

ОСОБЕННОСТИ МЕЖПОПУЛЯЦИОННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ УРОВНЯ ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ НА СЕВЕРЕ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

© 2009 Э.И. Кайбелева, Е.В. Завьялов, В.Г. Табачишин
Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского

Изучены хромосомные наборы популяций озерной лягушки (*Rana (Pelophylax) ridibunda*) из различных районов Саратовской области, подверженных различным уровням антропогенной нагрузки. Установлено, что по основным цитогенетическим параметрам кариотип изученных лягушек совпадает с таковым из других частей ареала ($2n=26$, $NF=52$). Региональные особенности кариотипа заключаются в морфометрических характеристиках отдельных хромосом, в частности выявлен полиморфизм 7-й пары хромосом. Установлена зависимость частоты встречаемости аномалий кариотипа от степени загрязненности водоема. Так, наименьшее число особей с нарушенным кариотипом встречается в водоемах Национального парка «Хвалынский», наибольшее – у лягушек из водоемов урбанизированных территорий городов Саратов и Энгельса.

Ключевые слова: межпопуляционная изменчивость, лягушка озерная, антропогенная нагрузка

Характеристика экологического состояния территорий, подвергающихся антропогенным воздействиям, должна включать комплекс показателей, в том числе оценку мутагенного потенциала среды. Анализ генетических эффектов загрязнений среды непосредственно по отношению к человеку сопряжен со значительными методологическими и финансовыми трудностями, поэтому для эколого-цитогенетического мониторинга целесообразно использовать индикаторные виды животных [1, 2]. Помимо мелких млекопитающих для этой цели можно рекомендовать массовые виды амфибий, которые в силу особенностей их жизненного цикла удобны для оценки состояния наземных и водных экосистем. Высказанное замечание в полной мере применимо к бесхвостым амфибиям, типичным представителем которых является озерная лягушка (*Rana (Pelophylax) ridibunda*), широко распространенная на всей территории севера Нижнего Поволжья.

Кайбелева Эльмира Исмаиловна, инженер.

E-mail: biofac@sgu.ru

Завьялов Евгений Владимирович, доктор биологических наук, профессор, кафедра морфологии и экологии животных.

E-mail: zavialov@info.sgu.ru

Табачишин Василий Григорьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и экологии животных

Целью настоящего исследования является анализ кариотипа и определения частоты хромосомных нарушений в соматических клетках озерной лягушки из различных районов Саратовской области.

Материалом для исследования послужили сборы лягушек, проведенные в весенне-летний период 2003-2008 гг. на территории Саратовской области в поймах рек Волжского и Донского бассейнов (табл. 1). Хромосомные препараты готовили по стандартным методикам из клеток костного мозга [3]. Исследование препаратов проводили на микроскопе «Karl Zeiss». Для анализа хромосом использовались фотографии не менее 20 метафаз от каждой особи. Измерение хромосом проводилось с использованием пакета программ «AxioVision» (модуль «Автоматическое измерение»). Типологию хромосом проводили согласно классификации Левана [4]. Статистической обработке с помощью пакета соответствующих программ подвергли основные анализируемые показатели: относительную длину, центромерный и плечевой индексы хромосом.

В результате исследований было установлено, что у всех изученных лягушек хромосомные наборы были одинаковы. Кариотип самца и самки состоит из 26 двуплечих хромосом, т.е. $NF=52$. Он представлен

5 парами крупных и 8 парами мелких хромосом (рис. 1). При этом 1-я пара хромосом представлена крупным метацентриком; 2–3-я пары субметацентрического типа примерно одного размера; 4–5-я пары – метацентрические, причем пятая пара имеет наименьшую относительную длину ($9,3 \pm 0,29$). В группе мелких хромосом 6-я пара – метацентрическая; 7-я пара хромосом в исследованных наборах имеет пограничные значения плечевого и центромерного индексов (у лягушек из популяции р. Медведицы мы рассматриваем ее как метацентрическую – $1,6 \pm 0,08$ и

$40,4 \pm 0,14$, у амфибий волжских популяций как субметацентрическую – $1,8 \pm 0,20$ и $35,8 \pm 2,56$); 8–9-я пары – субтелоцентрические. Причем 8-пара имеет максимальное значение плечевого индекса среди всех хромосом набора; 10-я пара – метацентрическая; 11–13-я пары – субметацентрики. На длинных плечах 11 пары хромосом имеется вторичная перетяжка. Половые хромосомы не обнаруживают гетероморфизма и поэтому не могут быть идентифицированы, что типично для бесхвостых амфибий.

Таблица 1. Географическая и количественная характеристика сборов озерной лягушки, использованных в кариологическом анализе

№ п/п	Места сбора материала	Количество особей
<i>саратовское Правобережье</i>		
1	Территория г. Саратова	25
2	Окрестности г. Саратова (о-в Зеленый, р. Волга)	9
3	Красноармский район, окрестности пос. Нижняя Банновка	17
4	Красноармейский район, окрестности с. Садовое	10
5	Воскресенский район, окрестности с. Комаровка (пойма р. Терешки)	15
6	Окрестности г. Аткарска (пойма р. Медведицы)	12
7	Лысогорский район, окрестности с. Атаевка (пойма р. Медведицы)	27
8	Окрестности г. Хвалынска	30
9	Хвалынский район, окрестности с. Старая Лебежайка	10
10	Окрестности г. Хвалынска (урочище Таши)	21
<i>саратовское Левобережье</i>		
11	Территория г. Энгельса	10
12	Энгельский район, окрестности с. Шумейка	11
13	Пугачевский район, окрестности с. Каменка (пойма р. Большой Иргиз)	15

В результате исследований было установлено, что у всех изученных лягушек хромосомные наборы были одинаковы. Кариотип самца и самки состоит из 26 двуплечих хромосом, т.е. $NF=52$. Он представлен 5 парами крупных и 8 парами мелких хромосом (рис. 1). При этом 1-я пара хромосом представлена крупным метацентриком; 2–3-я пары субметацентрического типа примерно одного размера; 4–5-я пары – метацентрические, причем пятая пара имеет наименьшую относительную длину ($9,3 \pm 0,29$). В группе мелких хромосом 6-я пара – метацентрическая; 7-я пара хромосом в исследованных наборах имеет пограничные значения плечевого и

центромерного индексов (у лягушек из популяции р. Медведицы мы рассматриваем ее как метацентрическую – $1,6 \pm 0,08$ и $40,4 \pm 0,14$, у амфибий волжских популяций как субметацентрическую – $1,8 \pm 0,20$ и $35,8 \pm 2,56$); 8–9-я пары – субтелоцентрические. Причем 8-пара имеет максимальное значение плечевого индекса среди всех хромосом набора; 10-я пара – метацентрическая; 11–13-я пары – субметацентрики. На длинных плечах 11 пары хромосом имеется вторичная перетяжка. Половые хромосомы не обнаруживают гетероморфизма и поэтому не могут быть идентифицированы, что типично для бесхвостых амфибий.



Рис. 1. Хромосомный набор озерной лягушки *Rana ridibunda* из популяций водоемов бассейнов рек: а – Дона; б – Волги

При сравнительном анализе хромосомных показателей исследуемых лягушек выявлены некоторые особенности. Так, хромосомы *R. ridibunda* из пойменных биотопов рек Донского бассейна имеют меньшие размеры по сравнению с волжскими амфибиями. Наиболее высокие различия их хромосомных наборов выявлены в морфологии 7-й пары хромосом, вследствие этого хромосомная формула для *R. ridibunda* волжской популяции составляет $5V+6sV+2sT$, а для донской – $6V+5sV+2sT$. Кроме того у лягушек из непроточного водоема (окрестности г. Хвалынска) характерны максимальные значения относительной длины и плечевого индекса; в целом их хромосомы достоверно крупнее остальных с четко выраженной морфологической принадлежностью (табл. 2).

Среди большинства известных на сегодняшний день хромосомных аномалий бесхвостых амфибий [5] в нижневолжских популяциях *R. ridibunda* отмечено несколько типов: анеуплоидия, миксоплоидия, хромосомные перестройки. При этом большинство отмеченных аномалий регистрируется у амфибий в апреле – июне, т.е. в период максимальной митотической активности модельных животных.

Так, у лягушек с территории г. Саратова и из островной волжской популяции высока доля полиплоидных клеток (до 15%), которые представляют собой кратное увеличение гаплоидного набора ($n = 13$). Они не отличаются по форме хромосом от стандартного кариотипа.

Таблица 2. Хромосомные показатели озерных лягушек изолированных водоемов Хвалынского района, $n=51$

№ пары	Основные хромосомные показатели			тип
	<i>R.L.</i> ($M \pm m$)	<i>A.R.</i> ($M \pm m$)	<i>Ci</i> ($M \pm m$)	
1	15,1±0,19	1,3±0,16	42,8±0,70	V
2	12,3±0,17	2,1±0,05	31,8±0,51	sV
3	12,2±0,13	1,7±0,16	37,6±2,35	sV
4	11,2±0,20	1,5±0,17	38,6±0,67	V
5	9,2±0,19	1,2±0,08	44,7±1,17	V
6	6,3±0,08	1,1±0,14	48,4±0,05	V
7	5,7±0,10	1,7±0,18	37,2±2,76	V
8	5,6±0,20	3,8±0,20	20,7±0,71	sT
9	4,9±0,09	3,6±0,33	21,5±1,54	sT
10	4,8±0,18	1,2±0,04	46,1±0,05	V
11	4,8±0,12	1,8±0,20	35,8±2,56	sV
12	3,7±0,15	1,9±0,07	34,1±0,83	sV
13	3,3±0,04	1,8±0,17	35,4±2,08	sV

У особей из окрестностей г. Энгельса наряду с полиплоидными клетками встречается до 20% анеуплоидных клеток. При исследовании популяции лягушек из окрестностей с. Шумейка, нами были обнаружены особи, метафазные пластинки которых содержали многочисленные хромосомные перестройки: ацентрические и центромерные кольца, делеции (рис. 2). Частота встречаемости ЯОР в различных нижневолжских популяциях озерной лягушки также не одинакова. В водоемах, подверженных значительным антропогенным нагрузкам резко возрастает число хромосом в пределах одной метафазы, несущих ЯОР (табл. 3).

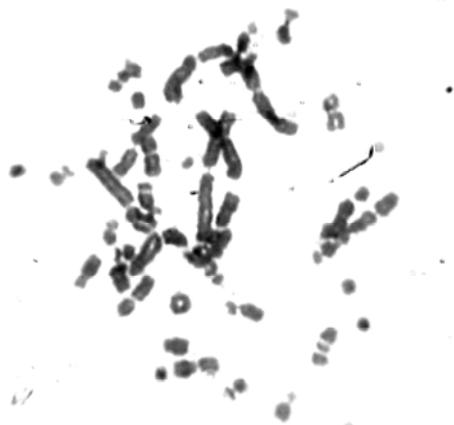


Рис. 2. Метафазная пластинка *Rana ridibunda* с аномалиями (бассейн р. Волги)

Таблица 3. Частота встречаемости ЯОР в популяциях озерной лягушки на исследуемой территории (% от общего числа исследованных метафаз)

Наличие ЯОР	Частота встречаемости			
	Волжский бассейн	Донской бассейн	изолированные внутренние водоемы	
			с низкой антропогенной нагрузкой	с высокой антропогенной нагрузкой
у одного гомолога	25,4	28,1	40,7	19,3
у двух гомологов	74,6	66,7	59,3	70,4
у более двух гомологов	-	5,2	-	10,3

Лягушки, у которых обнаружены хромосомные нарушения, отлавливались в водоемах примыкающих к урбанизированным территориям, подверженным значительной антропогенной нагрузке. Особи из поймы рек Медведицы и Б. Иргиза, а также с территории Национального парка «Хвалынский», характеризующихся не высоким антропогенным фоном, имели самый низкий процент кариологических нарушений (менее 1%).

Выводы: кариотип озерной лягушки с севера Н.Поволжья по основным цитогенетическим показателям аналогичен таковому модельного вида с территории Украины, Венгрии и Германии [6-8]. Однако он имеет региональные особенности, проявляющиеся в морфометрических характеристиках отдельных хромосом набора и в морфологии пары, несущей ЯОР. В связи с задачами эколого-цитогенетического мониторинга несомненный интерес представляет сравнительная оценка частоты хромосомных aberrаций и анеуплоидии

у озерных лягушек из Национального парка «Хвалынский» и урбанизированных ландшафтов крупных городов, результаты которой могут быть рекомендованы как индикаторные в мониторинге состояния природных и селитебных биотопов. Такие исследования на современном этапе весьма актуальны, поскольку загрязненных площади в результате промышленного освоения постоянно возрастают, что представляет опасность для всех компонентов экосистем региона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гилева, Э.А. Эколого-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 1997. – 106 с.
2. Захаров, В.М. Здоровье среды: Практика оценки / В.М. Захаров, А.Т. Чубинишвили, С.Г. Дмитриев и др. // М.: Центр экологической политики России, 2000. – 320 с.

3. Макгрегор, Г. Методы работы с хромосомами / Г. Макгрегор, Дж. Варли // М.: Мир, 1986. – 262 с.
4. Levan, A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes / A. Levan, K. Fredra, A. Sandberg // Hereditas. – 1964. – Vol. 52. – P. 201-220.
5. Манило, В.В. Миксоплоидия у *Rana ridibunda* и *Rana esculenta* (Anura, Amphibia) из Житомирской области Украины // Зоол. журн. – 2005. – С. 99-104.
6. Сурядная, Н.Н. Материалы по кариологии зеленых лягушек (*Rana ridibunda*, *Rana lessonae*, *Rana esculenta*) с территории Украины // Вестник зоологии. – 2003. – Т. 37 (1). – С. 33-40.
7. Mészáros, B. Critical studies on karyotypes of eight anuran species from Hungary and some problems concerning the evolution of the order // Acta biol. debres. – 1973. – Vol. 11. – P. 151-161.
8. Koref-Santibanez, S. Karyological and serological studies in *Rana lessonae*, *R. ridibunda* and in their hybrid *R.«esculenta»* (Amphibia, Anura) / S. Koref-Santibanez, R.Günter // Genetica. – 1980. – Vol. 52/53. – P. 195-207.

FEATURES OF INTERPOPULATION VARIABILITY OF CHROMOSOME INSTABILITY IN RANA (PELOPHYLAX) RIDIBUNDA FROM NORTHERN LOWER-VOLGA REGION

© 2009 E.I. Kaybeleva, E.V. Zavialov, V.G. Tabachishin
Saratov State University named after Chenyshevskiy

The chromosome sets of several populations of *Rana (Pelophylax) ridibunda* from various districts of the Saratov region with different levels of anthropogenic load were studied. The karyotype of the frogs under study has been found to be identical with that of other parts of the habitat by basic cytogenetic parameters ($2n=26$, $NF=52$). The regional features of the karyotype consist in morphometrical characteristics of separate chromosomes, in particular, the polymorphism of the 7th chromosome pair has been revealed. A dependence of the abnormal karyotype frequency on the reservoir pollution level has been established. E.g. the minimum number of individuals with a disturbed karyotype was observed in the reservoirs of the National Park "Khvalynsky" while the maximum one was in those of the highly urbanized territories of Saratov and Engels Cities.

Key words: interpopulation variability, frog limnetic, anthropogenic load

Elmira Kaybeleva, engineer. E-mail: biofac@sgu.ru
Evgeniy Zavialov, Doctor of Biology, Professor,
Department of Animals Morphology and Ecology.
E-mail: zavialov@info.sgu.ru
Vasiliy Tabachishin, Candidate of Biology, Associate Professor,
Department of Animals Morphology and Ecology