

## Онтогенетические изменения свойств ядовитого секрета *Vipera renardi* (Reptilia: Viperidae)

Т. Н. Атяшева

Институт экологии Волжского бассейна РАН  
Самарского федерального исследовательского центра РАН  
Россия, 445003, Тольятти, Комзина, 10  
E-mail: tatyana.atyasheva@mail.ru

Поступила в редакцию 23.08.2020, после доработки 19.09.2020, принята 11.10.2020

**Аннотация.** Приведены результаты долговременных (август 2014 г. – октябрь 2016 г.) наблюдений за изменением свойств ядовитого секрета восточных степных гадюк номинативного подвида *Vipera renardi renardi* (Christoph, 1861) в процессе постэмбрионального онтогенеза. Ядовитый секрет новорожденных гадюк отличался от яда взрослых особей повышенной активностью протеолитических ферментов и отсутствием активности оксидазы *L*-аминокислот, все новорожденные обладали бесцветным ядом. Взрослые особи продуцируют яд либо бесцветный, в котором не выявляется активность оксидазы *L*-аминокислот, либо желтый, в котором она выявляется. Установлено, что ферментативная активность яда молодых гадюк между первой и второй зимовками соответствовала уровню взрослых особей. После второй зимовки у молодых гадюк выявлены статистически незначимые сезонные изменения активности протеаз и оксидазы *L*-аминокислот.

**Ключевые слова:** *Vipera renardi*, ядовитый секрет, новорожденные гадюки, протеаза, оксидаза *L*-аминокислот, онтогенез.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2020-20-3-4-93-99>

### ВВЕДЕНИЕ

Свойства ядов некоторых видов гадюковых змей изменяются в течение онтогенеза (Mackessy, 1988, 2010; Gray et al., 2015). Ферментативная активность яда восточной степной гадюки *Vipera renardi* (Christoph, 1861) до недавнего времени изучалась по образцам, полученным только от взрослых особей (Бакиев и др., 2015). В наших публикациях (Маленёв и др., 2014; Атяшева и др., 2016) приведены данные о различиях в ферментативной активности яда взрослых и новорожденных восточных степных гадюк. Ядовитый секрет сеголетков обладал значительно более высокой активностью протеаз по сравнению с ядом взрослых особей. К тому же все новорожденные обладали бесцветным ядовитым секретом, тогда как среди взрослых степных гадюк встречались особи, продуцирующие как желтый, так и бесцветный яд. Полученные данные позволили сделать вывод, что в процессе онтогенеза свойства яда гадюк претерпевают изменения. Однако остался открытым вопрос: в какой именно возрастной период происходят эти изменения?

Поэтому целью нашей статьи стал анализ изменения свойств ядовитого секрета восточной степной гадюки в процессе постэмбрионального онтогенеза.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали образцы ядовитого секрета сеголетков номинативного подвида восточной степной гадюки *V. r. renardi*. Новорожденные особи были получены в неволе от самок степной гадюки, отловленных в мае 2014 г. в окрестностях с. Вязовка Радищевского района Ульяновской области. Беременных самок содержали в террариумах до появления потомства (первая половина августа 2014 г.). После родов самки были выпущены в места отлова, а часть потомства оставили для долгосрочного содержания в лаборатории (31 особь).

Наблюдения за молодыми гадюками проводили в период с августа 2014 г. по октябрь 2016 г. Детенышей содержали в террариумах индивидуально. Кормили молодых гадюк с момента рождения и до первой зимовки (ноябрь 2014 г. – апрель 2015 г.) домовыми сверчками. После выхода из зимовки сеголетки сначала питались насекомыми, а с мая 2015 г. им начали предлагать новорожденных мышей. К середине сезона 2015 г. все молодые гадюки начали поедать новорожденных мышат при одновременном употреблении в пищу сверчков.

На время зимовок (ноябрь 2014 г. – апрель 2015 г.; ноябрь 2015 г. – апрель 2016 г.) сеголетков

помещали в пластиковый террариум с кокосовой стружкой и держали в холодильнике при температуре 5 – 7°C. Раз в неделю, во избежание пересыхания, субстрат и самих животных опрыскивали водой. В начале апреля змей постепенно выводили из зимовки, прогревали под прямыми солнечными лучами, увеличивали температуру и длину светового дня. Затем у молодых гадюк отбирали ядовитый секрет и начинали кормить. За время зимовки и в первый месяц после нее погибли три особи (из-за недостаточной массы тела и проблем с линькой). По окончании эксперимента (в апреле 2017 г.) молодых степных гадюк выпустили в места отлова их матерей.

В течение всего времени наблюдений с периодичностью раз в 30 – 50 дней проводили ядовзятия. Для биохимического анализа использовали только индивидуальные образцы ядовитого секрета новорожденных. Для этого яд от каждой особи собирали на отдельное предметное стекло с зашлифованной кромкой, чтобы не травмировать ротовую полость. Затем образцы ядовитого секрета в течение 10 дней высушивали в эксикаторе над хлористым кальцием и хранили в холодильнике.

Определение протеолитической активности проводили колориметрически с использованием в качестве субстрата казеина коровьего молока. Инкубационная смесь состояла из 300 мкл раствора яда (0.5 – 0.6 мг/мл) и 300 мкл 2%-ного казеина на 0.04 М Трис-НСl буфере (pH = 8.2). Реакцию проводили 30 мин при температуре 37°C, останавливали добавлением двойного объема 5%-ной трихлоруксусной кислоты и осадок отделяли центрифугированием (Murata et al., 1963). Продукты реакции, содержащиеся в супернатанте и не осаждаемые трихлоруксусной кислотой, окрашивали реактивом Фолина (0.5 мл 0.5 N) и измеряли их оптическую плотность при длине волны 670 нм на спектрофотометре ПЭ-3000УФ («ПромЭкоЛаб», Россия). За единицу протеолитической активности принято такое количество препарата, которое, действуя в течение 1 мин на 2%-ный раствор субстрата при 37°C и pH = 8.2, образует продукты гидролиза, не осаждаемые трихлоруксусной кислотой, в количестве, эквивалентном 1 мкмоль *L*-тирозина (Яд гадюки..., 1998). В настоящей статье приведены значения удельной протеолитической (казеинопептической) активности, выраженной в мкг образовавшегося тирозина за одну минуту в пересчете на 1 мг белка.

Активность оксидазы *L*-аминокислот (КФ 1.4.3.2) в ядовитом секрете гадюк определяли с помощью *L*-фенилаланина в качестве субстрата. Реакционная смесь содержала 0.2 мл 0.4 М Трис-НСl буфера (pH = 7.5), 0.1 мл раствора каталазы

(1 мг/мл), 0.05 мл раствора яда (рабочей концентрации 0.5 – 0.6 мг/мл). Реакцию запускали добавлением 0.1 мл 0.04 М раствора *L*-фенилаланина. Смесь инкубировали в течение 15 мин при температуре 37°C при частом и интенсивном механическом встряхивании микропробирок. Реакцию останавливали добавлением 0.2 мл 25%-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и выдерживали 20 мин до полного формирования осадка, после чего пробы центрифугировали. К 0.5 мл супернатанта добавляли 2.5 мл 1 М Трис-боратного буфера (pH = 6.5) и полученную смесь выдерживали 30 мин, после чего измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 300 нм на спектрофотометре «ПЭ-3000УФ». За одну единицу активности (Е) принимали такое количество фермента, которое давало поглощение 0.030 ед. оптической плотности при 300 нм. Данная единица соответствует количеству фермента, которое в аналогичных условиях катализирует выделение 1 мкл кислорода за 30 мин, измеренное ранее манометрическим способом. Удельную активность фермента выражали в Е/мг белка в мин (Wellner, Meister, 1960; Wellner, Lichtenberg, 1971).

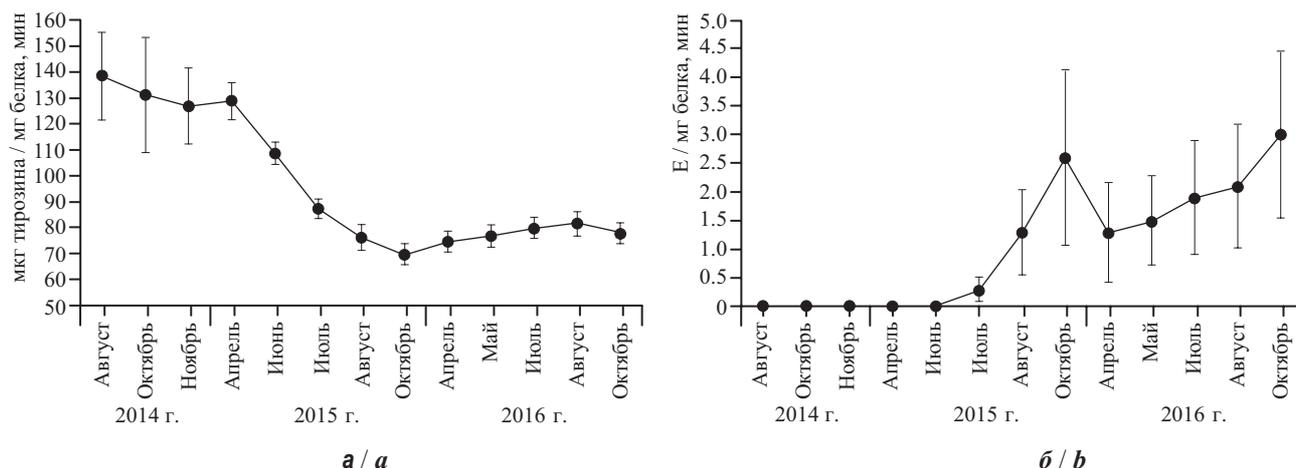
Определение количества белка проводили по методу Лоури (Lowry et al., 1951).

Для полученных значений активности ферментов рассчитывали средние значения в выборке и их ошибку, 95%-ный доверительный интервал. Сравнение выборок проводили по критерию Стьюдента ( $t_{\phi}$ ). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ PAST 2.17c (Hammer et al., 2001).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты определения протеолитической активности ферментов в образцах яда сеголетков восточной степной гадюки отражены на графике (рисунок, а). Из графика видно, что яд новорожденных особей отличается повышенной активностью протеаз. Так, активность протеолитических ферментов у взрослых гадюк из места отлова составила  $78.2 \pm 2.74$  мкг тир / мг белка в мин. Сравнение полученных значений показало, что в яде новорожденных гадюк активность протеаз статистически значимо выше, чем в ядовитом секрете взрослых особей ( $t_{\phi} = 3.85$ ,  $P < 0.001$ ).

За период от рождения до выхода из первой зимовки (в апреле 2015 г.) статистически значимых изменений активности протеолитических ферментов в ядовитом секрете молодых гадюк не происходило. Анализ образцов ядовитого секрета за июнь 2015 г. показал снижение средних значений активности протеаз, а в августе активность



Динамика активности протеолитических ферментов (а) и оксидазы *L*-аминокислот (б) в яде восточной степной гадюки за период наблюдений (средние значения и 95%-ный доверительный интервал)

**Figure.** Dynamics of the activity of proteolytic enzymes (a) and *L*-amino acid oxidase (b) of the venom of the eastern steppe viper during the observation period (mean values and 95% confidence interval)

данной группы ферментов в яде сеголетков достигла уровня взрослых особей. В течение второго года жизни (апрель – октябрь 2016 г.) статистически значимые различия в активности протеолитических ферментов в яде молодых гадюк выявлены между «апрельским» и «августовским» ядовзятиями ( $t_{\phi} = 2.19, P < 0.05$ ). Несмотря на отсутствие достоверных различий активности протеаз в летние и осенние месяцы, все же прослеживается тренд снижения активности этой группы ферментов к концу сезона.

Средние значения активности оксидазы *L*-аминокислот яда сеголетков *V. r. renardi* представлены в виде графика (рисунок, б). Все новорожденные особи продуцировали бесцветный яд, т.е. активность оксидазы *L*-аминокислот, определяющей цвет ядовитого секрета, не обнаруживается. Сравнив средние значения активности оксидазы *L*-аминокислот в яде взрослых ( $1.4 \pm 0.54$  Е / мг белка в мин) и новорожденных гадюк, статистически достоверных различий мы не выявили ( $t_{\phi} = 1.19, P > 0.05$ ). Вероятно, это связано с малым объемом выборки индивидуальных образцов ядовитого секрета новорожденных.

Анализ образцов ядовитого секрета показал, что активность оксидазы *L*-аминокислот в ядовитом секрете змей не обнаруживается в период от рождения (август 2014 г.) до лета 2015 г. Появление желтых образцов мы впервые зафиксировали в июле 2015 г., т. е. к концу первого года жизни. С каждым следующим ядовзятием активность оксидазы *L*-аминокислот увеличивалась и в конце сезона соответствовала активности данного фермента в яде взрослых степных гадюк. На-

блюдения в сезон 2016 г. (после второй зимовки) показали, что в ядовитом секрете молодых гадюк активность оксидазы *L*-аминокислот несколько возрастает, но статистически значимых различий выявить не удалось.

## ОБСУЖДЕНИЕ

*Активность протеолитических ферментов.* Важным компонентом яда гадюковых змей являются протеолитические ферменты, в том числе с кининогеназной активностью (Орлов и др., 1990). За счет действия этой группы ферментов достигается основной токсический эффект от укуса гадюк. Мы придерживаемся мнения, что ввиду малого количества яда продуцируемого новорожденными особями, для умерщвления добычи он должен быть более токсичен, чем ядовитый секрет взрослых гадюк. Возможно поэтому ядовитый секрет новорожденных отличается повышенным уровнем активности протеолитических ферментов.

В ходе эксперимента мы установили, что уже в возрасте одного года активность протеаз яда молодых *V. r. renardi* соответствовала уровню взрослых. Вероятно, это можно объяснить тем, что по мере роста самой змеи увеличивается в раз- мере ядовитая железа, а следовательно, и ядопродуктивность особи. С увеличением ядопродуктивности молодые степные гадюки способны выделять такое количество ядовитого секрета, которого достаточно для умерщвления более крупной добычи. К тому же, по данным наших наблюдений, начиная с мая – июня 2015 г. все гадюки помимо домовых сверчков, начали поедать ново-

рожденных мышей (Атяшева, Маленёв, 2018). Отметим, что включение нового пищевого объекта в рацион молодых степных гадюк по времени совпадает с периодом (июнь – август 2015 г.) снижения значений активности протеолитических ферментов в их ядовитом секрете. Мы предположили, что изменения пищевого рациона у годовиков восточной степной гадюки, вероятно, могут влиять на ферментативную активность их ядовитого секрета. В пользу этого предположения говорят данные о токсичности яда молодых гадюк (находившихся под нашим наблюдением) для банановых и домовых сверчков. Ядовитый секрет новорожденных степных гадюк для сверчков оказался токсичнее яда взрослых особей. Но уже в возрасте одного года (июнь 2015 г.) ЛД<sub>50</sub> яда молодых гадюк достигла уровня взрослых и далее не менялась (Горелов, 2017). В литературе также имеются сведения о том, что формирование свойств ядовитого секрета змей в процессе онтогенеза может определяться типом и размерами потребляемой добычи (Mackessy, 2010).

*Активность оксидазы L-аминокислот.* Как известно, цвет ядовитого секрета у гадюк определяется наличием оксидазы L-аминокислот: чем выше активность этого фермента, тем интенсивнее желтая окраска яда, а в бесцветных образцах её активность близка к нулю. В настоящей работе мы подтвердили полученные ранее данные о том, что детеныши восточной степной гадюки при рождении обладают бесцветным ядовитым секретом, в то время как взрослые особи продуцируют либо желтый, либо бесцветный яд. Объяснить это явление мы пока не можем. Выявленные возрастные различия в цвете ядовитого секрета позволили сделать вывод, что в процессе онтогенеза у части особей начинает проявляться активность оксидазы L-аминокислот. В результате эксперимента мы установили, что 11 особей из 28 (39.3%), находившихся под наблюдением, к концу первого года жизни продуцировали яд желтого цвета. При этом в период с июля по октябрь 2015 г. увеличивалось как число особей с желтоокрашенным ядом, так и активность самого фермента. Схожие различия в активности оксидазы L-аминокислот характерны для некоторых видов гремучников, у которых с возрастом и увеличением размеров змей активность оксидазы L-аминокислот возрастала (Mackessy, 1988).

Заметим, что проявление активности оксидазы L-аминокислот произошло вслед за снижением активности протеолитических ферментов.

На данный момент мы не можем объяснить причины отмеченного явления. Можно лишь предположить, что проявление активности оксидазы L-аминокислот может быть связано с её свойством стимулировать действие протеаз ядовитого секрета гадюк (Du, Clemetson, 2002).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют сформулировать следующие выводы.

1. Ядовитый секрет новорожденных степных гадюк отличается от яда взрослых змей повышенной активностью протеолитических ферментов и всегда отсутствием активности оксидазы L-аминокислот.

2. Наиболее значимые изменения биохимических свойств ядовитого секрета происходят у годовиков (между первой и второй зимовки): активность протеолитических ферментов достигает уровня взрослых в возрасте одного года, активность оксидазы L-аминокислот – перед второй зимовкой.

3. После второй зимовки отмечены статистически незначимые сезонные изменения активности ферментов в ядовитом секрете молодых степных гадюк. Активность протеаз возрастает в летние месяцы (максимум приходится на август) и снижается в октябре (перед третьей зимовкой). Активность оксидазы L-аминокислот в яде гадюк в течение сезона постепенно возрастает.

## Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории герпетологии и токсикологии Института экологии Волжского бассейна РАН – А. Г. Бакиеву, Р. А. Горелову и А. А. Кленовой – за помощь в отлове гадюк и ценные замечания при подготовке статьи. Особую благодарность автор выражает научному руководителю А. Л. Маленёву за помощь на всех этапах экспериментальной части работы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Атяшева Т. Н., Маленёв А. Л. 2018. Динамика роста восточных степных гадюк *Vipera renardi* в условиях террариума // Изв. Самар. науч. центра РАН. Т. 20, № 5 – 4. С. 541 – 548.

Атяшева Т. Н., Маленёв А. Л., Горелов Р. А., Кленова А. А., Бакиев А. Г. 2016. Возрастные различия свойств ядовитого секрета у гадюк Волжского бассейна // Вестн. Санкт-Петерб. ун-та. Сер. 3. Биология. Вып. 3. С. 15 – 19.

- Бакиев А. Г., Гаранин В. И., Гелашивили Д. Б., Горелов Р. А., Доронин И. В., Зайцева О. В., Зиненко А. И., Клемина А. А., Макарова Т. Н., Маленёв А. Л., Павлов А. В., Петрова И. В., Ратников В. Ю., Старков В. Г., Ширяева И. В., Юсупов Р. Х., Яковлева Т. И. 2015. Гадюки (Reptilia : Serpentes : Viperidae: *Vipera*) Волжского бассейна. Тольятти : Кассандра. Ч. 1. 234 с.
- Горелов Р. А. 2017. Возрастные различия в токсичности ядовитого секрета гадюк Волжского бассейна // Экологический сборник 6 : труды молодых ученых Поволжья. Междунар. молодеж. науч. конф. Тольятти : Кассандра. С. 96 – 100.
- Маленёв А. Л., Макарова Т. Н., Горелов Р. А. 2014. Особенности ядовитого секрета гадюки Ренара (*Vipera renardi*) из Волгоградской области // Изв. Самар. науч. центра РАН. Т. 16, № 1. С. 261 – 265.
- Орлов Б. Н., Гелашивили Д. Б., Ибрагимов А. К. 1990. Ядовитые животные и растения СССР. М. : Высш. шк. 272 с.
- Яд гадюки обыкновенной сухой. 1998. Временная фармакопейная статья : ВФС 42-3026-98. М. 23 с.
- Du X. Y., Clemetson K. J. 2002. Snake L-amino Acid Oxidases // Toxicon. Vol. 40, iss. 6. P. 659 – 665.
- Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. 2001. PAST : Palaeontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // Palaeontological Electronica. Vol. 4, № 1. P. 1 – 9.
- Lowry O. H., Rosebrough H. S., Farr A. L., Randall R. I. 1951. Protein Measurement with the Fenol Folin Reagent // J. of Biological Chemistry. Vol. 193, iss. 1. P. 265 – 275.
- Mackessy S. P. 1988. Venom Ontogeny in the Pacific Rattlesnakes *Crotalus viridis helleri* and *C. v. oreganus* // Copea. Vol. 1988, № 1. P. 92 – 101.
- Mackessy S. P. 2010. Evolutionary Trends in Venom Composition in the Western Rattlesnakes (*Crotalus viridis sensu lato*) : Noxicity vs. Tenderizers // Toxicon. Vol. 55, iss. 8. P. 1463 – 1474.
- Murata Y., Satake M., Suzuki T. 1963. Studies on Snake Venom. XII. Distribution of Proteinase Activities Among Japanese and Formosan Snake Venoms // J. Biochemistry. Vol. 53, № 6. P. 431 – 437.
- Wellner D., Meister A. 1960. Crystalline L-Amino Acid Oxidase of *Crotalus adamanteus* // J. of Biological Chemistry. Vol. 235, № 7. P. 2013 – 2018.
- Wellner D., Lichtenberg L. A. 1971. Assay of Amino Acid Oxidase // Methods of Enzymology. Vol. 17. Metabolism of Amino Acids and Amines : Part B / eds. H. Tabor, C. W. Tabor. London : Academic Press. P. 593 – 596.
- Wray K. P., Margres M. J., Seavy M., Rokyta D. R. 2015. Early Significant Ontogenetic Changes in Snake Venoms // Toxicon. Vol. 96. P. 74 – 81.

---

**Образец для цитирования:**

Атяшева Т. Н. 2020. Онтогенетические изменения свойств ядовитого секрета *Vipera renardi* (Reptilia: Viperidae) // Современная герпетология. Т. 20, вып. 3/4. С. 93 – 99. DOI: <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2020-20-3-4-93-99>

---

**Ontogenetic Changes in the Properties of the Poisonous Secretion of *Vipera renardi* (Reptilia: Viperidae)**

**Tatyana N. Atyasheva**, *tatyana.atyasheva@mail.ru*

*Institute of Ecology of the Volga River Basin of RAS,  
Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences  
10 Komzina St., Togliatti 445003, Russia*

Received 23 August 2020, revised 19 September 2020, accepted 11 October 2020

**Abstract.** The paper presents the results of our long-term (August 2014–October 2016) observations of changes in some properties of the poisonous secretion of eastern steppe vipers of the nominative subspecies *Vipera renardi renardi* (Christoph, 1861) during their postembryonic ontogenesis. The poisonous secretion of newborn vipers differed from the venom of adult snakes by an increased protease activity and the absence of any *L*-amino acid oxidase activity; all newborns had colorless venom. Adults produce venom either colorless, where no *L*-amino acid oxidase activity is detected, or yellow, where it is detected. It was found that the enzymatic activity of the venom of young vipers between their first and second winterings corresponded to the level of adults. After the second wintering, young vipers showed statistically insignificant seasonal changes in the activity of proteases and *L*-amino acid oxidase.

**Keywords:** *Vipera renardi*, poisonous secretion, newborn vipers, protease, *L*-amino acid oxidase, ontogenesis.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2020-20-3-4-93-99>

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 License

**REFERENCES**

- Atyasheva T. N., Malenyov A. L. Growth Dynamics of the Eastern Steppe Vipers *Vipera renardi* in Terrarium Conditions. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2018, vol. 20, no. 5–4, pp. 541–548 (in Russian).
- Atyasheva T. N., Malenyov A. L., Gorelov R. A., Klenina A. A., Bakiev A. G. Age Differences in the Properties of Vipers' Snake Venom of the Volga River Basin. *Vestnik of Saint Petersburg University, Ser. 3. Biology*, 2016, iss. 3, pp. 15–19 (in Russian).
- Bakiev A. G., Garanin V. I., Gelashvili D. B., Gorelov R. A., Doronin I. V., Zaitseva O. V., Zinenko A. I., Klenina A. A., Makarova T. N., Malenyov A. L., Pavlov A. V., Petrova I. V., Ratnikov V. Y., Starkov V. G., Shiryayeva I. V., Yusupov R. H., Yakovleva T. I. *Gadiuki (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera) Volzhskogo basseina* [Vipers (Reptilia: Serpentes: Viperidae: *Vipera*) of the Volga River Basin]. Togliatti, Kassandra Publ., 2015, pt. 1. 234 p. (in Russian).
- Gorelov R. A. Age Differences in the Toxicity of Vipers Snake Venom of the Volga River Basin. In: *Ekologicheskii sbornik 6: trudy molodykh uchenykh Povolzh'ia. Mezhdunarodnaia molodezhnaia nauchnaia konferentsiia* [Ecological Collection 6: Works of Young Scientists of the Volga Region. International Youth Scientific Conference]. Togliatti, Kassandra Publ., 2017, pp. 96–100 (in Russian).
- Malenyov A. L., Makarova T. N., Gorelov R. A. Some Characteristics of the Venom of Renards Viper (*Vipera renardi*) from the Volgograd Oblast. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2014, vol. 16, no. 1, pp. 261–265 (in Russian).
- Orlov B. N., Gelashvili D. B., Ibragimov A. K. *Yadovitye zhivotnye i rasteniia SSSR* [Poisonous Animals and Plants of the USSR]. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1990. 272 p. (in Russian).
- Iad gadiuki obyknovnoi sukhoi. Vremennaia farmakopeinai stat'ia: VFS 42-3026-98* [Dry Venom of Common Adder. Temporary Pharmacopeial Article: TPA 42-3026-98]. Moscow, 1998. 23 p. (in Russian).
- Du X. Y., Clemetson K. J. Snake *L*-amino Acid Oxidases. *Toxicon*, 2002, vol. 40, iss. 6, pp. 659–665.
- Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontological Electronica*, 2001, vol. 4, no. 1, pp. 1–9.
- Lowry O. H., Rosebrough H. S., Farr A. L., Randall R. I. Protein Measurement with the Fenol Folin Reagent. *J. of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, iss. 1, pp. 265–275.
- Mackessy S. P. Venom Ontogeny in the Pacific Rattlesnakes *Crotalus viridis helleri* and *C. v. oreganus*. *Copea*, 1988, vol. 1988, no. 1, pp. 92–101.
- Mackessy S. P. Evolutionary Trends in Venom Composition in the Western Rattlesnakes (*Crotalus viridis sensu lato*): Noxicity vs. Tenderizers. *Toxicon*, 2010, vol. 55, iss. 8, pp. 1463–1474.

Murata Y., Satake M., Suzuki T. Studies on Snake Venom. XII. Distribution of Proteinase Activities Among Japanese and Formosan Snake Venoms. *J. Biochemistry*, 1963, vol. 53, no. 6, pp. 431 – 437.

Wellner D., Meister A. Crystalline L-Amino Acid Oxidase of *Crotalus adamanteus*. *J. of Biological Chemistry*, 1960, vol. 235, no. 7, pp. 2013–2018.

Wellner D., Lichtenberg L. A. Assay of Amino Acid Oxidase. In: H. Tabor, C. W. Tabor, eds. *Methods of Enzymology. Vol. 17. Metabolism of Amino Acids and Amines: Part B*. London, Academic Press, 1971, pp. 593–596.

Wray K. P., Margres M. J., Seavy M., Rokyta D. R. Early Significant Ontogenetic Changes in Snake Venoms. *Toxicon*, 2015, vol. 96, pp. 74–81.

---

**Cite this article as:**

Atyasheva T. N. Ontogenetic Changes in the Properties of the Poisonous Secretion of *Vipera renardi* (Reptilia: Viperidae). *Current Studies in Herpetology*, 2020, vol. 20, iss. 3–4, pp. 93–99 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2020-20-3-4-93-99>

---