

Институт экологии растений и животных УрО РАН

ЭКОЛОГИЯ: ФАКТЫ, ГИПОТЕЗЫ, МОДЕЛИ

Материалы конференции молодых ученых,
посвященной Году экологии в России
27–31 марта 2017 г.



Екатеринбург

2017

УДК 574 (061.3)

Э 40



Экология: факты, гипотезы, модели. Материалы конф. молодых ученых, 27–31 марта 2017 г. / ИЭРиЖ УрО РАН — Екатеринбург: ИД «ЛИСИЦА», 2017. — 160 с.

В сборнике опубликованы материалы Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной Году экологии в России «Экология: факты, гипотезы, модели». Мероприятие проходило в Институте экологии растений и животных УрО РАН с 27 по 31 марта 2017 г. Работы посвящены проблемам изучения биологического разнообразия на популяционном, видовом и экосистемном уровнях, этологии, анализу экологических закономерностей эволюции, поиску механизмов адаптации биологических систем к экстремальным условиям, а также популяционным аспектам экотоксикологии, радиобиологии и радиоэкологии.

В оформлении обложки использована фотография победителя фотоконкурса конференции В.В. Кукарских «Кольца судьбы».

ISBN 978-5-9500954-4-3



9 785950 095443

© Авторы, 2017

© ИЭРиЖ УрО РАН, 2017

© Оформление, ИД «ЛИСИЦА», 2017

Качественная оценка морфологии сперматозоидов рыжей полевки *Myodes glareolus* Schreber в условиях промышленного загрязнения

Г.Ю. Смирнов

Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург

Ключевые слова: морфология, промышленное загрязнение, рыжая полевка, сперматозоиды.

Исследование параметров воспроизводства популяций животных в условиях промышленного загрязнения — одно из актуальных направлений экотоксикологии. К дискуссионным вопросам относят устойчивость репродуктивных признаков самцов мелких млекопитающих под действием различных загрязнителей. В отличие от лабораторных животных (Cogras, 2002) у диких грызунов (например, рыжей полевки) обнаруживают устойчивость морфологических признаков семенников к химическому воздействию (Мухачева, Давыдова, 2006; Damek-Poprawa, Sawicka-Kapusta, 2004). Однако комплексная оценка фертильности самцов предполагает также изучение качества спермы, в том числе, морфологии сперматозоидов.

Качественная оценка морфологии сперматозоидов — наличия и спектра патологических изменений — обязательный элемент в диагностике мужской фертильности (ВОЗ, 2012). Основные ее принципы и методы широко используются в различных областях: генетике (Осадчук, Осадчук, 2010), экологии (Мамина, 2012; Мальцев и др., 2016; Kruczek, Styrna 2009; Kruczek, 2013;), токсикологии (Rafique et al., 2009). В экотоксикологии известны работы Miska-Schramm и соавторов (2014, 2017) — при затравке рыжей полевки медью и алюминием авторы обнаружили изменения параметров спермы и интерпретировали их как токсические эффекты.

Цель работы — оценить морфологические признаки сперматозоидов рыжей полевки, обитающей в условиях промышленного (химического) загрязнения с учетом возраста животных, массы семенника и года отлова.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выбрана рыжая полевка (*Myodes glareolus* Schreber, 1780), широко распространенная в лесных экосистемах Среднего Урала. Отловы половозрелых самцов проводили в

районе Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ) летом в 2014 и 2016 гг. на фоновых (20–30 км от завода) и загрязненных (1.5–5 км от завода) участках. По комплексу морфологических признаков животных разделили на 2 возрастные группы: сеголетки (С) и перезимовавшие особи (ПЗ). В анализ включали самцов с массой семенника не менее 250 мг, семенных пузырьков не менее 125 мг, рассчитывали среднее значение массы обоих семенников. Исследовали 40 самцов с фоновых (9 сеголеток, 31 перезимовавших особей) и 12 самцов с загрязненных участков (7 и 5 особей, соответственно).

Для исследования морфологии сперматозоидов готовили мазковые препараты из содержимого хвостовой части эпидидимиса. После высушивания и фиксации в 96% этиловом спирте мазки окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимзе. Клетки фотографировали с помощью микроскопа Leica DM1000 LED и цифровой камеры Leica DFC 295 (Leica Microsystems, Германия) при увеличении $\times 400$. Для качественной оценки выделяли 2 «класса» сперматозоидов: нормальные (без деформаций структурных элементов клеток) и с патологией хвоста (различные виды петель и шпилек). У каждого животного исследовали 200 клеток, определяли долю нормальных клеток и клеток с петлеобразным хвостом. Влияние факторов риска для развития патологий — возраста, массы семенника, года отлова и уровня загрязнения (при учете остальных) на морфологические признаки сперматозоидов оценивали с помощью логит-регрессии для дихотомизированных признаков (нормальные / с патологией хвоста). Отношения шансов и их доверительные интервалы (95% ДИ) приведены после обратного преобразования (1/exp). Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Петлеобразный (шпилькообразный) хвост — легко диагностируемый и однозначно интерпретируемый морфологический признак, свидетельствующий о снижении подвижности сперматозоида, и, как следствие, его конкурентоспособности при оплодотворении яйцеклетки. На долю сперматозоидов рыжей полевки с патологией хвоста влияют все рассмотренные факторы, за исключением массы семенника (таблица, рис. 1, 2). Но, несмотря на выявленную значимость эффектов, вероятность обнаружить патологии сперматозоида в связи с тем или иным фактором невысока: так, доля сперматозоидов с петлеобразным хвостом в 2016 г. ниже, чем в 2014 г. в 1.3 раза; у перезимовавших особей ниже, чем у сеголеток в 1.1 раза; на загрязненных участках ниже, чем на фоновых в 1.3 раза. Медиана исследуемого признака для всей выборки составляет 0.18 (min–max: 0.05–0.40).

Таблица. Оценка эффектов влияния возраста, массы семенника, года отлова и уровня загрязнения на долю сперматозоидов рыжей полевки с петлеобразным хвостом, результаты логит-регрессии

Фактор	b	SE	$X^2(1)$ Вальда	$p \leq$	Отношения шансов [95% ДИ]
b_0	-1.21	0.140	74.30	0.001	
Год отлова (2016)	-0.25	0.056	20.16	0.001	1.28^{-1} [1.43 – 1.15] ⁻¹
Уровень загрязнения	-0.21	0.066	9.64	0.002	1.25^{-1} [1.34 – 1.08] ⁻¹
Возраст (ПЗ)	-0.14	0.071	3.87	0.049	1.1^{-1} [1.32 – 1.01] ⁻¹
Масса семенника	≈ 0	4E-4	≈ 0	0.959	

Примечание: b_0 – референтная группа: сеголетки, 2014 г. фоновые участки, b – коэффициент регрессии, SE – стандартная ошибка, p – уровень значимости, ДИ – доверительные интервалы.

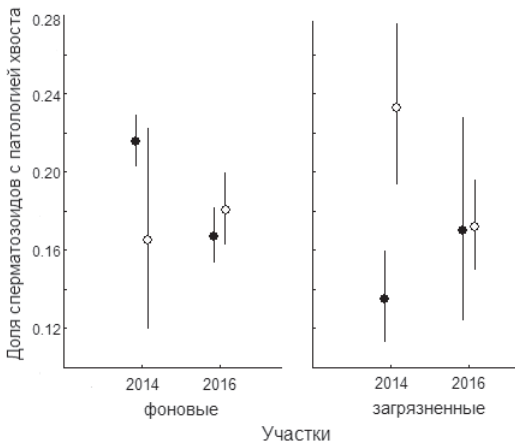


Рисунок 1. Доля сперматозоидов (среднее, доверительные интервалы) с петлеобразным хвостом у рыжей полевки, отловленной в 2014, 2016 гг. в окрестностях СУМЗ. Белые точки – сеголетки, черные – перезимовавшие особи.

Наши результаты сложно сопоставить с литературными данными. Несмотря на широкое использование морфологических признаков сперматозоидов животных, до сих пор нет унифицированной классификации встречающихся патологий – разные авторы исследуют «свой» набор признаков. Кроме того, единообразию морфологического анализа препятствует видоспецифичность морфологии сперматозоидов.

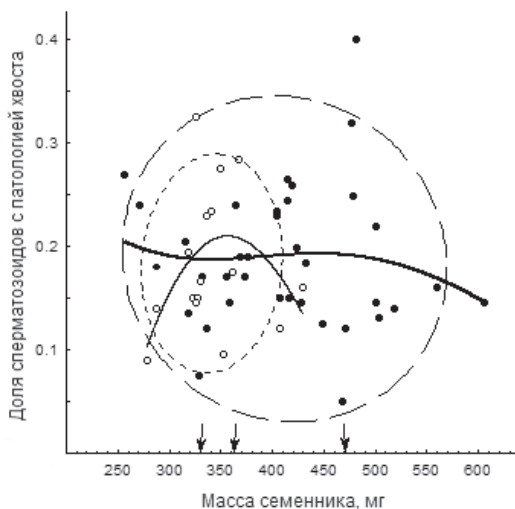


Рисунок 2. Доля сперматозоидов с петлеобразным хвостом у рыжей полевки с разной массой семенника: белые точки — сеголетки, черные — перезимовавшие особи. Штриховые линии — доверительные эллипсоиды (90%) для значений; линии — Loess аппроксимация, стрелки — медианы (С, ПЗ во второй половине лета, ПЗ в первой половине лета).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эпидидимальной сперме рыжей полевки всегда присутствует доля сперматозоидов, имеющих петлеобразный хвост, а ее изменчивость связана с различными факторами. Однако в условиях высокого уровня промышленного загрязнения вероятность обнаружить полевков с патологией сперматозоидов ниже, чем на фоновых участках. Полученные значения доли патологических сперматозоидов могут быть использованы в качестве реперных для дальнейших исследований.

Автор выражает благодарность сотрудникам ИЭРиЖ УрО РАН: к.б.н. Ю.А. Давыдовой, к.б.н. И.А. Кшняеву за обсуждение работы, к.б.н. С.В. Мухачевой — за предоставленные материалы сборов мелких млекопитающих.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН (проект № 15–3–4–28).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Мальцев А.Н., Амбарян А.В., Котенкова Е.В. Оценка фертильности экологически различающихся форм домовых мышей и их гибридов надвидового

комплекса *Mus musculus sensu lato* (Rodentia: Muridae) // Поволжский экологический журнал. 2016. № 3. С. 280–291.

Мамина В.П. Морфофункциональный анализ семенников и сперматозоидов в оценке репродуктивного успеха самцов рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) // Известия РАН. Серия биологическая. 2012. № 5. С. 554–562.

Мухачева С.В., Давыдова Ю.А. Состояние семенников рыжей полевки в условиях химического загрязнения среды обитания // Успехи современного естествознания. 2006. № 2. С. 65–66.

Осадчук Л.В., Осадчук А.В. Генетическая изменчивость продукции и морфологии сперматозоидов у лабораторных мышей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 149. № 6. С. 678–681.

Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека // перевод с англ. под ред. Л.Ф. Курило. 5-е изд. М.: Капитал принт, 2012. 292 с.

Corpas I., Castillo M., Marquina D., Benito M.J. Lead intoxication in gestational and lactation periods alters the development of male reproductive organs // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2002. V. 53. P. 259–266.

Damek-Poprawa M., Sawicka-Kapusta K. Histopathological changes in the liver, kidneys, and testes of bank voles environmentally exposed to heavy metal emissions from the steelworks and zinc smelter in Poland // Environmental research. 2004. V. 96. № 1. P. 72–78.

Kruczek M., Styrna J. Semen quantity and quality correlate with bank vole males social status // Behavioural processes. 2009. V. 82. № 3. P. 279–285.

Kruczek M., Styrna J., Kapusta J. Reproductive capacity of male bank voles (*Myodes glareolus* Schreber, 1780) – age-dependent changes in functional activity of epididymal sperm // Belgian Journal of Zoology. 2013. V. 143. № 2. P. 131–141.

Miska-Schramm A., Kruczek M., Kapusta J. Effect of copper exposure on reproductive ability in the bank vole (*Myodes glareolus*) // Ecotoxicology. 2014. V. 23. № 8. P. 1546–1554.

Miska-Schramm A., Kapusta J., Kruczek M. The effect of aluminum exposure on reproductive ability in the bank vole (*Myodes glareolus*) // Biological trace element research. 2017. V. 177. № 1. P. 97–106.

Rafique M., Khan N., Perveen K., Naqvi A. The effects of lead and zinc on the quality of semen of albino rats // Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan. 2009. V. 19. № 8. P. 510–513.