

УДК 597.828:591.34

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ КОМПОНЕНТ ИЗМЕНЧИВОСТИ РАЗВИТИЯ ЛИЧИНОК ТРАВЯНОЙ ЛЯГУШКИ (*RANA TEMPORARIA*, ANURA, AMPHIBIA) НА СТАДИИ ВЫЛУПЛЕНИЯ

© 2009 г. Е. А. Северцова

Биологический факультет Московского государственного университета, Москва 119899, Россия

e-mail: [Severtsova@mail.ru](mailto:Severtsova@mail.ru)

Поступила в редакцию 10.04.2008 г.

Экспериментальное исследование морфометрии вылупившихся личинок травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) проводилось в условиях кросс-сочетаний следующих факторов среды: низкой и высокой плотности посадки зародышей и химического состава воды из подмосковного или московского водоемов. Показано, что пластичность развития слабо зависит от воздействия среды. Развитие в воде из московского водоема характеризуется некоторым увеличением изменчивости исследованных морфометрических признаков, а развитие в условиях высокой плотности приводит к увеличению доли высоких коэффициентов корреляции между ними. Генетическая компонента изменчивости, оцениваемая при помощи коэффициента наследуемости в широком понимании, так же не вносит большого вклада в общую изменчивость морфогенеза. Это позволило более подробно проанализировать эпигенетическую компоненту изменчивости и выделить блоки признаков, корреляционные взаимодействия между которыми влияют на вариабельность формирующихся структур. Предложены дополнения к модели эпигенетического ландшафта Уоддингтона.

В современном понимании фенотипическая пластичность является способностью генотипа обеспечить морфологические, физиологические и поведенческие изменения организма в ответ на воздействие окружающей среды (West-Eberhard, 2003; Fordyce, 2006; Garland, Kelly, 2006). Эта способность определяет выживаемость организма в гетерогенных и/или эволюционно новых условиях среды (Scheiner, 1993; Via et al., 1995; Price et al., 2003), приводя к возникновению географической изменчивости (Thompson, 1999; 2005; Ridenhour, 2005), внутри- и межпопуляционных различий (Tollrian, Harvell, 1999; Roff, 1992; Agrawal, 2005). Фенотипическая пластичность может также играть важную роль в развитии, управляя изменением путей развития (West-Eberhard, 2003). В настоящее время показано, что окружающая среда воздействует и на экспрессию генов (Mogozova et al., 2006; Wittkopp, 2007). Так, у лисиц изменение фотопериода на этапе эмбрионального развития может приводить к изменению проявления генотипа: при сокращенном световом дне доминантная гомозигота проявляется как гетерозигота, а при продленном наблюдается 100% экспрессивность (Трут, 1987). Таким образом, в эволюционных исследованиях, в биологии развития, в молекулярной биологии термин “фенотипическая пластичность” используется для обозначения способности одного генотипа под действием

разных факторов среды производить разные фенотипы (Gordon, 1992; Via et al., 1995; Pigliucci, 2005; Garland, Kelly, 2006).

Такое понимание созвучно предложенному Шмальгаузенем (1969) понятию “нормы реакции”, сугубо индивидуальной характеристики, отражающей всю широту формирующейся в ответ на воздействие окружающей среды изменчивости организма (без изменения его генотипа) (Северцов, 2004). Чем шире норма реакции генотипа, тем шире пределы варьирования признака и тем шире диапазон условий среды, в которых данный признак обеспечивает выживание особи. Именно в нестабильных условиях особи с наиболее широкой нормой реакции будут получать селективное преимущество (Северцов, 1985; Северцов, Сурова, 1981). Паратипическая изменчивость возникает в результате воздействия на онтогенез факторов окружающей среды, а эпигенетическая (в понимании В.Г. Черданцева – морфогенетическая изменчивость) проявляется только как следствие усложнения структуры развивающегося организма (Cherdantsev, Scobeyeva, 1994).

Исследования влияния различных факторов окружающей среды на ранний эмбриогенез амфибий проводятся давно (Роус С., Роус Ф., 1964; Шварц, Пястолова, 1970; Шварц и др., 1976; Северцов, Сурова, 1979; Сурова, Северцов, 1985).

Такие факторы среды, как температура, концентрация  $O_2$ , плотность скопления головастиков, обилие корма, влияние хищников и другие, изучены достаточно хорошо. В частности, для головастика травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) на стадии вылупления из оболочек показана высокая чувствительность к качеству воды (Beattie et al., 1992), хоть и менее выраженная, чем для эмбриональных стадий развития (Saber, Dunson, 1978). Наши предыдущие исследования позволили сделать вывод, что стадию вылупления головастика из оболочек можно рассматривать как критическую стадию онтогенеза в понимании Светлова (1978). На этой стадии происходит сокращение общей изменчивости структур развивающихся зародышей (Северцова, 2002), сопровождающееся высокой смертностью головастика, достигающей в естественных водоемах 40–42% (Шупак, 1969; Северцов и др., 1997). Столь высокая смертность в течение постэмбрионального периода определяется главным образом “эффектом плотности”, т.е. взаимодействиями между головастиками, интенсивность которых зависит от плотности особей в скоплении (Северцов, 1996). Оптимальной считается плотность, при которой не наблюдается ни смертности, ни торможения роста и развития головастика. Она составляет 1 особь на 0.8 л воды (Шварц и др., 1976). При более высокой плотности начинает сказываться действие специфических белков, так называемых экзосметаболитов (Пикулик, 1977; Griffiths, 1991). Таким образом, два фактора среды – химический состав воды и плотность скопления головастика – оказывают существенное влияние на развитие головастика. Цель настоящей работы – исследовать совместное влияние этих факторов на изменчивость морфометрических признаков личинок на стадии вылупления.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа была проведена на пяти кладках травяной лягушки, собранных на территории юго-западного административного округа г. Москвы в районе Востряково весной 2004 г.

Химический анализ воды из исследованных водоемов был выполнен лабораторией Источников водоснабжения института “Водоканал”, НИИ “Проект” № Росс.RU001.510516. Состав воды оценивали по следующим показателям: запах (в баллах), мутность (мг/л), цветность (градус), рН, общая жесткость (мг экв/л); также была определена концентрация ионов  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  (мг экв/л),  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  (мг/л),  $HCO_3^-$  (мг экв/л) и нефтепродуктов (мг/л).

На стадии оплодотворения каждую из пяти кладок делили на четыре части. Первая серия икринок, названная ПН, развивалась в воде из под-

московного водоема в условиях оптимальной плотности головастика (1 головастик на 0.8 л воды) (Сурина, 1988). Вторая серия икринок, названная МН, развивалась в воде из родного московского водоема так же при нормальной плотности. Третья (ПВ) – в воде из подмосковного водоема, но в условиях высокой плотности головастика, превышающей оптимум в три раза (3 головастика на 0.8 л). Четвертая серия (МВ) включала головастика, чье развитие проходило в воде из московского водоема при высокой плотности. Каждая из четырех серий содержала по три повторности. Таким образом, было 60 емкостей; из каждой емкости фиксировали 7% формалином по 30 головастика, достигших стадии вылупления (31–32 стадии, согласно таблицам Дабагян и Слепцовой (1975)). Под биноклем с помощью окуляр-микрометра (с точностью до 1 деления; 20 делений линейки окуляр-микрометра – 1 мм) их подвергали морфометрическому анализу по следующим признакам (рис. 1):  $Lo$  – общая длина головастика (от наиболее выступающей точки морды до кончика хвостовой пластины);  $Lx$  – длина хвостовой пластины (от анального отверстия до кончика хвостовой пластины);  $Dl$  – длина морды (от основания жаберных лепестков до наиболее выступающей точки морды);  $Vis$  – высота морды (от ротовой присоски до наиболее выступающей точки морды);  $W$  – ширина ротовой присоски;  $H$  – высота ротовой присоски;  $G$  – число жаберных лепестков, суммированных с левой и правой сторон зародыша. Кроме того, определяли номер стадии развития по таблицам Дабагян и Слепцовой (1975). В анализ оценки развития были включены также индексы, отражающие пропорциональность развития головастика. Соотношение  $Lx/Lo$  – показатель пропорциональности размера хвостовой пластины относительно общей длины тела. Соотношение  $Dl/Vis$  является показателем пропорциональности развития головных структур. Площадь ротовой присоски  $(W*H)/2$  рассматривалась нами как показатель надежности прикрепления только что вылупившегося головастика к оболочкам, на которых он некоторое время находится, прежде чем перейти к стадии свободного плавания. Показателем симметричности развития жаберных лепестков служил коэффициент асимметрии. Его расчет проводился по формуле:

$$As(G) = \frac{Gl - Gr}{1/2(Gl + Gr)}$$

Результаты морфометрического анализа обрабатывали при помощи программ Excel и STATISTICA 6.0. Изменчивость исследуемых признаков оценивали по величине коэффициента вариации. Корреляционный анализ был проведен с использованием коэффициентов корреляции

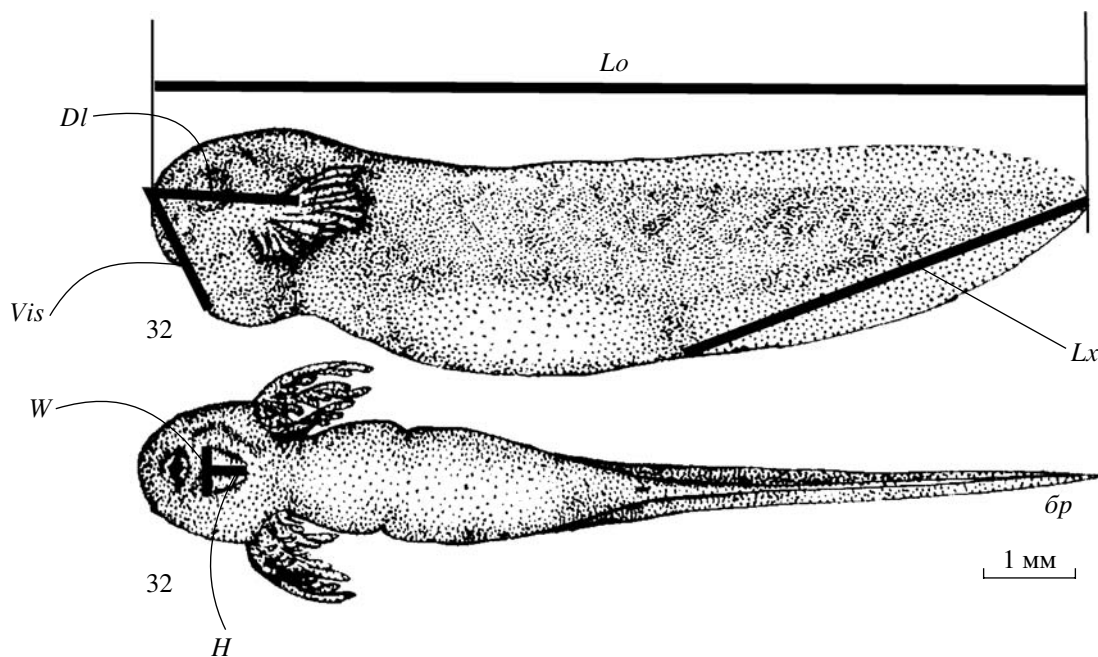


Рис. 1. Исследованные морфометрические признаки. Обозначения см. в тексте.

рангов Спирмена, а в случае многомерного анализа рассчитывали коэффициент детерминации. Факторный анализ с использованием нормализующей варимакс-ротации был выполнен для трех факторов, количество которых определяли и методом “каменистой осыпи” (Cattell, 1966), и с учетом собственных значений факторных нагрузок.

Установить, в какой степени исследуемые признаки определяются аддитивным эффектом генов (т.е. выделить наследуемость в “узком смысле” – Рокицкий, 1978) по таким полигенным признакам, как темпы роста и развития, затруднительно, прежде всего, из-за долгого полового созревания исследуемого вида. У травяной лягушки можно оценить лишь степень влияния родительской пары на формирование признаков потомства, рассчитав коэффициент генетической детерминации (или наследуемость в “широком смысле”) (Фолконер, 1985). Его расчет был проведен на основе результатов иерархического дисперсионного анализа со случайным фактором “повторность” (random). Недостатком этого коэффициента является то, что он суммарно отражает различные типы генных взаимодействий, а также чувствительность генов к внешней среде и материнский эффект. Тем не менее, его значение можно рассматривать в качестве оценки верхней границы генетической дисперсии, а выравнивание условий проведения эксперимента выравнивает средовое воздействие.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты химического анализа воды показали, что в московском водоеме, расположенном в районе Востряково, из которого была взята икра для эксперимента, в 26.5 раз выше концентрация ионов хлора, по сравнению с подмосковным водоемом (445 мг/л против 16.8 мг/л). Такое существенное различие объясняется близостью автодороги (МКАД), которую в течение зимы обрабатывают антигололедными реагентами. Кроме того, в московском водоеме было отмечено превышение в 9–11 раз концентраций следующих микроэлементов: сульфатов (92 мг/л в московском водоеме и 12.5 мг/л в подмосковном), цинка (0.095 мг/л и 0.01 мг/л), натрия (75.6 мг/л и 8.4 мг/л) и свинца (4.85 мкг/л и 0.43 мкг/л). В меньшей степени, в 4–5 раз, эти водоемы различались по общей жесткости и, соответственно, концентрациям ионов кальция и магния, а также ионов никеля, хрома и железа. Примерно тот же уровень различий наблюдался и в концентрации нефтепродуктов: в московском водоеме 0.033 мг/л, а в подмосковном – 0.009 мг/л. Следует отметить, что по всем показателям, кроме концентрации ионов хлора, железа и общей жесткости воды, значения ПДК для московского водоема не были превышены.

Предварительный статистический анализ показал, что средние значения и значения коэффициентов вариации стадии развития личинок (*Stad*) между сериями и между кладками различаются незначимо. Это позволяет предположить, что развитие личинок травяной лягушки проходило

практически синхронно вне зависимости от условий. Тем не менее, наблюдалась вариабельность метрических признаков. Общая длина личинок, чье развитие проходило в воде из подмосковного водоема при нормальной плотности, в среднем наименее вариабельна ( $Cv(Lo) = 8.36\%$ ), тогда как для других серий эксперимента ее вариабельность больше. Так, значение коэффициента вариации признака  $Lo$  в серии МН составляет 10.61%, в серии ПВ 10.9%, а в серии МВ 10.93%. Высоко изменчивым оказывается признак “длина хвостовой пластины”. Наибольшие значения  $Cv$  этого признака наблюдаются в тех сериях эксперимента, где шло развитие личинок в воде из московского водоема. Так, оценки  $Cv$  для серий МН и МВ составляют 20.82 и 21.25%, соответственно. Наименее вариабельной оказывается длина хвостовой пластины в серии ПН, где значение коэффициента вариации этого признака больше 16.44%. Аналогичная картина наблюдается и при анализе признака  $Lx/Lo$ : наибольшие значения  $Cv$  наблюдаются для серий МН и МВ – 13.46 и 14.06%, соответственно. В подмосковных сериях вариабельность отношения длины хвостовой пластины к общей длине тела значимо ниже:  $Cv = 10.94\%$  для серии с нормальной плотностью и 12.33% – для серии с высокой плотностью развития личинок.

Оценка изменчивости морфометрических признаков головных структур личинок показала их меньшую вариабельность, по сравнению с размерами зародыша в целом. Так, значения коэффициентов вариации признаков  $Dl$  и  $Vis$  у головастика серии МН наиболее высоки практически для всех кладок.  $Cv$  признака “длина морды” колеблется от 6.68 до 9.04% в серии МН (в среднем 8.38%) и не существенно превосходит значения  $Cv$  для наименее вариабельной серии ПН, где он составляет 7.17–8.57% (в среднем 7.64%). По признаку “высота морды” межсерийные различия меньше:  $Cv$  для серии МН составляет 6.91%, тогда как для серии ПН – 5.98%, для серии МВ – 6.57 и для серии ПВ – 5.93%. Более четко тенденция увеличения вариабельности развития головных структур при развитии головастика в воде из московского водоема прослеживается при анализе отношения  $Dl/Vis$ . Высокими оказываются значения  $Cv$  для этих серий (для МН 9.17% и для МВ 8.17%). При этом наименее изменчивым оказывается признак  $Dl/Vis$  для серии ПН: в среднем он составляет 7.22%.

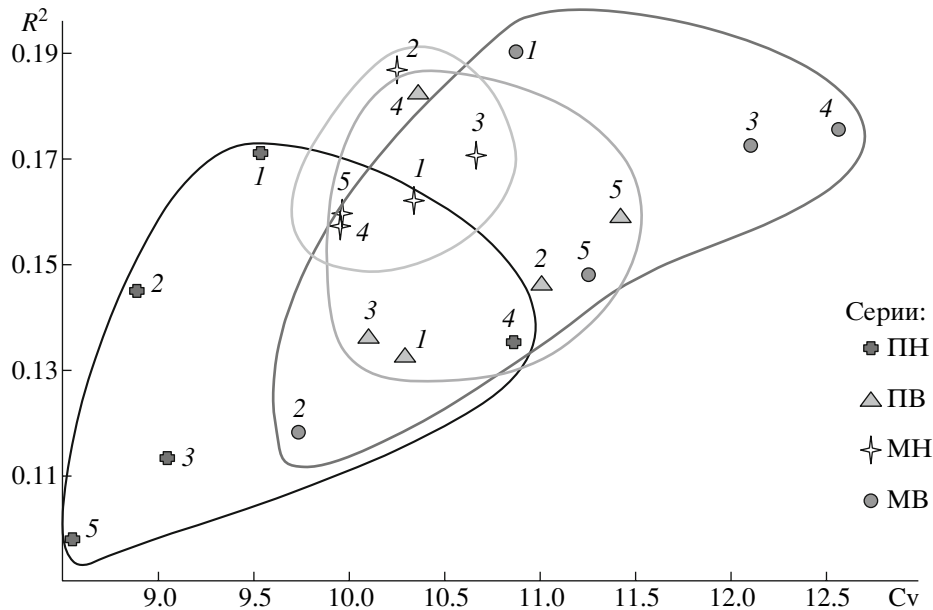
Значения коэффициентов вариации признаков, характеризующих формирование ротовой присоски, для серий ПВ и МВ были выше, чем в сериях ПН и МН. Например, значения  $Cv$  ширины ротовой присоски у личинок составляют 15.2 и 15.31% при развитии в условиях высокой плотности, а так же 11.42 и 10.76% – для серий, в которых развитие головастика проходило при опти-

мальной плотности. Аналогичный уровень значений коэффициентов вариации наблюдается и для признака “высота ротовой присоски”. Изменчивость площади ротовой присоски ( $(W*H)/2$ ) может быть в 1.4 раза выше в сериях с высокой плотностью. Так, для разных кладок значения  $Cv$  по этому признаку в серии ПН в исследованных кладках колеблются от 10.81 до 12.22% (в среднем 12.82%), а в серии ПВ – от 13.12 до 17.9% (в среднем 17.62%).

Значимые межсерийные различия наблюдались и при анализе изменчивости числа жаберных лепестков. Интересно отметить, что, несмотря на различия между сериями эксперимента в 1.5–2 раза, формирование жаберного аппарата у личинок, чье развитие проходило в воде из подмосковного водоема и при высокой плотности, было наименее вариабельным, а в условиях той же высокой плотности развития, но в воде из московского водоема – наиболее вариабельным.

Результаты корреляционного анализа мы рассматривали как оценку скоррелированности развития, включающую в себя две составляющие. Во-первых, число значимых коэффициентов корреляции при условии равной численности выборок, на наш взгляд, можно рассматривать как показатель целостности развития, т.е. насколько взаимозависимо происходит формирование исследуемых структур зародыша. Во-вторых, сами значения коэффициентов корреляции можно расценивать как показатель жесткости, т.е. силы взаимодействия развивающихся структур.

Корреляционный анализ признаков личинок на стадии вылупления показал относительно высокую зависимость развивающихся структур друг от друга. Доля значимых коэффициентов корреляции Спирмена составляла от 25 до 75% (в среднем около 44.6%). Интересно, что, несмотря ни на условия развития, ни на межкладочные различия, между признаками  $Stad$ ,  $Lo$  и  $Lx$  наблюдались высокие (более 0.6) значения коэффициентов корреляции. Менее сильной (около 0.4), но не менее стабильной, является взаимосвязь между признаками  $Dl$  и  $Vis$ . Эти два блока признаков, вне зависимости от серий эксперимента и особенностей анализируемых кладок, остаются неизменными. Только “число жаберных лепестков” может быть отнесено в группу “общеразмерных” признаков ( $Stad$ ,  $Lo$  и  $Lx$ ), но не для всех кладок. Например, в серии ПН число жаберных лепестков в меньшей степени связано с ростом головастика по мере его развития. Об этом свидетельствует либо наличие не сильной (на уровне меньше 0.6) коррелятивной связи этого признака с  $Stad$ ,  $Lo$  и  $Lx$ , либо вообще отсутствие этой связи. В остальных сериях эксперимента формирование жаберного аппарата у личинок так же специфично для каждой кладки, но



**Рис. 2.** Зависимость обобщенного коэффициента вариации ( $C_v$ ) от коэффициента детерминации ( $R^2$ ): 1–5 номера кладок; линии объединяют разброс точек, принадлежащих одной серии.

более стабильно связано с ростом личинки по мере ее развития.

Все наблюдаемые различия в значениях коэффициентов корреляции между сериями эксперимента проявляются в изменении как числа пар признаков, коэффициенты корреляции которых оказываются значимыми, так и в значении этих коэффициентов. Наибольшее число взаимозависимых пар признаков наблюдалось в сериях МН и ПВ, т.е. в исходных и в реверсивных условиях. В этих сериях доля значимых коэффициентов корреляции составляла больше 50%. В серии МВ взаимозависимость признаков была выражена в меньшей степени (менее 50%). Наименее коррелированно шло развитие в условиях нормальной плотности личинок в воде из подмосковного водоема.

Для каждой из пяти кладок во всех сериях эксперимента были рассчитаны значения обобщенного коэффициента вариации (Животовский, 1991) и коэффициента детерминации (Ростова, 2002). Как видно из рис. 2, наиболее высокая вариабельность развития по сравнению с другими сериями эксперимента свойственна головастикам серии МВ. При этом наблюдается увеличение значений коэффициентов детерминации по мере возрастания значений коэффициентов вариации. По сравнению с этой серией, в условиях нормальной плотности (серия МН) развитие личинок оказывается менее вариабельным процессом при относительно высокой его коррелированности. Несколько иная картина наблюдается при анализе кладок, чье развитие проходило в воде из подмосковного водоема. В серии ПН среди кладок встре-

чаются и повторности с высоким значением  $R^2$  и  $C_v$ , а также с низкими значениями этих показателей. В серии ПВ изменчивость значительно меньше, тогда как коррелятивные взаимодействия оказываются по-прежнему сильны. Фактически, “облако” значений коэффициентов детерминации и вариации, рассчитанных для зародышей, чье развитие проходило в условиях высокой плотности, оказывается смещенным в сторону увеличения значений обоих показателей. Следует отметить, что для каждой кладки скоррелированность и вариабельность развития в каждой серии эксперимента оказывается специфичной.

Проведение факторного анализа позволило разделить исследуемые признаки на три группы, причем для всех серий эксперимента распределение этих групп признаков по значимости факторов было идентичным (табл. 1). Наибольшие факторные нагрузки по фактору 1 приходились на признаки *Lo*, *Lx*, *G* и *Stad*, что позволяет рассматривать этот фактор как характеристику роста зародыша, т.е. изменение его размеров во времени. Фактор 2, рассматриваемый нами как влияющий на процессы дифференциации, имеет высокие факторные нагрузки по признакам *Dl* и *Vis*. В третью группу признаков вошли промеры ротовой присоски, *W* и *H*, имеющие максимальные нагрузки по фактору 3 во всех сериях эксперимента, за исключением серии ПВ. Более интересными представляются результаты факторного анализа не самих признаков, а индексов, рассчитанных на их основе (табл. 2). Во всех четырех сериях эксперимента наибольшие факторные нагрузки по фактору 1 приходятся на призна-

Таблица 1. Результаты факторного анализа признаков

Признак	Серия ПН			Серия ПВ		
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
<i>Lo</i>	<b>0.918</b>	0.068	0.088	<b>0.889</b>	0.207	0.193
<i>Lx</i>	<b>0.908</b>	0.03	0.132	<b>0.898</b>	0.146	0.115
<i>Dl</i>	-0.102	<b>0.859</b>	0.136	0.016	<b>0.858</b>	-0.042
<i>Vis</i>	0.233	<b>0.841</b>	-0.017	0.203	<b>0.809</b>	0.076
<i>W</i>	0.118	-0.005	<b>0.782</b>	0.477	-0.102	0.354
<i>H</i>	0.095	0.11	<b>0.751</b>	0.049	0.055	<b>0.942</b>
<i>G</i>	<b>0.722</b>	0.021	0.111	<b>0.837</b>	-0.015	-0.2
<i>Stad</i>	<b>0.913</b>	0.075	0.058	<b>0.899</b>	0.217	0.122
Expl. Var	3.112	1.470	1.234	3.375	1.518	1.125
Prp. Totl	0.389	0.184	0.154	0.422	0.19	0.141
Признак	Серия МН			Серия МВ		
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
<i>Lo</i>	<b>0.93</b>	-0.013	0.174	<b>0.944</b>	0.081	0.022
<i>Lx</i>	<b>0.944</b>	-0.059	0.049	<b>0.898</b>	0.071	0.095
<i>Dl</i>	-0.288	<b>0.776</b>	0.092	0.012	<b>0.83</b>	0.04
<i>Vis</i>	0.262	<b>0.81</b>	0.079	0.173	<b>0.822</b>	0.025
<i>W</i>	0.106	0.239	<b>0.597</b>	-0.125	0.151	<b>0.822</b>
<i>H</i>	0.086	-0.066	<b>0.869</b>	0.206	-0.08	<b>0.793</b>
<i>G</i>	<b>0.72</b>	0.012	0.057	<b>0.816</b>	0.022	-0.017
<i>Stad</i>	<b>0.901</b>	0.061	0.104	<b>0.906</b>	0.139	0.04
Expl. Var	3.256	1.328	1.172	3.273	1.426	1.318
Prp. Totl	0.407	0.166	0.147	0.409	0.178	0.165

Таблица 2. Результаты факторного анализа коэффициентов

Признак	Серия ПН			Серия ПВ		
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
<i>Stad</i>	<b>0.886</b>	-0.037	0.025	<b>0.857</b>	0.069	-0.089
<i>Lx_Lo</i>	<b>0.806</b>	0.1	0.088	<b>0.824</b>	-0.15	-0.04
<i>DL_VIS</i>	-0.425	0.675	0.212	-0.053	<b>-0.962</b>	0.068
$(W \times H)/2$	0.38	<b>0.749</b>	-0.09	0.606	0.258	0.083
<i>As(G)</i>	0.084	0.04	<b>0.973</b>	-0.028	-0.06	<b>0.991</b>
Expl. var	1.766	1.030	1.009	1.783	1.023	1.004
Prp. totl	0.353	0.206	0.202	0.357	0.205	0.201
Признак	Серия МН			Серия МВ		
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
<i>Stad</i>	<b>0.875</b>	0.102	0.203	<b>0.837</b>	0.026	0.027
<i>Lx_Lo</i>	<b>0.857</b>	0.012	-0.003	<b>0.864</b>	0.101	0.088
<i>DL_VIS</i>	-0.683	0.053	0.019	-0.417	0.504	0.563
$(W \times H)/2$	0.066	0.039	<b>0.993</b>	0.22	-0.234	<b>0.821</b>
<i>As(G)</i>	0.015	<b>0.997</b>	0.039	0.183	<b>0.852</b>	-0.174
Expl. var	1.972	1.008	1.028	1.703	1.045	1.029
Prp. totl	0.394	0.202	0.206	0.341	0.209	0.206

ки *Stad* и *Lx/Lo*. В московских сериях фактор 2 имеет наибольшие нагрузки у признака *As(G)*, – коэффициента асимметрии формирующихся жабр зародыша. В сериях, где развитие зародышей проходило в подмосковной воде, роль симметричности формирования жабр ослабевает (Фактор 3); – в этих сериях большую роль играют площадь ротовой присоски у зародышей, чье развитие проходило при нормальной плотности, и пропорциональность головных структур у зародышей, которые развивались при высокой плотности.

Применение иерархического дисперсионного анализа (метод *Exhrested MS*) со случайным фактором “повторность” позволило провести приближительную оценку наследуемости включенных в анализ признаков (табл. 3). Результаты этой оценки показывают, что в формировании исследуемых признаков доля генетической изменчивости (в широком понимании этого термина) не высока и составляет около 10%, доходя для некоторых признаков московских серий до значений около 40%. Общей тенденцией является увеличение значений коэффициентов наследуемости в сериях МН и МВ, по сравнению с сериями, развивающимися в подмосковной воде.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Как показывают немногочисленные экспериментальные данные, доля генетической компоненты в общей изменчивости ранних стадий эмбриогенеза не велика и значительно варьирует по исследованным признакам в зависимости от условий эксперимента (Сурова, 1988а; Travis, 1980; 1981; Berven, 1982; Berven, Gill, 1983). Например, у головастика *Rana silvatica* из популяций равнин Мериленда, гор Виргинии и тундры Северной Канады наследуемость темпов роста составляет 0.08, 0.58 и 0.27, соответственно (Berven, Gill, 1983). Проведенный нами расчет коэффициента наследуемости (в широком смысле этого термина) ряда морфометрических признаков зародышей травяной лягушки на стадии вылупления показал, что в среднем доля генетической компоненты составляет около 10%. Это позволяет рассматривать общую изменчивость как сочетание паратипической и эпигенетической компонентов изменчивости.

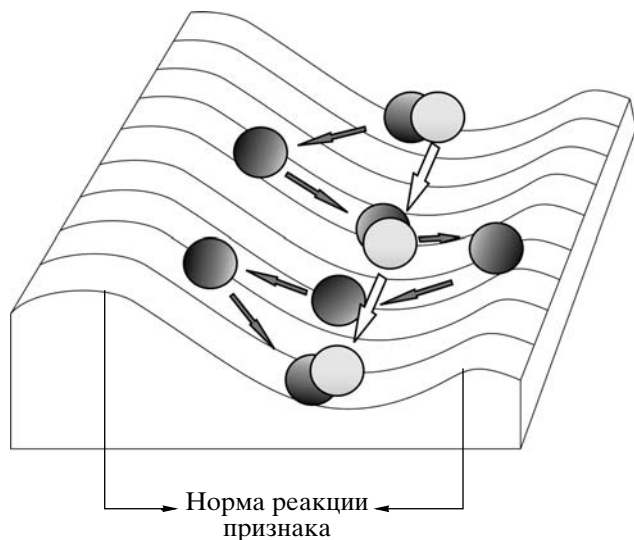
Для исследования паратипической изменчивости были выбраны два фактора среды: химический состав воды и плотность, при которой происходило эмбриональное развитие личинок. Поскольку в эксперименте использованы кладки травяной лягушки из московского водоема, помещение этой икры в воду подмосковного водоема, по своему химическому составу отличную от той, в которой обитают и размножаются лягушки городской популяции уже много поколений, не стоит рассматривать как контроль или как опти-

**Таблица 3.** Значения коэффициентов наследуемости (%)

Признак	ПН	МН	ПВ	МВ
<i>Lo</i>	15.85	32.5	10.64	29.95
<i>Lx</i>	10.67	28.14	11.73	21.81
<i>DI</i>	10.61	19.01	2.69	8.41
<i>Vis</i>	1.21	4.78	4.12	8.44
<i>W</i>	6.83	8.6	2.86	12.4
<i>H</i>	10.06	22.88	6.74	3.51
<i>G</i>	18.48	20.13	5.61	38.56
<i>Stad</i>	5.93	25.09	8.12	24.43

мальные условия. Второй фактор среды – плотность головастика – является не менее важным. Безусловно, его влияние более существенно на поздних стадиях развития, когда начинает действовать так называемый “эффект группы” (Шварц и др., 1976; Северцов, 1996). Однако и на этапе развития внутри оболочек количество икринок в скоплении тоже важно, т.к. является регулятором доступа кислорода внутрь скопления (Сурова, Северцов, 1985). Поскольку в природе не наблюдается действия какого-то одного фактора среды, была предложена схема эксперимента с использованием кросс-сочетаний этих факторов при максимальной выравненности остальных параметров (температуры, освещенности и т.п.). Результаты факторного анализа позволяют прийти к заключению, что действие химического состава воды и разной плотности головастика оказывает слабое влияние на общий характер морфогенеза. Основную роль играют темповые характеристики роста: увеличение общих размеров личинки и длины ее хвостовой пластины в зависимости от стадии развития. Дифференциация головных структур, развитие жаберного аппарата и ротовой присоски более подвержены воздействию факторов среды. Так, у зародышей из московских серий наибольшие факторные нагрузки приходятся на признак *As(G)*, т.е. на характеристику симметричности формирования жаберного аппарата. В сериях эксперимента, где развитие зародышей проходило в воде из подмосковного водоема, не столь существенным оказывается дифференциация жабр. Более важно формирование ротовой присоски (серия ПН) или пропорций головы (серия ПВ).

Проведенный анализ позволил выделить группы (или блоки) признаков, характеризующие основные процессы, наблюдаемые на данной стадии развития травяной лягушки. К первой группе можно отнести признаки, характеризующие темповые характеристики роста: *Lo*, *Lx*, *Stad*. Развитие личинок в московской воде приводит к увеличению вариабельности размеров. В подмосковной воде и, особенно, при нормальной плотности



**Рис. 3.** Модель эпигенетического ландшафта Уоддингтона (по: Шишкин, 1984) с изменениями. Участок эпигенетического ландшафта, по долине (креоде) которого перемещается шарик, что символизирует путь развития признака. Ширина креода определяется нормой реакции данного признака, глубина креода – генетической детерминированностью. Перемещение светлого шарика по креоде символизирует развитие признака в благоприятных условиях, перемещение темного шарика – в неблагоприятных условиях, требующих регуляции развития.

изменчивость этих признаков оказывается ниже. Формирование головных структур, линейные размеры которых составляют вторую группу признаков, оказывается практически независимым от остального морфогенеза процессом. Этого нельзя сказать об изменчивости числа жаберных лепестков (группа 3). Развитие в воде из московского водоема приводит к возрастанию разнообразия их числа во всех сериях эксперимента, что сопровождается увеличением значений коэффициентов корреляции этого признака с признаками, характеризующими рост зародыша. Высока вариабельность размеров ротовой присоски (группа 4) в условиях повышенной плотности развития зародышей. Возможно, это характерно для данной стадии, поскольку вылупившиеся личинки первое время гроздью висят на оболочках, прикрепляясь к ним с помощью ротовых присосок.

Таким образом, развитие зародышей в воде из подмосковного водоема при нормальной плотности оказывается наиболее уравновешенным процессом, в основе изменчивости которого лежат межкладочные различия, а коррелированность процессов эмбриогенеза основывается на принципе “лучше слабее, но больше”. Развитие в воде из московского водоема увеличивает изменчивость морфогенеза, которая компенсируется при нормальной плотности увеличением общей кор-

релированности за счет большего числа слабых коэффициентов, а при высокой плотности – за счет формирования группы жестко коррелированных признаков внутри блоков. Тот факт, что условия развития при высокой плотности приводят к формированию блочной организации морфогенеза, подтверждается и данными по развитию головастиков серии ПВ, где невысокая изменчивость исследованных признаков сопровождается небольшим числом значимых коэффициентов корреляции, значения которых в большинстве являются сильными (более 0.6). Подтверждаются эти данные и при анализе множественных коэффициентов вариации и коэффициентов детерминации: в условиях развития в московской воде происходит увеличение вариабельности и скоррелированности развития, а при развитии в воде из водоема в Подмоскowie – в сокращении общей изменчивости и увеличении числа слабых значений коэффициентов корреляции между признаками. Таким образом, влияя на сами признаки, окружающая среда не изменяет блочности их структуры. Лишь в случае, когда воздействие вызывает увеличение вариабельности развития, наблюдается либо независимое развитие блоков, либо возникновение новых коэффициентов корреляции между блоками и, как следствие, формирование единой системы нежестких корреляционных взаимодействий.

В разнообразных условиях окружающей среды пределы, в которых возможно изменение признака, ограничиваются его нормой реакции. Механизмы “удержания” процесса формирования признака в этих рамках для раннего эмбриогенеза практически не изучены. В данной работе и в более ранних наших работах мы рассматривали в качестве возможного регуляторного механизма изменение соотношения вариабельности и скоррелированности процессов морфогенеза. Возможно, этот способ регуляции развития можно проиллюстрировать перемещением шарика в желобе креода в модели эпигенетического ландшафта, предложенной Уоддингтоном (1947) (см. Шишкин, 1984). Если рассматривать шарик как состояние отдельного признака, то путь, пройденный шариком-признаком, будет представлять собой путь развития этого признака. В стабильных условиях происходит перемещение шарика по дну “желоба”, и мы, анализируя изменчивость этого пути, будем видеть, что она не высока. В случае возникновения “помех” происходит “раскачивание” шарика в желобе креода и, тем самым, наблюдается увеличение изменчивости признака (рис. 3). При этом необходима постоянная корректировка пути развития, удерживающая “шарик” в желобе. Если рассматривать ширину “желоба” как ширину нормы реакции признака, то признаки с широкой нормой реакции, которые как раз и характерны для эмбриональных стадий развития, будут замедлять свое



развитие, поскольку будет затрачено время на корректировку развития, т.е. на формирование большого числа не жестких корреляционных связей между структурами зародыша. В случае формирования небольшого числа сильных связей, т.е. фактически в случае блочного развития, позволяющего ускорить формирование отдельных структур, возможно возникновение гетерохроний. Безусловно, проверка данного предположения нуждается в дальнейших исследованиях.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю искреннюю благодарность за интересное обсуждение, ценные замечания и колоссальное терпение А.С. Северцову, В.Г. Черданцеву, Н.С. Ростовской, С.Б. Ивницкому, Ю.А. Краус и Г.С. Суровой.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (08-04-00664-а) и Программы поддержки ведущих научных школ (НШ-192.2008.4).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дабаган Н.В., Слепцова Л.А., 1975. Травяная лягушка (*Rana temporaria* L.) // Объекты биологии. М.: Наука. С. 442–462.
- Животовский Л.А., 1991. Популяционная биометрия. М.: Наука. С. 270.
- Пикулик М.М., 1977. Экспериментальное изучение роста и развития личинок *Rana temporaria* в природных условиях // Экология. № 3. С. 98–101.
- Рокицкий П.Ф., 1978. Введение в статистическую генетику. Минск: Высшая школа. 448 с.
- Ростова Н.С., 2002. Корреляции: структура и изменчивость. СПб.: Из-во С.-Петербургского университета. 307 с.
- Роус С., Роус Ф., 1964. Выделение головастиками веществ, задерживающих рост // Механизмы биологической конкуренции. М.: Мир. С. 263–277.
- Светлов П.Г., 1978. Физиология (механика) развития. Внутренние и внешние факторы развития. Л.: Наука. 264 с.
- Северцов А.С., 1985. Возникновение пластичных признаков фенотипа под действием отбора // Журнал общей биол. Т. 46. № 5. С. 579–589. 1996. Групповой отбор, как причина возникновения групповых адаптаций // Зоол. журн. Т. 75. № 10. С. 1525–1540. – 2004. Теория эволюции. М.: Владос. 380 с.
- Северцова Е.А., 2002. Адаптивные процессы и изменчивость эмбриогенеза бесхвостых амфибий в городских популяциях. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Изд-во МГУ. 24 С.
- Северцов А.С., Ляпков С.М., Сурова Г.С., 1997. Критерии дискретности экологических ниш этапов онтогенеза бурых лягушек // Бюл. Моск. об-ва испыт. природы. Отд. биол. Т. 102. №. 6. С. 28–33.
- Северцов А.С., Сурова Г.С., 1979. Гибель травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) в раннем онтогенезе и факторы ее определяющие // Зоол. журн. Т. 58. № 3. С. 393–403. 1981. Индивидуальная изменчивость нормы реакции и адаптация популяции // Журн. общей биологии. Т. 42. № 2. С. 181–192.
- Сурова Г.С., 1988. Взаимодействие личинок бурых лягушек в естественных условиях // Экология. № 4. С. 49–54. 1988 а. Средовая и наследственная компоненты темпов онтогенеза личинок травяной (*Rana temporaria*) и остромордой (*R. arvalis*) лягушек // Зоол. журн. Т. 67. Вып. 3. С. 396–405.
- Сурова Г.С., Северцов А.С., 1985. Гибель травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) в раннем онтогенезе и факторы ее вызывающие // Зоол. журн. Т. 44. Вып. 1. С. 61–71.
- Трут Л.Н., 1987. “Проблема формообразования и целостность организма в контексте дестабилизирующего отбора” // Генетика. Т. 23. № 6. С. 974–987.
- Уоддингтон К.Х., 1947. Организаторы и гены. М.: Гос. Из-во иностр. лит. 240 с.
- Фолконер Д.С., 1985. Введение в генетику количественных признаков. М.: Агропромиздат. 486 с.
- Шварц С.С., Пястолова О.А., 1970. Регуляторы роста и развития личинок земноводных // Экология. № 1. С. 77–82.
- Шварц С.С., Пястолова О.А., Добринская А.А., Рункова Г.Г., 1976. Эффект группы в популяциях водных животных и химическая экология. М.: Наука. 1562 с.
- Шишкин М.А., 1984. Индивидуальное развитие и естественный отбор // Онтогенез. Т. 15. № 2. С. 115–136.
- Шмальгаузен И.И., 1969. Проблемы дарвинизма. Л.: Наука. 492 с.
- Шунак Е.Л., 1969. К развитию головастиков остромордой лягушки в естественных водоемах // Экология. № 1. С. 83–86
- Agrawal A.A., 2005. Future directions in the study of induced plant responses to herbivory // Entomol. Exp. Appl. V. 115. P. 97–105.
- Beattie R.S., Tyler-Jones R., Baxter M.J., 1992. Influence of pH, aluminium, temperature on embryonal development of *Rana temporaria* // J. Zool. V. 228. № 4. P. 557–570.
- Berven K.A., 1982. The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog, *Rana sylvatica*. 1. An experimental analysis of larval development // Oecologia. V. 52. № 3. P. 360–369.
- Berven K.A., Gill D.E., 1983. Interpreting geographic variation in life-history traits // Amer. Zool. V. 23. № 1. P. 85–97.
- Cattell R.B., 1966. The scree test for the number of factors // Multivariate Behavioral Research. V. 1. P. 245–276.
- Cherdantsev V.G., Scobeyeva V.A., 1994. The morphological basis of self-organization. Developmental and evolutionary aspects // RiVista di Biologica-Biology forum. V. 87. № 1. P. 57–85.
- Fordyce J.A., 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity // J. Exp. Biol. V. 209. P. 2377–2383.
- Garland T.Jr., Kelly S.A., 2006. Phenotypic plasticity and experimental evolution // J. Exp. Biol. V. 209. P. 2344–2361.
- Gordon D.M., 1992. Phenotypic plasticity // In keywords in evolutionary biology. Cambridge, MA: Harvard University Press. P. 255–262.

- Griffiths R.A., 1991. Competitions between common frog, *Rana temporaria*, and the natterjach toad, *Bufo calamita*, tadpoles // Soc. Eur. Herp. The oth. OGH. Aug. 19–23. Budapest. P. 37.
- Morozova T.V., Anholt R.R., Mackay T.F., 2006. Transcriptional response to alcohol exposure in *Drosophila melanogaster* // Genome Biol. V. 7. P. 95.
- Pigliucci M., 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? // Trends Ecol. Evol. V. 20. P. 481–486.
- Price T.D., Qvarnstrom A., Irwin D.E., 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution // Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. V. 270. P. 1433–1440.
- Ridenhour B.J., 2005. Identification of selective sources: partitioning selection based on interactions // Am. Nat. V. 166. P. 12–25.
- Roff D.A., 1992. The Evolution of Life Histories. N.-Y.: Chapman & Hall.
- Saber D.A., Dunson W.A., 1978. Toxicity of bog water to embryonic and larval anuran amphibians // J. Exp. Zool. V. 204. № 1. P. 33–34.
- Scheiner S.M., 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity // Annu. Rev. Ecol. Syst. V. 24. P. 35–68.
- Thompson J.N., 1999. The evolution of species interactions // Science. V. 284. P. 2116–2118. 2005. The Geographic Mosaic of Coevolution. Chicago: The University of Chicago Press.
- Tollrian R., Harvell C.D., 1999. The Ecology and Evolution of Inducible Defenses // Princeton: Princeton University Press.
- Travis J., 1980. Genetic variation for larval specific growth rate in the *Hyla gratiosa* // Growth. V. 44. № 3. P. 167–181. – 1981. Control of larval growth variation in a population of *Pseudacris triseriata* (Amura: Hylidae) // Evolution. V. 35. № 3. P. 424–432.
- Via S., Gomulkiewicz R., De Jong G., Scheiner S.M., Schlichting C.D., Van Tienderen P.H., 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy // Trends Ecol. Evol. V. 10. P. 212–217.
- West-Eberhard M.J., 2003. Developmental Plasticity and Evolution. N.-Y.: Oxford Univeristy Press. 794 P.
- Wittkopp P.J., 2007. Variable gene expression in eukaryotes: a network perspective // J. Exp. Biol. V. 210. P. 1567–1575.

## EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF DEVELOPMENTAL VARIABILITY OF *RANA TEMPORARIA* (ANURA, AMPHIBIA) HATCHLINGS

E. A. Severtsova

Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow 119899, Russia

e-mail: Severtsova@mail.ru

The experimental investigation of morphometric characteristics in *Rana temporaria* hatchlings was performed under the cross-combination of the following environmental factors: chemical pollution of water and density of embryos. The developmental plasticity was shown to weakly depend on environmental conditions. The development of hatchlings in the water from Moscow reservoir was characterized by an increase in the variability of morphometric traits, and the development under the conditions of high density leads to an increase in the number of high correlation coefficients between these traits. The genetic component of the variability was estimated using the heritability coefficient. This component was shown not to contribute greatly into the general variability of the stages investigated. The results obtained allowed analyzing the epigenetic component of variability in detail and distinguishing blocks of correlations between the forming structures. The results presented in the paper were interpreted using the Waddington's model of epigenetic landscape.