

УДК 597.6 + 598.1

Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии:
Сборник научных трудов. Вып. 6. – Тольятти, 2003. – 118 с.

Печатается по решению Ученого совета ИЭВБ РАН.

Редакционная коллегия:

А.Г. Бакиев

В.И. Гаранин

Д.Б. Гелашвили

А.Л. Маленев

О.Л. Носкова

ISBN 5-93424-058-7

Россия, 445003, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, 10,
Институт экологии Волжского бассейна РАН.
Факс (8482) 48-95-04. E-mail: ecolog@attack.ru

© ИЭВБ РАН, 2003 г.

Структурно-информационные показатели стабильности развития амфибий на антропогенно трансформированных территориях

В.В. Логинов, Д.Б. Гелашвили, Е.В. Чупрунов, А.А. Силкин
Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского,
г. Н. Новгород: ecology@unp.ac.ru

Биоиндикация состояния объектов окружающей среды является важной составной частью биомониторинга. В рассматриваемом аспекте зооиндикация несомненно играет ключевую роль, поскольку дает возможность не только оценить качество среды обитания с помощью консументов, в том числе и высших порядков, но и достаточно корректно экстраполировать полученные результаты на человека. Прогностическая ценность биоиндикационных исследований во многом определяется методологической базой, положенной в основу количественных оценок параметров качества среды. Применение в экологическом мониторинге в целом и в биоиндикации – в частности, фундаментальных физических принципов позволило получить новые перспективные результаты (Гелашвили и др., 2001a; Гелашвили и др., 2001b; Чупрунов и др., 2001).

Методы, применяемые для биоиндикации состояния водных объектов довольно разнообразны, а в качестве биоиндикаторов состояния окружающей среды земноводные считаются наиболее удобным объектом (Пястолова, 1985; Леонтьева, Семенов, 1997). Использование методов, основанных на морфогенетических показателях стабильности развития, а также цитогенетического гомеостаза являются перспективными в связи с тем, что они отвечают практически всем требованиям методологии биомониторинга. Морфогенетические показатели характеризуют уровень стабильности индивидуального развития как способность к формированию сходного фенотипа при данных условиях среды. Показателем стабильности развития может служить флуктуирующая асимметрия, представляющая собой незначительные ненаправленные отклонения от строгой симметрии и может быть идентифицирована по нормальному распределению относительно нуля различий между сторонами, взятых со знаком (Van Valen, 1962). Флуктуирующая асимметрия успешно используется для характеристики гомеостаза развития в условиях средового стресса (Захаров, 1987; Захаров и др., 2000; Захаров, Чубинишвили, 2001; Valentine et al., 1973; Valentine, Soule, 1973; Parsons, 1990; Parsons, 1992; Clarke, 1992; Pankakoski et al., 1992; Graham et al., 1993, 1993a; Жданова, Гелашвили, 1997; Ушаков, Образцов, 1999; Гелашвили и др., 2001a). При анализе морфогенетических показателей стабильности развития можно не только вывести различия между разными популяциями одного вида-индикатора, но и следить за изменениями происходящими в одной и той же популяции. Другим параметром, который может быть использован для характеристики гомеостаза развития является цитогенетический гомеостаз (Ильинских и др., 1986), проявляющийся в поддержании постоянства кариотипа. Охарактеризовать цитогенетический гомеостаз можно при помощи

микроядерного теста, суть которого состоит в подсчете частоты клеток с микроядрами (Evans et al., 1959). Причиной возникновения микроядер является нарушение нормальной сегрегации отдельных хромосом при митозе или образование ацентрических хромосомных фрагментов вследствие мутаций. Рядом экспериментальных работ была показана зависимость частоты клеток с микроядрами от концентрации мутагена и времени экспозиции (Hoofman, de Raaf, 1982; Jaylet et al., 1985; Van Hummelen et al., 1989; Scarpato et al., 1990). Была продемонстрирована возможность применения этого метода для биомониторинга (Чубинишвили, 1997).

В настоящей работе оценена стабильность развития популяций зеленых лягушек рода *Rana*, обитающих в водных экосистемах г. Нижнего Новгорода и Нижегородской области по морфогенетическим и цитогенетическим показателям.

Материалом настоящей работы послужили сборы зеленых (*Rana esculenta*, *R. ridibunda*) и бурых (*R. temporaria*) лягушек, обитающих на охраняемых (оз. Светлояр, Государственный природный заповедник (ГПЗ) "Керженский") и антропогенно трансформированных территориях (р. Ржавка в г. Нижнем Новгороде и р. Волоснянка в г. Дзержинске), существенно различающихся уровнем загрязнения, оцениваемого по индексу загрязнения воды. Каждая особь анализировалась по 11 флукутирующим признакам (Захаров, Чубинишвили, 2001). Формализованные первичные данные представляют собой действительную прямоугольную матрицу B_{ij} размером $m \times n$, где i – число признаков ($i = 1 \div n$), j – число особей ($j = 1 \div m$). Значение флукутирующей асимметрии для матрицы B_{ij} оценивали с помощью функционала, представляющего собой свертку, который для конечных сумм можно представить в виде:

$$\bar{A} = 1 - \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \frac{2 \sum_{i=1}^n (R \cdot L)}{\sum_{i=1}^n (R^2 + L^2)},$$

где R и L значение признака, соответственно, на левой и правой половине тела. Для оценки степени упорядоченности распределения асимметричных признаков по матрице B_{ij} использовали показатель информационной энтропии

$$\bar{H} = - \sum_{j=1}^m \frac{a_j}{N_a} \ln \frac{a_j}{N_a}$$

и показатель эквитабильности $E = \frac{\bar{H}}{\ln m}$, где a_i – число асимметричных признаков у j -ой особи, а $N_a = \sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n a_{ij}$. Дополнительной структурной характеристикой анализируемой матрицы B_{ij} послужило аллометрическое соотношение $N_a = (m \times n)^k$ или $k = \frac{\ln N_a}{\ln(m \times n)}$.

Цитогенетический гомеостаз оценивали микроядерным тестом. Микроядра учитывались в эритроцитах периферической крови амфибий. Мазки

фиксируют метанолом. Окрашивание мазков проводилось раствором отечественной краски Романовского на фосфатном буфере. У каждой особи анализировали по 2000 эритроцитов от каждого животного. Учет частоты аберрантных клеток проводили при 1000× увеличении на микроскопе «Биолам-И».

Таблица

Структурно-информационные показатели стабильности развития амфибий

Показатели		Биотопы			
		оз. Светлояр	ГПЗ "Керженский"	р. Ржавка	р. Волосяниха
\bar{A}	абсолютные	0.011	0.029	0.046	0.038
	ранг	1	2	4	3
E	абсолютные	0.94	0.96	0.98	0.99
	ранг	1	2	3	4
k	абсолютные	0.75	0.83	0.88	0.90
	ранг	1	2	3	4
Частота аберрантных клеток, %	абсолютные	1.30±0.17	2.5±0.3	3.0±0.16	не исследовалось
	ранг	1	2	3	4
Сумма рангов ($\sum R_j$)		4	8	13	15

Для оценки взаимосогласованности применяемых структурно-информационных показателей использовали непараметрический критерий Фридмана, являющийся аналогом дисперсионного анализа (Терентьева, Ростова, 1977). Данные каждой группы выписываются в столбец, ранжирование проводится по строкам и для каждой группы вычисляется сумма рангов ($\sum R_j$). Тогда

$$\chi_r^2 = \frac{12}{n \times r(r+1)} \sum_i \left(\sum_j R_{ij} \right)^2 - 3n(r+1),$$

где r — число биотопов, а n — число показателей.

В популяциях, находящихся под воздействием сильного мутагенного фактора, частота событий, ведущих к генетической нестабильности заметно возрастает и они могут быть выявлены даже на сравнительно малых выборках. Если использовать в качестве маркеров нестабильности цитогенетические

показатели. Цитогенетический гомеостаз, который может быть оценен по частоте aberrантных клеток (анеуплоидия, частота клеток с хромосомными aberrациями, количество микроядер в крови и др.), дает характеристику иммунной системы (ответственной за элиминацию aberrантных клеток) и общего состояния организма. Приведенные в таблице данные свидетельствуют о закономерном и взаимосогласованном возрастании структурно-информационных показателей стабильности развития и цитогенетических тестов по мере ухудшения условий качества среды обитания. Значение $\chi^2 = 11,1$, рассчитанное для данных, приведенных в таблице, больше табличного значения $\chi^2_{таб} = 7,8$, для $p = 0,05$. Механизм этого понятен, так как все показатели с различных сторон характеризуют базовую черту организма – гомеостаз развития. Следовательно, установлена достоверность взаимосогласованности применяемых структурно-информационных показателей и цитогенетических тестов. Полагаем, что предложенный подход существенно расширяет методологическую базу применения флуктуирующей асимметрии в биомониторинге.

ЛИТЕРАТУРА

Гелашвили Д.Б., Краснов А.К., Логинов В.В., Мокров И.В., Радаев А.А., Силкин А.А., Слепов А.В., Чупрунов Е.В. Методологические и методические аспекты мониторинга здоровья среды государственного природного заповедника "Керженский" // Природа Керженского заповедника. Н. Новгород. 2001а.

Гелашвили Д.Б., Чупрунов Е.В., Радаев А.А. Оценка степени симметрии тест-организмов в биомониторинге наземных и водных экосистем // Международная научная конференция "Малые реки: Современное экологическое состояние, актуальные проблемы". Тольятти, 2001б. С. 53.

Жданова Н.П., Гелашвили Д.Б. Анализ стабильности развития лягушек рода *Rana* на антропогенных и заповедных территориях // Проблемы общей биологии и прикладной экологии. Саратов., 1997. Вып. 2/3. С. 52-54.

Захаров В.М. Асимметрия животных (популяционно-феногенетический подход). М., 1987.

Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т. Здоровье среды: Методика оценки. М., 2000. С. 44-46.

Захаров В.М., Чубинишвили А.Т. Мониторинг здоровья среды на охраняемых природных территориях. М., 2001. 148 с.

Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Бочаров Е.Ф. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. Новосибирск, 1986. 256 с.

Леонтьева О.А., Семенов Д.В. Земноводные как биоиндикаторы антропогенных изменений среды // Успехи совр. биол. 1997. Т. 117., № 6. С. 726-736.

Пястолова О.А. Амфибии как индикаторы промышленного загрязнения окружающей среды // Вопросы герпетологии. 1985. С. 247.

Терентьева П.В., Ростова Н.С. Практикум по биометрии. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1977. 152 с.

Ушаков В.А., Образцов А.А. Оценка стабильности развития популяций зеленых лягушек методом флуктуирующей асимметрии на территории Нижегородской области // Вторая конференция герпетологов Поволжья. Тольятти. 1999. С. 54.

Чубинишвили А.Т. Морфогенетическая и цитогенетическая характеристики природных популяций зеленых лягушек гибридогенного комплекса *Rana esculenta* в естественных условиях и подверженных антропогенному воздействию: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. М. 1997.

Чупрунов Е.В., Гелашвили Д.Б., Радаев А.А. Методы количественной оценки симметричности кристаллических структур для целей биомониторинга // Третья всероссийская научная конференция «Физические проблемы экологии (экологическая физика)». М., 2001. С. 224–225.

Clarke G.M. Fluctuating asymmetry: A technique for measuring developmental stress of genetic and environmental origin // Acta Zool. Fennica. 1992. V. 191. P. 31-35.

Evans H.J., Neary G.J., Williamson F.S. The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and g-rays on *Vicia faba* roots and effects of oxygen. // Int. J. Radiat. Biol. 1959. V. 1. P. 216-229.

Graham J.H., Emlen J.H., Freeman D.C. Developmental stability and its applications in ecotoxicology // Ecotoxicology. 1993. V. 2. P. 175-184.

Graham J.H., Roe K.E., West T.B. Effects of lead and benzene on the developmental stability of *Drosophila melanogaster* // Ecotoxicology. 1993a. V.2. P. 185-195.

Hoofman R.N., de Raat W.K. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbrypymaca* by ethyl methanesulphoyate // Mutation Research. 1982. V. 104. P. 147-152.

Jaylet A., Deparis P., Ferrier V., Grinfield S., Siboulet R. A new micronucleus test using peripheral blood erythrocytes of the newt *Pleurodeles waltl* to detect mutagens in fresh-water pollution // Mutation Research. 1985. V. 164. P. 245-257.

Pankakoski E., Koivisto I., Hyvarinen H. Reduced developmental stability as an indicator of heavy metal pollution in the common shrew *Sorex araneus* // Acta Zool. Fennica. 1992. V. 191. P. 137-144.

Parsons P.A. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress // Biol. Rev. 1990. V. 65. P. 131-145.

Parsons P.A. Fluctuating asymmetry: A biological monitor of environmental and genomic stress // Heredity. 1992. V. 68. P. 361-364.

Scarpato R., Migliore L., Barale R. The micronucleus assay in *Anodonta cygnea* for the detection of drinking water mutagenicity // Mutation Research. 1990. V. 245. P. 231-237.

Van Hummelen P., Zoll C., Paulussen J., Kirsh-Volders M., Jagelt A. The micronucleus test in *Xenopus*: a new and simple "in vivo" technique for detection of mutagens in fresh water // *Mutagenesis*. 1989. V. 4. № 1. P. 12-16.

Valentine D.W., Soule M., Samollow P. Asymmetry analysis in fishes: A possible statistical indicator of environmental stress // *Fish. Bull.* 1973. V. 71. № 2. P. 357-370.

Valentine D.W., Soule M. Effect of p'p'-DDT on developmental stability of pectoral fin rays in the grunion *Leurestes tenuis* // *Fishery bull.* 1973. V. 71. № 4. P. 921-926.

Van Valen L. A study of fluctuating asymmetry // *Evolution*. 1962. V. 16. P. 125-142.

Внутрипопуляционный полиморфизм окраски зеленой жабы

Т.Ю. Пескова

Кубанский госуниверситет, г. Краснодар

В популяциях зеленой жабы на Северном Кавказе отмечены следующие варианты окраски спины животных: общий фон 1) светлый или 2) темный; зеленые пятна на этом фоне 1) отдельные, мелкие или 2) слившиеся. Таким образом, существуют следующие морфы: 1) фон светлый, пятна отдельные; 2) фон светлый, пятна слившиеся; 3) фон темный, пятна отдельные; 4) фон темный, пятна слившиеся. Полиморфизм изучали в популяции зеленой жабы из степной зоны Западного Предкавказья (окрестности ст-цы Ладожской Краснодарского края) в 2000-2001 гг., обследовано 223 особи (188 половозрелых – 139 самцов, 49 самок; 35 – неполовозрелых).

Ниже приводятся результаты сравнения относительного обилия жаб указанных цветовых морф для всех амфибий, исследованных в 2000 г. (суммированы животные, отловленные за три сезона – весна, лето, осень). Достоверность различия принята на 5%-ом уровне значимости.

Установлено, что соотношение цветовых морф у половозрелых самцов и самок в изучаемой популяции достоверно различное. У самцов особей с темным фоном спины (с пятнами обоих видов) в 3,9 раза больше, чем у самок (63% и 16% соответственно). У жаб со светлым фоном спины по соотношению особей разного пола со слившимися и отдельными пятнами достоверных различий нет.

Обнаружено, что с возрастом меняется соотношение особей разных цветовых морф амфибий. У неполовозрелых жаб встречается равное число животных со светлым и темным фоном спины и несколько больше особей с отдельными пятнами по сравнению с особями со слившимися пятнами. У половозрелых самцов, как указано выше, преобладают темноспинные особи, а количество животных с разной формой пятен одинаково. Таким образом, в процессе роста больше погибают светлоокрашенные самцы с отдельными