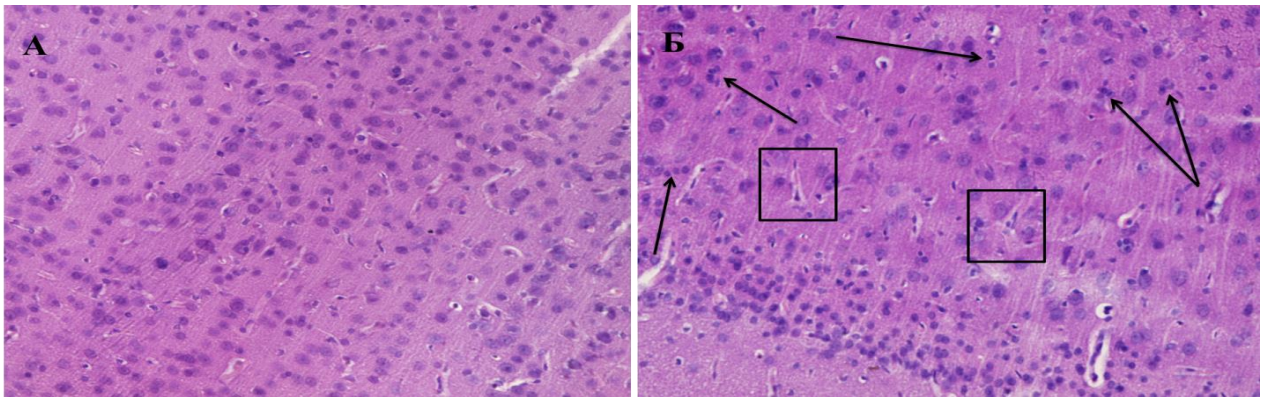

Рисунок 12 – Ткань головного мозга самцов белых крыс контрольной (А) и опытной групп (Б) сразу после воздействия дымом:↑ - нейронофагия, □ – полнокровные сосуды с расширением периваскулярных пространств. Окр. гематоксилин-эозин. Ув Х 400.

Результаты морфометрического исследования показали, что при воздействии воздушной смеси, имитирующей по показателям концентрации основных поллютантов лесной низовой пожар, как у самок, так и у самцов белых крыс наблюдалось статистически значимое снижение количества нормальных нейронов и глиальных клеток на единицу площади, по сравнению с соответствующими группами контроля, а также повышение числа дегенеративно изменённыхнейронов и актов нейронофагии по сравнению с контролем (табл. 13).

Таблица 13 – Результаты морфометрического исследования головного мозга белых крыс, Me(LQ;UQ)

Варианты исследования	Показатели			
	Число нормальных нейронов	Число дегенеративно изменённых нейронов	Число глиальных клеток	Число актов нейронофагии
Самцы опыт	165,5(143;239)**	12,5(8;17)**	176(154;196)**	5(2;9)**
Самцы контроль	268 (249;299)	1,5(0;3)	208,5(199;299)	1(0;2)
Самки опыт	119,5(98;139)**	14(7;19)**	156(146;167)**	2,5(1;5)
Самки контроль	195 (179;233)	3(1;8)	196(156;226)	2(1;4)

Примечание: ** - различия статистически значимы по сравнению с контролем, при $p \leq 0,01$. Количество животных в группе n=8.

Указанные морфоструктурные изменения сенсомоторной коры головного мозга опытных крыс, вероятно, являются основой нарушений видоспецифического поведения лабораторных животных при экспозиции продуктами горения лесной биомассы. В настоящее время механизмы отрицательного влияния компонентов дыма (например CO, CO_2 и др.) на организм человека и животных при вдыхании общеизвестны, однако, их токсические эффекты зачастую оценены независимо друг от друга без учета возможного комбинированного действия. Известно, что накопление CO_2 приводит к гиперкапнии и респираторному ацидозу, вследствие чего активируются области мозга, ионные каналы и нейротрансмиттеры, участвующие в формировании негативных эмоциональных реакций у крыс (Amendola, Lucia & Weary, Daniel, 2020). В исследованиях Aikawa H. et al., (1990) выявлены половые различия в оперантном поведении у взрослых крыс после однократного воздействия окиси углерода.

4.4. Характеристика состояния белых крыс в отдаленном периоде после воздействия дыма лесного пожара

Анализ результатов проведённого исследования показал, что продукты горения, выделяющиеся при лесных пожарах, в большей степени оказывают негативное воздействие на показатели мужского репродуктивного потенциала, о чем свидетельствовало значительное угнетение процесса сперматогенеза и более выраженные отклонении я поведенческих реакций у их потомства. Вследствие этого на следующем этапе была поставлена задача, оценить стойкость выявленных нарушений при обследовании в отдаленном периоде, сопоставимом по длительности с периодом сперматогенеза у крыс общая продолжительность которого составляет 50–60 дней (Aslam et al., 1999; Zhang et al., 2020).

Анализ постнатальной смертности потомства, полученного в отдаленном периоде после воздействия дымом лесного пожара, показал, что среди крысят от контрольных особей случаи мертворождения и гибели составили 1,6 и 1,8%

соответственно. У потомства от опытных самцов случаи мертворождения и гибели составили 2,6 и 2,5% и не имели статистически значимых отличий при сравнении с контрольной группой (рис. 13).

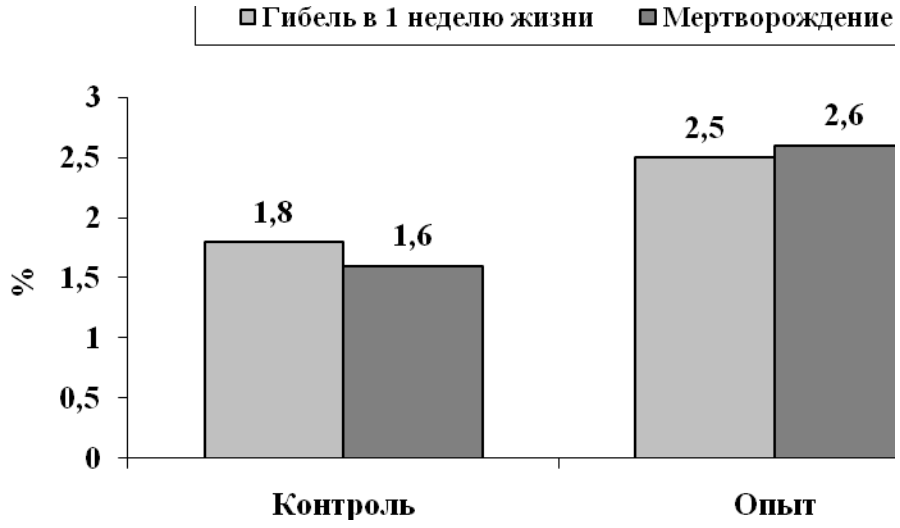

Рисунок 13 – Показатели постнатальной смертности потомства, полученного в отдаленном периоде после воздействия дымом лесного пожара

Результаты исследования показателей поведения и когнитивных способностей крыс-самцов родительского поколения свидетельствовали об отсутствии их полного восстановления в отдаленном периоде. Так, в структуре поведения животных, экспонированных дымом, было выявлено статистически значимое снижение двигательной активности, о чем свидетельствовало повышение числа актов «сидит» (p=0,002), и снижение коэффициента ориентировочно-исследовательской активности (p=0,002). Кроме того наблюдалось повышение уровня тревожности по сравнению с группой контроля, оцениваемого по числу актов «фризинг» (p=0,002) и коэффициенту ЭР (p=0,003, табл. 14). Обследование в водном лабиринте Морриса не выявило значительных нарушений когнитивных способностей животных. Изучаемые показатели латентного периода поиска скрытой платформы не отличались от таковых в контрольной группе.

Таблица 14 – Показатели поведения белых крыс в отдаленном периоде после интоксикации дымом лесного пожара, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования	
	Самцы опыт, n=30	Самцы контроль, n=30
Количество актов «груминг»	0(0;1)	0(0;0,5)
Количество актов «фризинг»	3(2;5)*	2,0(1;2)
Норка	0(0;1)	1,0(0,5;2)
Количество дефекаций	2(0;3)	1,5(0,5;3)
Обнюхивание, с	73,5(66;79,1)**	96,3(91,7;104,1)
Локомоции, с	42,7(40,9;67,6)	53,5(37,1;59,7)
Сидит, с	56,5(47,3;67,9)**	31,5(24,6;39,6)
ГДА	22(20;36)	27,5(20;40)
ВДА	7(3;9)	8,0(4;9,5)
ЭР	58,5(51,3;72,9)**	32,5(26,6;41,1)
$К_{оиа}$	123,5(110,9;131,5)**	148(138,5;157)
КП	0,7(0,6;1,5)	1,8(0,9;2,2)

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p<0,05$, ** – при $p\leq0,01$

Результаты гистологического исследования показали, что в отдаленном периоде сохраняются индуцированные дымом лесного пожара нарушения морфологической структуры сенсомоторной коры головного мозга животных. Выявлено статистически значимое снижение количества нормальных нейронов и глиальных клеток на единицу площади, наряду с повышением числа дегенеративно изменённых нейронов и актов нейронофагии по сравнению с соответствующими показателями группы контроля (табл. 15).

Таблица 15 – Результаты морфометрического исследования головного мозга белых крыс в отдаленном периоде после интоксикации дымом лесного пожара, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования	
	Самцы опыт	Самцы контроль
Число нормальных нейронов	193,5(167;221)**	254(215,5;271)
Число дегенеративно изменённых нейронов	11(9;12)**	1(0;2)
Число глиальных клеток	165(135;185)**	204,5(196;210)
Количество актов нейронофагии	4(2;5)**	1(0;1,5)

Примечание: ** – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p \leq 0,01$. Количество животных в группе n=8.

Известно, что общая продолжительность сперматогенеза у крыс составляет 50–60 дней (Zhang et al., 2020). По условиям нашего эксперимента повторное обследование самцов, подвергавшихся ингаляционному воздействию дымом, проводили в отдаленном периоде через 60 дней после окончания ингаляций. К этому сроку у животных должен пройти полный сперматогенный цикл и возникшие нарушения структуры семенников должны нивелироваться. Действительно, в отдаленном периоде обследования наблюдалась нормализация показателей морфологической структуры сперматогенного эпителия у животных, подвергавшихся воздействию дыма (табл. 16).

Таблица 16 – Результаты морфометрического исследования семенников белых крыс в отдаленном периоде после интоксикации дымом лесного пожара, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования	
	Самцы опыт	Самцы контроль
Индекс сперматогенеза	3,8(3,4;4,5)	3,8(3,6;4,0)
Число клеток Лейдига	10,6(9,8;10,9)	11,4(10,3;12,3)
Среднее число сперматогониев, %	40,0(38,5;41,5)	39,7(38,4;41,1)

При обследовании потомства, полученного при спаривании в отдаленном периоде опытных самцов с интактными самками, выявлены гендерные различия,

заключающиеся в изменении изучаемых показателей только у самок. У них наблюдалось повышение актов «фризинг» (p=0,002) и ВДА (p=0,032, табл. 17), что может свидетельствовать о повышении уровня тревожности у самок, по сравнению с самцами из данной группы.

Таблица 17 – Показатели поведения потомства экспонированных дымом крыс, полученных в отделенном периоде после воздействия дымом лесного пожара, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования	
	Потомство, полученное в отдаленном периоде после экспозиции	
	Самцы, n=20	Самки, n=20
Количество актов «груминг»	1(0;2) 0(0;1)	0(0;2) 1(0;2)
Количество актов «фризинг»	2(1;2) 1(1;4)	2(0;3)* 1(0;3)
Норка	1,5(1;3) 1(0;3)	1(0;2) 1(0;1)
Количество дефекаций	0(0;3) 0(0;2)	1(0;1) 0(0;1)
Обнюхивание, с	63,9(52;72,9) 67,4(61,6;79,9)	56,1(51,7;68,6) 70,6(66,4;84,1)
Локомоции, с	98,7(81,8;109,3) 96,4(92,6;100,8)	112,5(98,5;121,1) 103(78,8;111,3)
Сидит, с	21,5(10;28,2) 15,9(12;35,9)	20,4(9,1;35,6) 21,4(10;42,7)
ГДА	40,1(21,1;59,1) 46,0(26,1;56,2)	36,1(28,5;62,0) 33,5(28,0;48,1)

(продолжение таблицы 17)

ВДА	6,1(4,0;8,0) 6,1(2,1;8,0)	4,1(2,1;5,0)* 6,0(3,0;8,2)
$К_{оиа,}$	169,7(148,0;177,0) 163,0(155,8;186,0)	173,5(167,0;178,8) 173,8(163,4;179,4)
ЭР	26,8(17,0;36,1) 16,9(13,0;40,0)	24,2(11,0;37,0) 23,0(11,5;42,5)
КП	4,3(2,8;8,3) 6,2(2,5;7,6)	5,2(3,2;9,9) 3,7(2,5;9,8)

Примечание: под чертой – показатели соответствующей контрольной группы; * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при p<0,05.

При тестировании в водном лабиринте Морриса среди самок из потомства, полученного при спаривании в отдаленном периоде после экспозиции дымом, 35% не справились с тестом, то есть не смогли найти платформу за 4 попытки (p=0,009; табл. 18), что может свидетельствовать о нарушении процессов пространственной памяти и способности к обучению.

Таблица 18 – Показатели тестирования в водном лабиринте Морриса потомства, полученного при спаривании в отдаленном периоде после экспозиции дымом, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования	
	Самцы, n=20	Самки, n=20
ЛП поиска скрытой платформы, с	21,0(11,7;27,2) 18,8(15,5;40,3)	22,2(13,3;32,2) 13,5(10,7;20,3)
Количество животных, выполнивших тест, %,	66,7 81,8	65,0* 100,0

Примечание: под чертой - показатели соответствующей контрольной группы; * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при p < 0,05.

При гистологическом и морфометрическом исследовании ткани коры головного мозга у потомства белых крыс, полученного при спаривании в

отдаленном периоде после экспозиции дымом, не выявлено значимых отличий при сравнении с контролем.

Таким образом, полученные нами результаты экспериментального исследования свидетельствуют о том, что при воздействии дыма лесного пожара происходит значительное нарушение репродуктивного потенциала белых крыс, выражавшееся в снижении индекса сперматогенеза, сокращении процентного содержания сперматогониев, а также снижении относительного количества клеток Лейдига и нарушении циклической функции яичников белых крыс, а также инициируются патологические процессы в нервной ткани животных, приводящие к стойким нарушениям структуры видоспецифического поведения. Проведённые нами исследования позволяют высказать утверждение о том, что нарушения мужского репродуктивного потенциала при длительном воздействии дымом лесного пожара, являются первичным звеном в процессе нарушений нейробиологии поведения потомства.

Следует отметить, что проблема изучения длительного воздействия на отцов стрессовых факторов мало изучена. В целом, оценивая полученные результаты, можно заключить, что восстановительный период длительностью 2 месяца, безусловно, играет важную роль в предупреждении негативных эффектов экспозиции дымом у потомства. Несмотря на то, что при спаривании самцов в отдаленном периоде, когда сменился полный цикл сперматогенеза, у потомства наблюдались изменения в видоспецифическом поведении, хотя и заметно менее выраженные. Данный факт свидетельствует, по нашему мнению, о длительном сохранении информации в мужской репродуктивной системе неблагоприятных эффектов воздействия дыма, обусловленных, вероятно, изменением генома и/или эпигенома мужских половых клеток. Причиной этого может быть высокий окислительный потенциал твердых частиц в составе дыма лесных пожаров и наличие в нем потенциальных газообразных генотоксикантов.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЛОВЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ РОДИТЕЛЬСКОГО ПОКОЛЕНИЯ И ИХ РОЛИ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ У ПОТОМСТВА

5.1. Сравнительная характеристика уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках нервной ткани, половых клетках и крови белых крыс, после воздействия дыма лесного пожара

Результаты проведенного исследования показали, что исследованные образцы крови, мозга, семенников и яичников имеют разный уровень метилирования ДНК, как в норме, так и после воздействия продуктов горения. При обследовании животных сразу после воздействия дымом лесного пожара выявлено статистически значимое повышение уровня полногеномного метилирования ДНК в крови самцов белых крыс (p=0,02; табл. 19). У самок повышение данного показателя имело характер тенденции (p=0,06; табл. 19). Изменений уровня полногеномного метилирования ДНК в тканях мозга и гонад экспонированных животных не выявлено.

Таблица 19 – Уровень полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, нервной ткани и гаметах белых крыс, подвергавшихся воздействию дымом лесного пожара, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования			
	Самцы		Самки	
	опыт	контроль	опыт	контроль
Кровь	63,8(60,2;79,1)*	43,5(32,9;54,9)	57,4(50,7;65,9)	48,3(37,3;52,3)
Мозг	58,7(50,3;70,9)	44,1(29,7;52,2)	41,6(25,5;59,7)	31,8(24,0;56,5)
Гаметы	60,0(45,2;71,0)	48,8(34,7;54,4)	62,7(42,1;67,6)	42,2(25,3;51,2)

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$. Количество животных в группе n=10.

В отдаленном периоде после воздействия дымом лесного пожара статистически значимых отличий по уровню полногеномного метилирования ДНК во всех исследуемых биообразцах от экспонированных животных не выявлено (табл. 20).

Таблица 20 – Уровень полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, нервной ткани и семенниках белых крыс, в отдаленном периоде после воздействия дымом лесного пожара, Me(LQ;UQ)

Показатели	Варианты исследования	
	Самцы опыт	Самцы контроль
Кровь	48,8(34,7;54,4)	42,0(20,9;67,9)
Мозг	45,1(29,8;53,2)	41,7(26,5;59,9)
Семенники	42,86(37,39;54,6)	62,0(50,9;67,94)

Несмотря на наличие в составе дыма лесных пожаров веществ с мутагенной и канцерогенной активностью (Ewa, Danuta, 2017; Kopp et al., 2018; Liu et al., 2018; Muthusamy et al., 2018), воздействие дыма лесных пожаров не вызвало изменений уровней полногеномного метилирования ДНК в половых клетках белых крыс при обследовании сразу и через 60 дней после воздействия. В то же время в клетках крови животных сразу после окончания экспозиции выявлено гиперметилирование ДНК по сравнению с контролем. Наличие изменений уровня полногеномного метилирования ДНК в крови у животных и их отсутствие в половых клетках, по нашему мнению, может быть обусловлено как защитными свойствами гематотестикулярного барьера в семенниках (Miller, Cherrington, 2018), так и недостаточными для развития ответа организма уровнем и сроком воздействия токсичных компонентов дыма. Так, в исследовании Schuller A. (2021) показано, что при более длительном воздействии дыма от тления хвои пихты (40 дней), возникают изменения уровня метилирования ДНК сперматозоидов у взрослых мышей. Кроме того, при отсутствии изменений уровня полногеномного метилирования ДНК в половых клетках родительского поколения можно предположить, что эпигенетические модификации ДНК могли произойти на уровне отдельных генов, что определяет необходимость более углубленного исследования выявленных фактов. Тогда как кровь, омывая альвеолы с загрязненным воздухом, непосредственно контактирует с ксенобиотиками, подвергая клетки их токсическому воздействию (Adetona et al., 2016; Reid et al., 2016; DeFlorio-Barker et al., 2019).

5.2. Оценка прогностического значения уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови экспонированных дымом животных

В результате проведенного исследования в условиях экспериментального моделирования получен комплекс данных о влиянии дыма лесного пожара на показатели видоспецифического поведения, когнитивных функций, морфоструктурных изменений сенсомоторной коры головного мозга, а также репродуктивного потенциала и эпигенетических модификаций ДНК в половых и соматических клетках белых крыс. С целью определения наиболее информативных показателей, которые в первую очередь обусловливают межгрупповые различия, был использован многофакторный дискриминантный анализ.

По результатам дискриминантного анализа из исходного комплекса признаков в модель были включены только 2 наиболее информативных показателя, позволивших разграничить животных подвергавшихся воздействию дыма и контрольных особей: a_1 – эмоциональная реактивность (p=0,0001); a_2 – уровень полногеномного метилирования ДНК в крови (%) (p=0,0001, таблица 21). В проанализированных нами выборках экспонированных крыс различия самок и самцов по данным показателям выражены слабо, что позволило проводить дальнейший анализ без разделения по половому признаку.

Таблица 21 - Показатели информативности признаков, включенных в дискриминантные функции для групп экспонированных дымом животных и животных контрольной группы

№	Показатели	Лямбда-Уилкса	Значения F-критерия	P-уровень
a_1	Эмоциональная реактивность	0,78	39,5	0,0001
a_2	Уровень полногеномного метилирования ДНК в крови (%)	0,57	17,5	0,0001

Дискриминантные функции D_1 и D_2 (корень 1 и корень 2) имели следующий вид:

$$D_1=0,29\times a_1+0,56\times a_2-24,5;\ D_2=0,16\times a_1+0,41\times a_2-12,1;$$

где: D_1 и D_2 – значения дискриминантной функции; (–)24,5 и (–)12,1 – константы; a_1 и a_2 – числовые значения эмоциональной реактивности и уровня полногеномного метилирования ДНК в крови (%); 0,29; 0,56; 0,16 и 0,41 – коэффициенты, вычисленные с помощью дискриминантного анализа.

Для определения принадлежности неизвестных особей к одной из групп (экспонированных или неэкспонированных дымом) можно использовать данные дискриминантные функции. При использовании в данных уравнениях численных значений показателей эмоциональной реактивности и уровня метилирования ДНК в крови неизвестного объекта можно решить задачу классификации. Критерием определения групповой принадлежности неизвестной особи является максимальное из всех полученных значение классификационной функции.

Качество дискриминации оценено по графику распределения особей данных групп по значению дискриминантной функции, данным классификационной таблицы и матрицы межгрупповых расстояний Махаланобиса. Анализ значений искомой функции показал, что средние значения центров распределения канонических величин у экспонированных дымом крыс составили – (-)1,09; в группе контрольных крыс – (+)1,31 (рис. 14).

Точность дискриминации экспонированных дымом животных составила 87,5%, неэкспонированных – 85,0%. Расстояние между центроидами групп в пространстве дискриминатных функций (расстояния Махалонобиса) составило 5,7 усл. ед с уровнем статистической значимости $p<0,0001$.

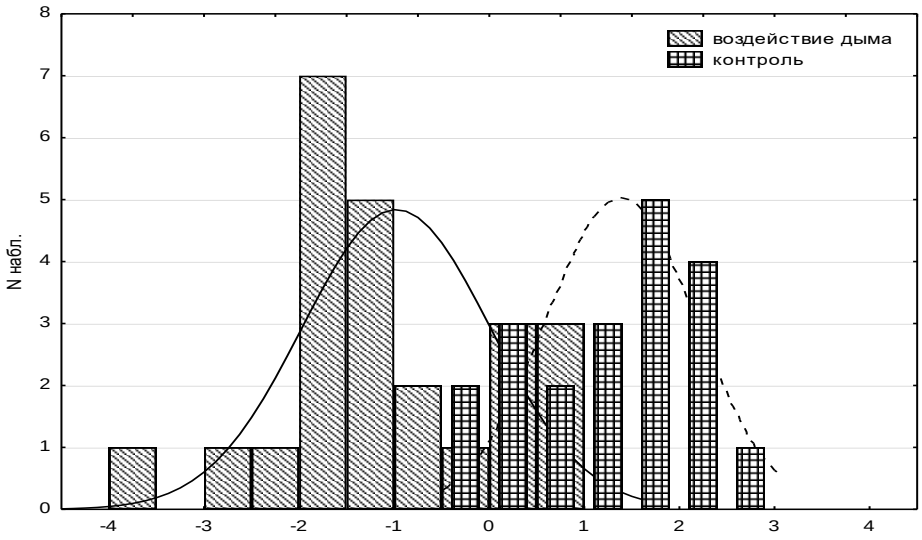

Рисунок 14 – Гистограмма распределения животных экспонированных дымом иконтрольной группы по значению канонической дискриминантной функции

Таким образом, критериями, по которым можно дифференцировать животных, подвергавшихся воздействию дыма из общей популяции, являлись не только показатели поведения, а именно их эмоциональной реактивности, но и показатели полногеномного метилирования ДНК в крови. В настоящее время особое внимание уделяется внедрению и разработке биотестов для оценки генотоксичности (Mutatox test, GreenScreen EM, метод ДНК-комет и др.), в то же время известно, что эпигенетические изменения, индуцированные экологическими факторами, могут формировать фенотипические реакций, передаваться потомству и являются важным источником наследственной изменчивости (Jablonka, Lamb, 2008). Результаты проведенного исследования показали, что определение уровня метилирования ДНК в крови крыс может использоваться в практике биомониторинга в качестве критерия биоиндикации, который будет отражать физиологические изменения у мелких млекопитающих вследствие лесных пожаров.

На основе полученных данных был проведен корреляционный анализ между эпигенетическими изменениями у крыс, подвергавшихся воздействию продуктами горения, и развитием нарушений поведения их потомства.

Проведение корреляционного и регрессионного анализа полученного массива данных позволило определить прогностическое значение уровня метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения при оценке показателей тревожности и исследовательского поведения у потомства. Выявлена высокозначимая умеренная корреляция между уровнем метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения с показателями тревожности у потомства («фризинг» r=0,41; t=3,34; n=57; p=0,002; табл. 22). На рисунке 15 представлена сила корреляционной связи и ее направленность.

Таблица 22 – Результаты линейного регрессионного анализа

Показатели	Уровень полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, %		
	Значение коэффициента корреляции r	Значение коэффициента детерминации R^2	p – уровень значимости
Количество актов «фризинг»	0,41	0,169	0,002
Коэффициент подвижности	-0,33	0,112	0,012
Эмоциональная реактивность	0,29	0,085	0,030

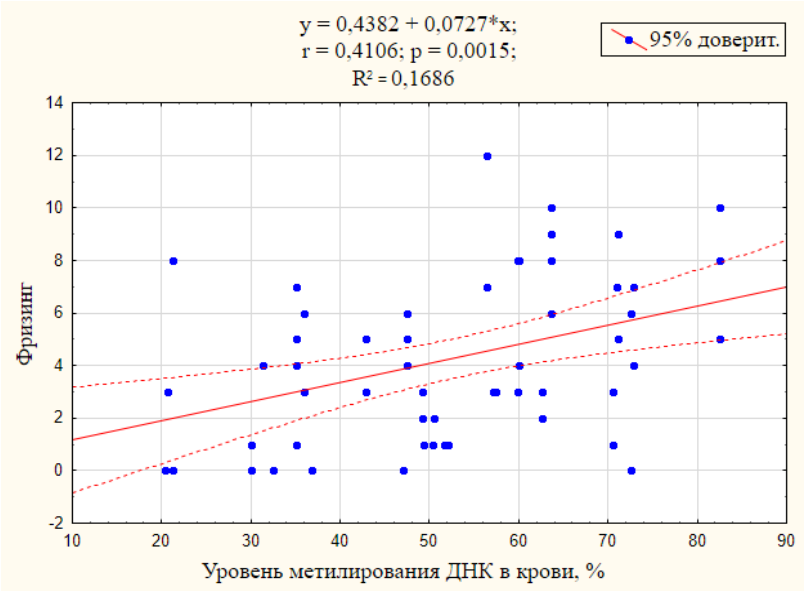

Рисунок 15 - Диаграмма рассеяния. Умеренная прямая корреляционная связь уровня метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения и показателя тревожности у потомства

При анализе зависимости коэффициента подвижности потомства от уровня полногеномного метилирования ДНК в крови родительского поколения была выявлена отрицательная связь данных показателей умеренной силы с высокой степенью достоверности (r = - 0,33, t=-2,61; n=57; p=0,012; табл. 22, рис. 16).

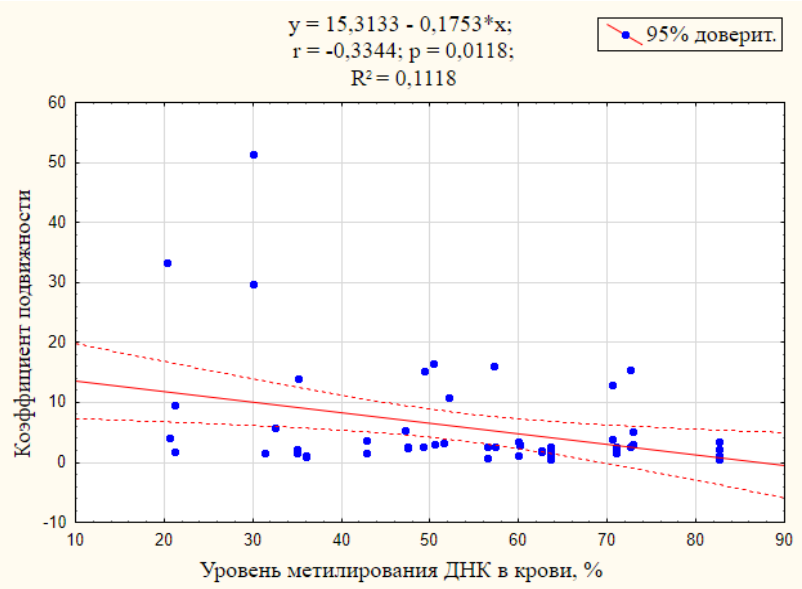

Рисунок 16 - Диаграмма рассеяния. Умеренная обратная корреляционная связь коэффициента подвижности потомства и уровня полногеномного метилирования ДНК в крови родительского поколения

Уровень эмоциональной реактивности потомства и уровень полногеномного метилирования ДНК крови родителей имели гораздо меньшую степень корреляционной взаимосвязи: коэффициент корреляции r составил 0,29 (t=2,23; n=56; p=0,029, табл. 22, рис. 17).

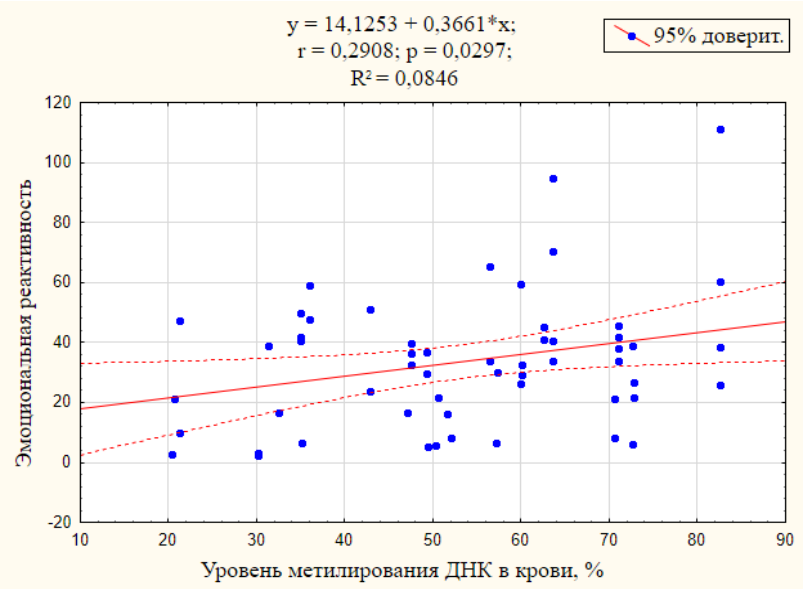

Рисунок 17 - Диаграмма рассеяния. Умеренная прямая корреляционная связь коэффициента эмоциональной реактивности потомства и уровня полногеномного метилирования ДНК в крови родительского поколения

Проведение регрессионного анализа позволило оценить связь между уровнем метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения и показателями тревожности («фризинг» R^2=0,169 и «ЭР» R^2=0,085) и двигательной активности у потомства («КП» R^2=0,112). Таким образом, вклад уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения в вариацию показателей поведения их потомства составил 8–17%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К числу приоритетных мировых проблем на современном этапе относят ущерб, наносимый экологическому сообществу неуклонным ростом масштабных лесных пожаров и их влияние на сохранение биоразнообразия. Одним из важнейших факторов, неблагоприятно влияющих на здоровье и поведение, а также на демографию популяций диких животных, являются продукты горения органических веществ, которые могут распространяться на тысячи километров, и тем самым ухудшать качество воздуха (Sapkota et al., 2005). Основная опасность заключается в том, что при горении в атмосферу выбрасываются опасные для здоровья животных вещества (дым, содержащий канцерогенные вещества, сажа, пыль) и летучие продукты пиролиза (Cope, 2020). Учитывая высокое содержание в составе дыма лесных пожаров потенциальных репро- и генотоксикантов нами была поставлена цель - оценить воздействие дыма лесного пожара в условиях экспериментального моделирования на организм мелких млекопитающих на примере белой крысы. Было проведено комплексное исследование, включающее токсикологические, патоморфологические и статистические методы исследования. В результате экспериментального исследования установлено, что влияние дыма лесного пожара на мелких млекопитающих можно оценить с помощью разработанной модели лесного пожара. В ходе исследований были выявлены нарушения функционального состояния мужского репродуктивного потенциала, выражавшиеся в снижении индекса сперматогенеза, сокращении процентного содержания сперматогониев, а также снижении относительного количества клеток Лейдига. Результаты морфометрического исследования яичников свидетельствуют о большей резистентности репродуктивной системы самок к воздействию дыма лесного пожара по сравнению с самцами. У животных, подвергавшихся воздействию дыма, выявлены нарушения нейробиологии поведения, характеризующиеся снижением двигательной и исследовательской активности, нарушением когнитивных способностей. При этом в структуре ткани

сенсомоторной коры головного мозга обнаружены множественные очаги нейронофагии, увеличение количества дегенеративно изменённых нейронов, образование глиальных узелков и расширение периваскулярных пространств. У потомства первого поколения, полученного от белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма, выявлено снижение выживаемости и стойкие изменения структуры поведения, что дает возможность прогнозировать динамику численности данной популяции на определенный период времени, а также может свидетельствовать о снижении биотического потенциала данного вида в будущем. Отдаленный период, длительностью 60 дней и сопоставимый со сроком сперматогенеза у крыс, является важным фактором в восстановлении мужской генеративной функции и предупреждении негативных эффектов экспозиции дымом у потомства, однако не является достаточным для нормализации поведенческих реакций экспонированных дымом животных. Воздействие дыма лесного пожара приводит к повышению уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови белых крыс при отсутствии изменений данного показателя в тканях мозга и гонад. Уровень полногеномного метилирования ДНК в крови может использоваться в практике экологического мониторинга в условиях лесных пожаров в качестве дополнительного критерия биоиндикации, отражающего физиологические изменения у мелких млекопитающих.

ВЫВОДЫ

1. При проведении качественного анализа дыма, выделяющегося при горении биомассы, взятой на территории бореальных лесов Прибайкальского Национального парка в воздухе экспозиционной камеры идентифицировано 30 соединений различных классов: гетероциклические альдегиды, терпены, производные терпена, ароматические углеводороды и фенолы. Отмечено значительное выделение фурфурола, α-пинена, 5-метил-2-фуральдегида, лонгифолена, δ-кадинена, ацетальдегида, формальдегида, пропионового альдегида и диацетила. Концентрации CO, $PM_{2,5}$, бензола, фурфурола и ацетальдегида составили 27,5±1,2, 1,9±0,5, 0,39±0,10, 0,18±0,06 и 0,65±0,12 мг/м^3, что превышает ПДКм.р. в 5,5, 11,8, 1,3, 3,6 и 65 раз.

2. Дым лесного пожара вызывает нарушение функционального состояния половых гонад мелких млекопитающих, которое проявляется в снижении индекса сперматогенеза на 22,7% и нарушении циклической функции яичников. Восстановление показателей сперматогенеза у экспонированных дымом животных наблюдается после завершения полного цикла сперматогенеза, что играет важную роль в предупреждении негативных эффектов экспозиции дымом у потомства.

3. Экспозиция продуктами горения лесной биомассы приводит к снижению выживаемости потомства первого поколения на 32–37%, а также к нарушению у него в половозрелом возрасте видоспецифического поведения, выражающегося в снижении двигательной и исследовательской активности, повышении уровня негативного эмоционального состояния и нарушении пространственной памяти.

4. Воздействие дыма на мелких млекопитающих сопровождается снижением двигательной и исследовательской активности, нарушением когнитивных способностей на фоне нейродегенератиных изменений ткани коры головного мозга. Более чувствительными к воздействию дыма являются самки.

5. У особей мужского пола, подвергавшихся воздействию дыма лесного пожара, выявлено повышение уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови на 46,7%, что может служить критерием биоиндикации неблагоприятного воздействия дыма лесных пожаров.

6. Снижение двигательной активности и повышение эмоциональной реактивности у потомства на 8–17% могут быть обусловлены эпигенетическими модификациями у родительского поколения, индуцированными токсическими компонентами дыма.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПНП – Прибайкальский Национальный парк

ПФБГА – о-пентафторбензилгидроксиламина

ИУ – индекс удержания

ПДК – предельно допустимая концентрация

ЛГМ – лесные горючие материалы

РГМ – растительные горючие материалы

ЦНС – центральная нервная система

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ГДА – горизонтальная двигательная активность

ВДА – вертикальная двигательная активность

Коиа – коэффициент ориентировочно-исследовательской активности

КП – коэффициент подвижности

ЭР – эмоциональная реактивность

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белых, Л.И. Влияние лесных пожаров на численность популяций охотничьей фауны на территории Иркутской области / Л.И. Белых, Е.А. Садовская // XXI век. Техносферная безопасность. – 2021. – Т. 6. – №1. – С. 9–28. DOI: 10.21285/2500–1582–2021–1–9–28.
2. Белых, Л.И. Опасность лесных пожаров для охотничье–промысловых животных на территории Ольхонского района Иркутской области / Л.И. Белых, Е.С. Терентьев // XXI век. Техносферная безопасность. – 2019. – Т. 4. – №3. С. 268–282. DOI: 10.21285/2500–1582–2019–3–268–282.
3. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон // – М.: Высшая школа, 1991. – С. 390
4. Волчатова, И.В. Пожары растительности как фактор снижения объема экосистемных услуг лесов особо охраняемых природных территорий / И.В. Волчатова // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. –2019. – № 6. – С. 79–91. DOI: 10.17238/issn0536–1036.2019.6.79.
5. Воронова, О.С. Аномальные пожары на территории Сибири летом 2019 г. / О.С. Воронова, А.Л. Зима, В.Л. Кладов [и др.] // Исследование Земли из космоса. М.: Издательство РАН, 2020. – С. 70–82.
6. Гераськина, А.П. Пожары как фактор утраты биоразнообразия и функций лесных экосистем / А.П. Гераськина, Д.Н. Тебенькова, Д.В. Ершов [и др.] // Вопросы лесной науки. – 2021. – Т 4. – № 2. – Статья №82. – С. 1–76. DOI 10.31509/2658–607x–202142–11.
7. Гонгальский, К.Б. Лесные пожары и почвенная фауна / К.Б. Гонгальский // М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – С. 169.
8. Горчаков, Г.И. Крупномасштабные дымки Евразии летом 2016 г. / Г.И. Горчаков, С.А. Ситнов, Е.Г. Семутникова // Исследование Земли из космоса. – 2018. – №1. – С. 1–16.
9. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области в 2019 году». – Иркутск: ООО «Мегапринт», 2020. – С. 314.

10. Государственный доклад «О состоянии озера Байкал и мерах по его охране в 2016 году». – Иркутск: ИНЦХТ, 2017. – С. 374.
11. Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области в 2014 году: Иркутск: Форвард, 2015. – С. 328.
12. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер // Л: Медицина, 1978. – С. 296.
13. Другов, Ю.С., Зенкевич, И.Г., Родин А.А. Газохроматографическая идентификация загрязнений воздуха, воды, почвы и биосред: Практическое руководство / Ю.С. Другов, И.Г. Зенкевич, А.А. Родин // – 2изд., перераб. и доп. – М: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – С. 752.
14. Дурнев, А.Д. Оценка генотоксических свойств методом ДНК–комет in vitro МР 4.2.0014–10 / А.Д Дурнев, А.К. Жанатаев, Н.П. Сирота, В.П. Тихонов [и др.] // Методические рекомендации. М.: Федер. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – С. 15.
15. Дыржинов, Ж.Д. Почвы сосновых боров Селенгинского дельтового района и их трансформации под влиянием пожаров / Ж.Д. Дыржинов, А.Б. Гынинова // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». – 2014. – Т. 9. – С. 95–104.
16. Закс, Л. Статистическое оценивание. / Л. Закс // Статистика, 1976. – С. 598.
17. Залесов, А.С. Классификация лесных пожаров. Методические указания / А.С. Залесов. – Екатеринбург: Изд–во УГЛТУ, 2011. – С. 15.
18. Заяханов, А. С. Влияние динамических процессов на колебания озона и других следовых газов вблизи прибрежной зоны озера Байкал / А.С. Заяханов, Г.С. Жамсуева, В.В. Цыдыпов [и др.] // Оптика атмосферы и океаны. – 2015. – №28. – С. 505–511.
19. Заяханов, А.С. Особенности переноса и трансформации аэрозольных и газовых примесей в атмосфере в прибрежной зоне озера Байкал. / А.С. Заяханов, Г.С. Жамсуева, В.В. Цидыпов [и др.] // Оптика атмосферы и океаны. – 2018. – №31. – С. 968–973.

20. Звягинцев, А.М. Загрязнение воздуха на европейской части России и Украине в условиях жаркого лета 2010 г. / А.М. Звягинцев, О.Б. Блюм, А.А. Глазкова [и др.] // Известия РАН. Физика атмосферы и океана. 2011. – Т. 47(6). – С. 757–766.
21. Изместьева, Л.Р. Общеземные физические и биологические тенденции, связанные с потеплением в озере Байкал / Л.Р. Изместьева, М.В. Мур, С.Е. Хэмптон [и др.] // Великие озера. – 2016. – № 42. – С. 0380–1330.
22. Ильяшенко, В.Б. Мелкие млекопитающие как объект биомониторинговых исследований на территории Кемеровской области / В.Б. Ильяшенко, Е.М. Лучникова, Н.В. Скалон // Вестник Кемеровского государственного университета. – 2015. – Т. 3. – № 4(64). – С. 25–30.
23. Исаев, А.С. Экологические проблемы поглощения углекислого газа посредством лесовосстановления и лесоразведения в России. Аналитический обзор / А.С. Исаев, Г.Н. Коровин, В.И. Сухих [и др.] // М.: Центр экологической политики России, 1995. – С. 155.
24. Исмайлова, Х.Ю. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы) / Х.Ю. Исмайлова, Т.М. Агаев, Т.П. Семенова // Баку: «Нурлан», 2007. – С. 228.
25. Климат Прибайкальского национального парка [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://baikal–1.ru/specialists/pribaikalsky/climate/ (дата обращения: 13 января 2022 г.).
26. Контролируемые пожары: плюсы и минусы. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://znanie–svet.ru/kontroliruyemyye–pozhary/ (дата обращения: 13 января 2022 г.).
27. Коржевский, Д.Э. Краткое изложение основ гистологической техники для врачей и лаборантов–гистологов / Д.Э. Коржевский // – СПб.: Кроф, 2005. – С. 48.

28. Летопись природы Государственного природного заповедника «Байкало–Ленский» и Прибайкальского национального парка за 2017 г. – Иркутск: ФГБУ «Заповедное Прибайкалье», 2018. – С. 463.
29. Летопись природы Государственного природного заповедника «Байкало–Ленский» и Прибайкальского национального парка за 2018 г. – Иркутск: ФГБУ «Заповедное Прибайкалье», 2019. – С. 423.
30. Летопись природы Государственного природного заповедника «Байкало–Ленский» и Прибайкальского национального парка за 2019 г. – Иркутск: ФГБУ «Заповедное Прибайкалье», 2020. – С. 380.
31. Лупян, Е.А. Спутниковый мониторинг лесных пожаров в 21 веке на территории Российской Федерации (цифры и факты по данным детектирования активного горения) / Е.А. Лупян, С.А. Барталев, И.В. Балашов [и др.] // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. – 2017. – Т. 14. – №6. – С. 158–175. DOI: 10.21046/2070–7401–2017–14–6–158–175.
32. Мониторинг природных пожаров. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.scanex.ru/cloud/karta–pozharov/ (дата обращения 9 декабря 2021 г.).
33. Панов, А.В. Комплексный подход в оценке эмиссии углеродсодержащих газов от лесных пожаров в Сибири / А.В. Панов, А.С. Прокушкин, А.В. Брюханов [и др.] // Метеорология и гидрология 2018. – Т.5. – С. 30–39.
34. Пожары в Иркутской области в 2019 году уничтожили 1,5 млн га леса. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://tass.ru/ (дата обращения: 7 декабря 2021).
35. Пономарев, Е.И. Спутниковое детектирование лесных пожаров и геоинформационные методы калибровки результатов / Е.И. Пономарев, Е.Г. Швецов // Исследования Земли из космоса. – 2015. – № 1. – С. 84–91.
36. Прибайкальский национальный парк [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://baikal–1.ru/territory/pribaikalsky/ (дата обращения: 13 января 2022 г.).

37. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва // – М.: Медиа Сфера, 2002. – С. 312.
38. Руководство по гистологии / Под ред. Р. К. Данилова, В. Л. Быкова – СПб.: СпецЛит, 2001. – С. 495.
39. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – М.: ОАО Издательство «Медицина», 2005. – С. 832.
40. Семенов, М.Ю. Распределение источников полициклических ароматических углеводородов в воде озера Байкал и прилегающем воздушном слое / М.Ю. Семенов, И.И. Маринайте, Л.П. Голобокова [и др.] // Хим. Экол. – 2017. – №33. – С. 977–990.
41. Сочавы, В.Б. Экологический атлас бассейна озера Байкал. / В.Б. Сочавы // Изд–во Института географии. // СОРАН, 2015 – Иркутск. – С. 145.
42. Спутниковый мониторинг пожаров на Дальнем Востоке. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://fires–dv.kosmosnimki.ru (дата обращения 9 декабря 2021 г.).
43. Спутниковый мониторинг пожаров на Дальнем Востоке. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://fires–dv.kosmosnimki.ru/ (дата обращения 14 декабря 2021 года).
44. Федеральное агентство лесного хозяйства. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://aviales.ru (дата обращения 9 декабря 2021 г.).
45. Швиденко, А.З. Изменение климата и лесные пожары в России / А.З. Швиденко, Д.Г. Щепащенко // Презрение. Пробл. Экол. – 2013. – № 6. – С. 683–692.
46. Adame, J.A. Study of the exceptional meteorological conditions, trace gases and particulate matter measured during the 2017 forest fire in Doñana Natural Park, Spain / J.A. Adame, L. Lope, P.J. Hidalgo [et al.] // Science of the Total

Environment. – 2018. – Vol. 645. – P. 710–720. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.181.

47. Adetona O. Review of the health effect of wildlend fire smoke on wildland firefighters and the public / O. Adetona, T.E. Reinhardt [et al] // Inhalation toxicology. – 2016. – Vol. 28(3). – P. 95–139. DOI: 10.3109/08958378.2016.1145771.
48. Aikawa, H. Sex difference in operant behavior following single exposure to carbon monoxide in adult rats. / H. Aikawa, K. Miyake, H. Momotani, S. Shigeta // Sangyoigaku. Japanese journal of industrial health. – 1990. – Vol. – 32(1). P. 26–32 DOI: 10.1539/joh1959.32.26.
49. Air quality monitoring in Moscow, 2010. Newsletter WHO collaborating Centre for Quality Management and Air Pollution Control at the Federal Environment Agency. Germany, 2010. – Vol. 46. – P. 9–14.
50. Alen, R., Kuoppala, E., Oesch, P. Formation of the main degradation compound groups from wood and its components during pyrolysis / R. Alen, E. Kuoppala, P. Oesch // Jo rnal of Analytical and Applied Pyrolysis. – 1996. – Vol. 36(2). – P. 137–148. DOI: 10.1016/0165–2370(96)00932–1.
51. Amendola, L.U. nderstanding rat emotional responses to CO_2 / L.U Amendola, Weary, D.M. // Transl Psychiatry. – 2020. – Vol. 10. – P. 253. DOI: 10.1038/s41398–020–00936–w.
52. Anderson, A.A. Effects of particulate matter on health and production of dairy cattle / A.A. Anderson, P.Rezamand, A.Ahmadzadeh [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2021. – Vol. 103(1). – P. 283.
53. Artaxo, P. Fine mode aerosol composition at three long–term atmospheric monitoring sites in the Amazon Basin / P. Artaxo, F. Gerab, M.A. Yamasoe [et al.] // Journal of Geophysical Research. – 1994. – Vol. 99(D11). – P. 22. 857–868. DOI: 10.1029/94jd01023.
54. Battye W., Battye, R. Development of Emissions Inventory Methods for Wildland Fire (Final Report) / W. Battye, R. Battye // Research Triangle Park NC. – 2002.

55. Bergh A. Local differences in Leydig cell morphology in the adult rat testis: evidence for a local control of Leydig cells by adjacent seminiferous tubules. / A. Bergh, J. Androl. // – 1982. – Vol. 5(3). – P. 325–30. DOI:10.1111/j.1365–2605.1982. tb00261.x.
56. Black, C. Early life wildfire smoke exposure is associated with immune dysregulation and lung function decrements in adolescence / C. Black, J.E. Gerriets, J.H. Fontaine [et al.] // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. – 2017. – Vol. 56(5). – P. 657–666.
57. Black, C. Wildfire smoke exposure and human health: Significant gaps in research for a growing public health issue / C.Black, Y.Tesfaigzi, J.A.Bassein [et al.] // Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2017. – Vol. 55. – P. 186–195. DOI:10.1016/j.etap.2017.08.022.
58. Blake, D. Peat fires and air quality: Volatile organic compounds and particulates / D. Blake, A.L. Hinwood, P.Horwitz // Chemosphere. – 2009. – Vol. 76(3). – P. 419–423. DOI:10.1016/j.chemosphere.2009.03.047.
59. Brown, R.E. The avian respiratory system: a unique model for studies of respiratory toxicosis and for monitoring air quality / R.E. Brown, J.D Brain, N. Wang // Environmental Health Perspectives. – 1997 – Vol. 105(2) – P. 188–200. DOI: 10.1289/ehp.97105188.
60. Carey, M.A. The impact of sex and sex hormones on lung physiology and disease: lessons from animal studies / M.A. Carey, J.W. Card, J. W.Voltz [et al.] // American Journal of Physiology–Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2007. – Vol. 293(2). – P. 272–278. DOI:10.1152/ajplung.00174.2007.
61. Cheyne, S.M. Effects of meteorology, astronomical variables, location and human disturbance on the singing apes: Hylobatesalbibarbis / S.M. Cheyne // American Journal of Primatology. – 2008. – Vol. 70(4). – P. 386–392. DOI: 10.1002/ajp.20502.
62. Collins, B.M. Stand–replacing patches within a «mixed severity» fire regime: quantitative characterization using recent fires in a long–established natural fire area

/ B.M. Collins, S.L. Stephens // Landscape Ecology. – 2010. – Vol. 25. – P. 927–939.

63. Cope R.B. Overview of Smoke Inhalation. (accessed on 24 January 2022); Available online: https://www.msdvetmanual.com/toxicology/smoke–inhalation/overview–of–smoke–inhalation.
64. Corbin, T.A. Short-term effects of a wildfire on the water quality and macroinvertebrate community of a saline stream / T.A. Corbin // Int. J. Wildl. Fire. – 2012. – Vol. 21. – P. 537.
65. Coudrat, C.N.Z. Singing Patterns of White–Cheeked Gibbons (Nomascus sp.) in the Annamite Mountains of Laos / C.N.Z. Coudrat, C. Nanthavong, D. Ngoprasert [et al.] // International Journal of Primatology. – 2015. – Vol. 36(4). – P. 691–706. DOI:10.1007/s10764–015–9849–x
66. De Rigo, D Forest Fire Danger Extremes in Europe under Climate Change: Variability and Uncertainty / de Rigo, D., Libertà, G., Houston Durrant, T. [et al.] / Publications Office of the European Union. – Luxembourg, 2017. – P. 71.
67. Deeming J.E. The national fire–danger rating system / J.E. Deeming, F.W. Lancaster, M.A. Fosberg, R.W. Furman, M.J. Schnoeder // USDA Forest Service. Res. paper RM 84. 1972.
68. DeFlorio-Barker S. Cardiopulmonary Effects of Fine Particulate Matter Exposure among Older Adults, during Wildfire and Non-Wildfire Periods, in the United States 2008–2010./ S. DeFlorio-Barker, Crooks J. J, Reyes [et al.] // Environmental health perspectives. – 2019. Vol. 127(3). P. 37006. DOI:10.1289/EHP3860.
69. Dennekamp, M., Abramson, M.J. The effects of bushfire smoke on respiratory health / M. Dennekamp, M.J. Abramson // Respirology. – 2011. – Vol. 16(2). – P. 198–209. DOI:10.1111/j.1440–1843.2010.01868.x.
70. D'Hooge R. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory / R. D'Hooge, P.Deyn // Brain Res. Rev. – 2001. – Vol. 36 (1). – P.60–90.
71. Dickinson, M.B. Effects of wildland fire smoke on a tree–roosting bat: Integrating a plume model, fieldmeasurements, and mammalian dose–response relationships. /

M.B. Dickinson, J.C. Norris, A.S. Bova, R.L. Kremens [et al.] // Canadian Journal of Forest Research. – 2010. – Vol. 40(11). – P. 2187–2203. DOI: 10.1139/X10–148.

72. Donovan, P.J. The germ cell—the mother of all stem cells / P.J. Donovan // International Journal of Developmental Biology. – 1998. – №42. – P. 1043–1050.
73. Eid, B. The Impact of Bushfire Smoke on Cattle – A Review / B. Eid, D. Beggs, P. Mansell // Animals. – 2021. – Vol. 11(3). – P. 848. DOI: 10.3390/ani11030848.
74. Erb, W.M. Wildfire smoke impacts activity and energetics of wild Bornean orangutans / W.M. Erb, E.J. Barrow, A.N. Hofner [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8(1). – P. 1–8. DOI:10.1038/s41598–018–25847–1 2018.
75. Fann, N. The health impacts and economic value of wildland fire episodes in the U.S.: 2008–2012 / N. Fann, B. Alman, R. A. Broome [et al.] // Science of The Total Environment. – 2018. – Vol. 610–611. – P. 802–809. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.024.
76. Fine, P.M. Chemical characterization of fine particle emissions from fireplace combustion of woods grown in the northeastern United States / P.M. Fine, G.R. Cass, B.R. Simoneit // Environmental Science and Technology. – 2001. – Vol. 35(13). – P. 2665–2675.
77. Fisher, J.A. Sources, distribution, and acidity of sulfate–ammonium aerosol in the Arctic in winter–spring / J.A. Fisher, D.J. Jacob, Q.Q. Wang [et al.] // Atmos. Environ. – 2011. – Vol. 45. – P. 7301–7318.
78. Geiser, F.A burning question: what are the risks and benefits of mammalian torpor during and after fires? / F.A. Geiser, C. Stawski, A.C. Doty [et al.] // Conservation Physiology. – 2018. – Vol. 6(1). – P. 1–12. DOI:10.1093/conphys/coy057.
79. Gongalsky, K.B. Forest fire induces short-term shifts in soil food webs with consequences for carbon cycling / K.B. Gongalsky, A.S. Zaitsev, D.I. Korobushkin [et al.] // Ecology Letters. – 2020. 24(3):438-450. DOI:10.1111/ele.13657.
80. Gonino, G. Short-term effects of wildfire ash exposure on behaviour and hepatosomatic condition of a potamodromous cyprinid fish, the Iberian barbel Luciobarbusbocagei (Steindachner, 1864). / G. Gonino, E. Benedito, P. Branco,

M.T. Ferreira, J.M. Santos // The Science of the Total Environment. – 2019. – Vol. 665. – P. 226–234. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.108.

81. Gorbatova, D. M. Prenatal effects of peat combustion products and afobazole correction thereof in the rat progeny. / D. M. Gorbatova, E. P. Nemov, A. S. Solomina [et al.] // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2015. Vol.158. – P.654–658. DOI: 10.1007/s10517–015–2829–5.
82. Gorbatova, D. M. Afobazole protects rats exposed to peat smoke in utero. Bulletin of experimental biology and medicine. / D. M. Gorbatova, S. A. Litvinov, A. D Durnev [et al.] // – 2014; Vol. 158. – № 5. – P.614–619. DOI: 10.1007/s10517–015–2830–z.
83. Graham, R.T. Science basis for changing forest structure to modify wildfire behavior and severity / R.T. Graham, S. McCaffrey, T. Jain // Forest Service U.S. Department of Agriculture. – 2004. – P. 43. DOI: 10.2737/RMRS-GTR-120.
84. He, C.R. Characterisation of the impact of open biomass burning on urban air quality in Brisbane, Australia / C.R. He, B. Miljevic, L.R. Crilley [et al.] // Environmental International. – 2016. – Vol. 91. – P. 230–242.
85. Hemes, K. S. Wildfire-Smoke Aerosols Lead to Increased Light Use Efficiency Among Agricultural and Restored Wetland Land Uses in California's Central Valley. / J. Verfaillie, D. D. Baldocchi. // Journal of Geophysical Research: Biogeosciences. – 2020. – Vol. 125(2). DOI: 10.1029/2019JG005380.
86. Hessburg, P.F. Tamm review: management of mixed-severity fire regime forests in Oregon, Washington, and Northern California / P.F. Hessburg, T.A. Spies, D.A. Perry [et al.] // Forest Ecology and Management. – 2016. – Vol. 366. – P. 221–250.
87. Holm, S.M. Health effects of wildfire smoke in children and public health tools: a narrative review / S.M. Holm, M.D. Miller, J.R. Balmes // Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology. – 2020. – P. 1–20. DOI: 10.1038/s41370–020–00267–4.

88. Hougaard, K.S. A perspective on the developmental toxicity of inhaled nanoparticles. / K.S. Hougaard, L. Campagnolo, P. Chavatte–Palmer [et al.] // ReprodToxicol – 2015. Vol. 56. – P. 118–140. DOI:10.1016/j.reprotox.2015.05.01.
89. Isaev, A.S. Using Remote Sensing to Assess Russian Forest Fire Carbon Emissions / A.S. Isaev, G.N. Korovin, S.A. Bartalev [et al.] // Climatic Change. – 2002. – Vol. 55. – P. 235–249.
90. Jaafar, Z. Linking land, air and sea: potential impacts of biomass burning and the resultant haze on marine ecosystems of Southeast Asia / Z.Jaafar, T.L. Loh // Global Change Biology. – 2014. – Vol. 20(9). – P. 2701–2707. DOI: 10.1111/gcb.12539.
91. Jablonka, E. The epigenome in evolution: beyond the modern synthesis / E. Jablonka, M.J. Lamb // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12. – №1/2. С. 242–254.
92. Jaffe, D.A. Wildfire and prescribed burning impacts on air quality in the United States / D.A. Jaffe, S.M. O'Neill, N.K. Larkin, [et al.] // J Air Waste Manag Assoc.– 2020. –Vol. 70(6) – P. 583–615. DOI: 10.1080/10962247.2020.1749731.
93. Johnson, M.M. Uncertainty in health impact assessments of smoke from a wildfire event / M.M. Johnson, F. Garcia-Menendez // GeoHealth. –Vol. 6(1) – P. 1–15. DOI: 10.1029/2021GH000526.
94. Karthikeyan, S. Particulate Air Pollution from Bushfires: Human Exposure and Possible Health Effects / S. Karthikeyan, R. Balasubramanian, K. Iouri // Journal of Toxicology and Environmental Health. – 2006. – Vol. 69(21). – P. 1895–1908. DOI: 10.1080/15287390600751264.
95. Khodzher, T.V. Ship–Based Studies of Aerosol–Gas Admixtures over Lake Baikal Basin in Summer 2018 / T.V. Khodzher, G.S. Zhamsueva, A.S. Zayakhanov [et al.] // Atmos. Ocean. Opt. – 2019. – Vol. 32. – P. 434–441.
96. Khodzher, T.V. Study of Aerosol Nano– and Submicron Particle Compositions in the Atmosphere of Lake Baikal During Natural Fire Events and Their Interaction with Water Surface / T.V. Khodzher, V.A. Zagaynov, A.A. Lushnikov [et al.] // Water Air Soil Pollut. – 2021. – Vol. 232. – P. 266.

97. Kim, Y. Cardiopulmonary toxicity of peat wildfire particulate matter and the predictive utility of precision cut lung slices. / Y. Kim, Tong H, Daniels M [et al.] //– 2014. – Vol. 11:29. DOI: 10.1186/17438977–11–29.

98. Kok, E., Stoof, C. Country report for The Netherlands, in San-Miguel-Ayanz et al. (Eds), Forest Fires in Europe, Middle East and North Africa, 2020. DOI: 10.2760/216466, JRC1267665.

99. Kondo, M. Meta–Analysis of Heterogeneity in the Effects of Wildfire Smoke Exposure on Respiratory Health in North America / M. Kondo, A. De Roos, L. White [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2019. – Vol. 16(6). – P. 960. DOI: 10.3390/ijerph16060960.

100. Korytny, L., Gagarinova O. Around Baikal: on the causes of ecological problems / L. Korytny, O. Gagarinova // E3S Web of Conferences. IV Vinogradov Conference. – 2020. 163, 03009. – P. 1–6. DOI: 10.1051/e3sconf/202016303009.

101. Kunii, O. The 1997 Haze Disaster in Indonesia: Its Air Quality and Health Effects / O. Kunii, S. Kanagawa, I. Yajima [et al.] // Archives of Environmental Health. – 2002. – Vol. 57(1). – P. 16–22. DOI: 10.1080/00039890209602912.

102. Lee, B.P.Y.–H. Smoke pollution disrupted biodiversity during the 2015 El Niño fires in Southeast Asia / B.P.Y.–H. Lee, Z.G. Davies, M.J. Struebig // Environmental Research Letters. – 2017. – Vol. 12(9). – P. 1–7. DOI: 10.1088/1748–9326/aa87ed.

103. Liu, J.C. Particulate air pollution from wildfires in the Western US under climate change / J.C. Liu, L.J. Mickley, M.P. Sulprizio [et al.] // Climatic Change. – 2016. – Vol. 138(3–4). – P. 655–66. DOI: 10.1007/s10584–016–1762–6.

104. Losacco, C., Perillo, A. Particulate matter air pollution and respiratory impact on humans and animals / C. Losacco, A. Perillo // Environmental Science and Pollution Research. – 2018. – Vol. 25. – P. 33901–33910. DOI: 10.1007/s11356–018–3344–9.

105. Makkonen, U. Size distribution and chemical composition of airborne particles in south–eastern Finland during different seasons and wildfire episodes in 2006 / U. Makkonen, H. Hellén, P. Anttila [et al.] // Science of The Total Environment. – 2010. – Vol. 408(3). – P. 644–651. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.10.050.

106. Martin, R.V. Global and regional decreases in tropospheric oxidants from photochemical effects of aerosols / R.V. Martin, D.J. Jacob, R.M. Yantosca [et al.] // J. Geophys. Res. Space Phys. – 2003. – Vol. 108. – P. 4097.

107. Matthews, J.K. Torpor and basking after a severe wildfire: mammalian survival strategies in a scorched landscape / J.K. Matthews, C. Stawski, G. Körtner [et al.] // J Comp Physiol B. – 2017. – Vol. – 187(2). P. – 385–393. DOI:DOI:10.1007/s00360–016–1039–4.

108. Miller S.R. Transepithelial transport across the blood–testis barrier / S.R. Miller, N.J. Cherrington // Reproduction. – 2018. – Vol. 156(6). – P.187–194. DOI: 10.1530/REP–18–0338.

109. Monroe, M.C. Where There's Fire, There's Smoke: Air Quality & Prescribed Burning in Florida. IFAS Extension University of Florida / M.C. Monroe, A.C. Watts, L.N. – Kobziar. Gainesville, FL, USA, 1999. FOR 62:4.

110. Mori, H. Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis. / H. Mori, A.K. Christensen // J. Cell Biol. – 1980. Vol. 84(2). – P. 340–540. DOI: 10.1083/ jcb.84.2.340.

111. Morris R.G.M. Spatial localisation does not depend on the presence of local cues / R.G.M. Morris // Learning and Motivation. 1981. – Vol. 12. – P. 239–260.

112. O'Neill, S.M. A multi–analysis approach for estimating regional health impacts from the 2017 Northern California wildfires / S.M. O'Neill, M. Diao, S. Raffuse [et al.] // Journal of the Air & Waste Management Association. – 2021. – Vol. 71(7). – P. 791–814. DOI: 10.1080/10962247.2021.1891994.

113. Oliveira, M. Environmental Particulate Matter Levels during 2017 Large Forest Fires and Megafires in the Center Region of Portugal: A Public Health Concern? / M. Oliveira, C. Delerue–Matos, M.C. Pereira [et al.] // Int J Environ Res Public Health. – 2020. – Vol. 17(3). – P. 1032 DOI: 10.3390/ijerph17031032.

114. Phaneuf, D. Contamination of local wildlife following a fire at a polychlorinated biphenyls warehouse in St Basile le Grand, Quebec, Canada / D. Phaneuf, J.L.

DesGranges, N. Plante [et al.] // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. – 1995. – Vol. – 28(2). P. 145–153. DOI: 10.1007/bf00217609.

115. Phuleria, H.C. Air quality impacts of the October 2003 Southern California wildfires / H.C. Phuleria, P.M. Fine, Y. Zhu // Journal of Geophysical Research. – 2005. – Vol. 110(D7). – P. 1–11.DOI: 10.1029/2004jd004626.

116. Pinto, J.P., Grant, L.D. Approaches to Monitoring of Air Pollutants and Evaluation of Health Impacts Produced by Biomass Burning / J.P. Pinto, L.D. Grant // Health Guidelines for Vegetation Fire Events. – 1999. – P. 147–185.

117. Qi, L. Sources of springtime surface black carbon in the Arctic: An adjoint analysis for April 2008 / L. Qi, Q.B. Li, D.K. Henze [et al.] // Atmospheric Chemistry and Physics. – 2017. – Vol. 17. – P. 9697–9716.

118. Radke L.F. Airborne Studies of the Smokes from a Boreal Biomass Fire in Alaska, 1990 / L.F. Radke, P.V. Hobbs, J.D. Nance [et al.]. – Final Report to Intermountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, 1991. – P. 32.

119. Reid, C.E. Differential respiratory health effects from the 2008 northern California wildfires. / C.E. Reid, M. Jerrett, I.B. Tager [et al.] // A spatiotemporal approach. – 2016. Vol.150. P.227–235. DOI: 10.1016/j.envres.2016.06.012.

120. Reid, J.S. A review of biomass burning emissions part II: intensive physical properties of biomass burning particles / J.S. Reid, R. Koppmann, T.F. Eck [et al.] // Atmospheric Chemistry and Physics. – 2005. – Vol. 5(3). – P. 799–825. DOI: 10.5194/acp–5–799–2005.

121. Reisen, F. Wildfire smoke and public health risk / F. Reisen, S.M Duran, M. Flannigan // International Journal of Wildland Fire. – 2015. – Vol. 24(8). – P. 1029–1044. DOI: 10.1071/wf15034.

122. Saavedra-Rodriguez, L., Feig, L.A. Chronic social instability induces anxiety and defective social interactions across generations / L. Saavedra-Rodriguez, L.A. Feig // Biol. Psychiatry. – 2013. – Vol. 73. – P. 44–53.

123. Sanderfoot, O.V. Air pollution impacts on avian species via inhalation exposure and associated outcomes / O.V. Sanderfoot, T. Holloway // Environmental Research Letters. – 2017. – Vol. 12(8). – 083002.

124. Sanderfoot, O.V. Wildfire smoke affects detection of birds in Washington State / O.V. Sanderfoot, B. Gardner // Ornithological Applications. – 2021. – Vol. 123(3). – P. 1–14. DOI: 10.1093/ornithapp/duab028.

125. Schmarr, H.G. Analysis of carbonyl compounds via headspace solid-phase microectraction with on-fiber derivatization and gas chromatographic–ion trap tandem mass spectrometric determination of their O–(2,3,4,5,6–pentafluorobenzyl)oxime derivatives / H.G. Schmarr, T. Potouridis, S. Gans, W. Sang [et al.] // Anal. Chim. Acta. – 2008. – Vol. 617. – № 1–2. – P. 119–131.

126. Sharma, S. 16–year simulation of Arctic black carbon: Transport, source contribution, and sensitivity analysis on deposition / S. Sharma, M. Ishizawa, D. Chan [et al.] // Journal of Geophysical Research: Atmospheres. – 2013. – Vol. 118(2). – P. 943–964. DOI: 10.1029/2012jd017774.

127. Shive, K. Scaling stand–scale measurements to landscape–scale predictions of forest regeneration after disturbance: the importance of spatial pattern / K. Shive, H. Preisler, K. Welch [et al.] // Ecological Applications. – 2018. – Vol. 28. – P. 1626–1639.

128. Short, A.K. Elevated paternal glucocorticoid exposure alters the small noncoding RNA profile in sperm and modifies anxiety and depressive phenotypes in the offspring / A.K. Short, K.A. Fennel, V.M. Perreau, A. Fox [et al.] // Translational Psychiatry. – 2016. – Vol. 6(6). – P. 837. DOI: 10.1038/tp.2016.109.

129. Spindler C. Paternal physical exercise modulates global DNA methylation status in the hippocampus of male rat offspring / C. Spindler , E. Segabinazi, A.L. Ferreira de Meireles, F.V Piazza [et al.] // Neural Regen Res. 2019. – Vol. 14(3). – P. 491–500. DOI:10.4103/1673–5374.245473.

130. Stawski, C. The importance of mammalian torpor for survival in a post-fire landscape / C. Stawski, G. Körtner, J. Nowack [et. al] // BiolLett. – 2015. – Vol. 11(6). – P. 1–5. DOI: 10.1098/rsbl.2015.0134.

131. Steel, Z.L. The changing landscape of wildfire: burn pattern trends and implications for California's yellow pine and mixed conifer forests / Z.L. Steel, M.J. Koontz, H.D. Saffor [et al.] // Landscape Ecology. – 2018. – Vol. 33. – P. 1159–1176.

132. Stohl, A. Characteristics of atmospheric transport into the Arctic troposphere / A. Stohl // Journal of Geophysical Research. – 2006. – Vol. 111(D11). – P. 17. DOI: 10.1029/2005jd006888.

133. Sugaya N., Nakagawa T., Sakurai K. Analysis of Aldehydes in Water by Head Space–GC/MS / N. Sugaya, T. Nakagawa, K. Sakurai // Journal of Health Science. – 2001. – Vol. 47. – № 1. – P. 21–27.

134. Tan, Y.Q. Haze smoke impacts survival and development of butterflies / Y.Q.Tan, E. Dion, A. Monteiro // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8(1). – P. – 23. DOI: 10.1038/s41598–018–34043–0.

135. Thompson, C.M. Conditions inside fisher dens during prescribed fires; what is the risk posed by spring underburns? / C.M. Thompson, K.L. Purcell // Forest Ecology and Management. – 2016. –P. 359. DOI: 10.1016/j.foreco.2015.10.003.

136. Tian, D. Air Quality Impacts from Prescribed Forest Fires under Different Management Practices / D. Tian, Y. Wang, M. Bergin [et al.] // Environmental Science & Technology. – 2008. – Vol. 42(8). – P. 2767–2772. DOI: 10.1021/es0711213.

137. Urbanski, S.P. Chemical Composition of Wildland Fire Emissions / S.P. Urbanski, W.M. Hao, S. Baker [et al.] // Developments in environmental science, Elsevier. – 2009. – Vol 8. – P. 79–107.

138. Urbanski, S.P. Combustion efficiency and emission factors for wildfire–season fires in mixed conifer forests of the northern Rocky Mountains, US / S.P. Urbanski //

Atmospheric Chemistry and Physics. – 2013. – Vol. 13(14). – P. 7241–7262. doi.org/10.5194/acp–13–7241–2013.

139. Urmy, S.S. Vertical redistribution of zooplankton in an oligotrophic lake associated with reduction in ultraviolet radiation by wildfire smoke / S.S. Urmy, C.E. Williamson, T.H. Leach [et al.] // Geophysical Research Letters. – 2016. – Vol. 43(8). – P. 3746–3753. DOI: 10.1002/2016gl068533.

140. Verma, V. Physicochemical and Toxicological Profiles of Particulate Matter in Los Angeles during the October 2007 Southern California Wildfires / V.Verma, A. Polidori, J.J. Schauer // Environmental Science & Technology. – 2009. – Vol. 43(3). – P. 954–960. DOI: 10.1021/es8021667.

141. Wegesser, T.C. California Wildfires of 2008: Coarse and Fine Particulate Matter Toxicity / T.C. Wegesser, K.E. Pinkerton, J.A. Last // Environmental Health Perspectives. – 2009. – Vol. 117(6). – P. 893–897. DOI: 10.1289/ehp.0800166.

142. Wentzel, J.F. Assessing the DNA methylation status of single cells with the comet assay / Analytical Biochemistry. – 2010. – Vol. 400, №2. – P. 190–194.

143. Williams, K.M. Cell–specific oxidative stress and cytotoxicity after wildfire coarse particulate matter instillation into mouse lung / K.M. Williams, L.M. Franzi, J.A. Last // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2013. – Vol. 266(1). – P. 48–55. DOI: 10.1016/j.taap.2012.10.017.

144. Willson, B.E. Effects of the 2018 Camp Fire on birth outcomes in non–human primates: Case–control study / B.E. Willson, N.A. Gee, N.H. Willits [et al.] // Reproductive Toxicology. – 2021. – Vol. (105). – P. 128–135. DOI: 10.1016/j.reprotox.2021.08.005.

145. Wohlsein, P. Thermal Injuries in Veterinary Forensic Pathology / P. Wohlsein, M. Peters, C. Schulze [et al.] // Veterinary Pathology. – 2016. – Vol. 53(5). – P. 1001–1017. DOI: 10.1177/0300985816643368 2016.

146. Yang, D. Unprecedented Migratory Bird Die–Off: A Citizen–Based Analysis on the Spatiotemporal Patterns of Mass Mortality Events in the Western United States /

D. Yang, A. Yang, J. Yang [et al.] // GeoHealth. – 2021. – Vol. 5(4). DOI: 10.1029/2021GH000395.

147. Zayakhanov, A.S. Investigation of Transport and Transformation of Tropospheric Ozone in Terrestrial Ecosystems of the Coastal Zone of Lake Baikal / A.S. Zayakhanov, G.S. Zhamsueva, V.V. Tcydypov [et al.] // Atmosphere. – 2019. – Vol. 10(12). – P. 739. DOI: 10.3390/atmos10120739.

148. Zhamsueva, G. Spatial–Temporal Variability of Small Gas Impurities over Lake Baikal during the Forest Fires in the Summer of 2019 / G. Zhamsueva, A. Zayakhanov, V. Tcydypov [et al.] // Atmosphere. – 2021. – Vol. 12. – P. 20. DOI: 10.3390/atmos12010020.

149. Zhamsueva, G. Studies of the Dispersed Composition of Atmospheric Aerosol and Its Relationship with Small Gas Impurities in the Near-Water Layer of Lake Baikal Based on the Results of Ship Measurements in the Summer of 2020 / G. Zhamsueva, A. Zayakhanov, T. Khodzher [et al.] // Atmosphere. – 2022. – Vol. 13(1). – P. 139. DOI: 10.3390/atmos13010139.

150. Zhang, K. Effects of Qilin pills on spermatogenesis, reproductive hormones, oxidative stress, and the TSSK2 gene in a rat model of oligoasthenospermia. / K. Zhang, L. Fu, Q. An, [et al.] // BMC Complement Med Ther. – 2020. – Vol. 20. – P. 42. DOI: 10.1186/s12906–019–2799–7.

151. Zhang, Y. Particulate emissions from different types of biomass burning / Y. Zhang, D. Obrist, B. Zielinska [et al.] // Atmospheric Environment. – 2013. – Vol. 72 – P. 27–35.

152. Zuckerman S.F., Mandl A.M, Patterson H.D. The number of oocytes in ovarian fragments after compensatory hypertrophy / S.F. Zuckerman, A.M. Mandl, H.D. Patterson // Journal of Endocrinology. – 1952. – Vol. 84. – P. 347–356.

153. Witkop J.J. Sled dogs as a model for $PM_{2.5}$ exposure from wildfires in Alaska / J.J.Witkop, T. Vertigan, A. Reynolds, L. Duffy [et al.] // Environment International. – 2021– Vol. 156. – P. 106767. DOI: 10.1016/j.envint.2021.106767.