РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Уральское отделение
Институт экологии растений и животных

ПРОБЛЕМЫ ГЛОБАЛЬНОЙ И РЕГИОНАЛЬНОЙ ЭКОЛОГИИ

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

31 марта – 4 апреля 2003 г.

Издательство «Академкнига»
Екатеринбург, 2003

УДК 574
ББК 28.081
П 781

Материалы конференции изданы при финансовой поддержке Президиума УрО РАН и Экологического фонда Свердловской области.

П 781 **Проблемы глобальной и региональной экологии**: Материалы конф. молодых ученых, 31 марта – 4 апреля 2003 г. / ИЭРиЖ УрО РАН. — Екатеринбург: Изд-во «Академкнига», 2003. – 372 с.

ISBN 5–93472–080–5

В сборнике представлены материалы конференции, которая проходила 31 марта – 4 апреля в Институте экологии растений и животных УрО РАН. Работы молодых ученых посвящены изучению закономерностей организации, функционирования, динамики и устойчивости популяций и сообществ, анализу биологического разнообразия растений и животных, проблемам биомониторинга окружающей среды.

Табл. 83, Илл. 126.

ISBN 5–93472–080–5

© Коллектив авторов, 2003
© Обложка. С.С. Трофимова, 2003
© Оформление. Издательство «Академкнига», 2003

УРОВЕНЬ ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ НА РАЗНЫХ ФАЗАХ ПОПУЛЯЦИОННОГО ЦИКЛА У РЫЖЕЙ ПОЛЕВКИ

С.Б. Ракитин

Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург

Сравнительно недавно стали появляться работы, свидетельствующие о том, что у диких грызунов популяционная динамика и связанные с ней стрессирующие нагрузки могут оказывать определенное влияние на частоту хромосомных нарушений. Например, С.Г. Дмитриев с соавторами (1996) наблюдали значительные различия в уровне цитогенетической нестабильности между материковыми и островными популяциями красной (*Clethrionomys rutilus*) и рыжей (*C. glareolus*) полевок, находящихся на разных фазах цикла численности в одно и то же время.

В данной работе изложены результаты изучения хромосомной нестабильности на разных фазах популяционного цикла в одной и той же популяции грызунов с учетом ряда других популяционно-демографических факторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В течение четырех лет (с 1999 по 2002 гг.) исследовалась природная популяция рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) из окрестностей с. Шигаево Шалинского района Свердловской области. Для этого локалитета документировано лишь глобальное техногенное загрязнение. Изученная популяция, по данным Н.Л. Добринского, в течение первых трех лет наблюдений находилась на стадии высокой численности (120–200 особей/га). В 2002 г. численность заметно снизилась — до 10–50 особей/га в разных биотопах, при этом погодные условия в 2001–2002 годах оставались в пределах региональной нормы. Сбор материала проводился живоловками. Препараты метафазных хромосом готовились стандартным способом из клеток костного мозга. От каждой особи анализировалось от 25 до 100 метафазных клеток. В общей сложности было проанализировано 11350 клеток от 442 животных. У животных определялись стандартные экстернальные промеры, масса тела, надпочечника, семенника и состояние генеративной системы самок. Возраст определялся по степени возрастных изменений зубов. По этому показателю полевки были разделены на 2 класса: сеголетки и перезимовавшие.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты цитогенетического анализа представлены в таблицах 1 и 2. Как видно из таблиц, все 4 года изучения цитогенетической нестабильности в данной

популяции рыжей полевки у размножающихся животных, как у самцов так и у самок, отмечался достоверно повышенный уровень аберрантных клеток по сравнению с неразмножающимися животными (F=5,17; df=1/426; P=0, 023).

Таблица 1. Частота хромосомных нарушений и индекс надпочечника у рыжих полевок, различающихся по полу, возрасту и репродуктивному статусу (1999–2000 гг.)

Пол	Репродуктивный статус особи	Возраст	Число животных	Число клеток	Средняя частота клеток, %			Индекс надпочечника x 10^{-3}
					с аберрациями хромосом	анеу- и полиплоидных	с пробелами	
1999 год								
Самцы	**размн.**	**перезимовавшие**	**19**	**625**	**0,96**	**1,60**	**3,20**	**0,252**
	неразмн.	сеголетки	50	1250	0,32	0,96	1,30	0,223
Самки	**размн.**	**перезимовавшие**	**23**	**900**	**2,11**	**1,56**	**2, 45**	**0,444**
		сеголетки	2	200	1,50	1,00	1,50	0,349
	неразмн.	сеголетки	50	1250	0,56	0,88	2,00	0,218
2000 год								
Самцы	**размн.**	**перезимовавшие**	**23**	**625**	**1,44**	**2,40**	**4,32**	**0,248**
		сеголетки	20	550	1,45	0,91	2,18	0,232
	неразмн.	сеголетки	50	1250	0,72	0,64	3,44	0,213
Самки	**размн.**	**перезимовавшие**	**13**	**400**	**2,50**	**1,38**	**3,25**	**0,491**
		сеголетки	26	650	1,54	0,77	2,62	0,424
	неразмн.	сеголетки	28	775	1,03	1,29	4,13	0,225

Изменения демографической ситуации сопровождались сдвигами в темпах мутационного процесса. Если в 1999–2000 гг. частоты всех типов хромосомных нарушений достоверно не различались, то в 2001 году (год перед снижением численности) во всех внутрипопуляционных группировках значительно вырос наиболее информативный показатель генетической нестабильности — доля

клеток с хромосомными аберрациями (табл. 2). При этом в 2001 году, по нашим данным, интенсивность размножения у сеголеток упала до 0,75%, в то время как в предшествующие годы она колебалась от 1,96% до 37,50% (в 1999 году — 1,96%; в 2000 — 37,10%; в 2002 — 37,50%). Повышенная частота аберрантных клеток сохранялась и в 2002 году. На рис. 1а проиллюстрированы межгодовые различия по усредненной для всех группировок доле клеток с хромосомными аберрациями. Эти различия оказались высоко значимыми ($F=11,47$; $df=3/388$; $P<0,0001$). В случае геномных мутаций (анеу- и полиплоидия) также

Таблица 2. Частота хромосомных нарушений и индекс надпочечника у рыжих полевок, различающихся по полу, возрасту и репродуктивному статусу (2001-2002 гг.)

Пол	Репродуктивный статус особи	Возраст	Число животных	Число клеток	Средняя частота клеток, %			Индекс надпочечника x 10^{-3}
					с аберрациями хромосом	анеу- и полиплоидных	с пробелами	
2001 год								
Самцы	**размн.**	**перезимовавшие**	**16**	**425**	**3,06**	**0,71**	**3,06**	**0,181**
	неразмн.	сеголетки	39	975	2,26	0,82	3,59	0,200
Самки	**размн.**	**перезимовавшие**	**8**	**200**	**3,50**	**3,50**	**3,00**	**0,332**
		сеголетки	1	100	3,00	2,00	3,00	0,505
	неразмн.	сеголетки	35	875	2,29	1,14	2,63	0,217
2002 год								
Самцы	**размн.**	**перезимовавшие**	**2**	**200**	**3,50**	**1,50**	**3,00**	**0,175**
		сеголетки	6	150	3,33	1,33	2,66	0,228
	неразмн.	сеголетки	11	275	2,18	0,00	2,91	0,232
Самки	**размн.**	**перезимовавшие**	**5**	**250**	**2,40**	**1,60**	**3,60**	**0,360**
		сеголетки	6	150	2,67	0,00	0,67	0,379
	неразмн.	сеголетки	9	225	1,77	0,00	2,22	0,236

обнаружены статистически значимые межгодовые отличия с помощью трехфакторного дисперсионного анализа при включении в дисперсионный комплекс «года отлова», «пола» и «репродуктивного статуса» (F=90,85; df=1/426; P<0,00001). Достоверность взаимодействия факторов «год отлова» и «пол» (F=3,51; df=3/426; P=0,015) свидетельствует о том, что в одни годы (1999 и 2002 гг.) уровень геномных мутаций был выше у самцов, а в другие (2000 и 2001 гг.) — у самок. В 1999–2001 гг. средний уровень анеу- и полиплоидии колебался в пределах1,09–1,11%, в 2002 году он снизился до 0, 49% (рис. 1б). Следует отметить, что механизмы возникновения структурных (хромосомные аберрации) и числовых (анеу- и полиплоидия) хромосомных нарушений различны, и, по всей видимости, влияние популяционно-демографических факторов по отношению к ним может быть разнонаправленным.

Изучение частоты клеток с пробелами не выявило какой-либо связи с популяционно-демографическими факторами.

Нельзя не учитывать тот факт, что нередко с возрастом происходит увеличение частоты хромосомных аберраций (Tucker et al., 1999) и анеуплоидии (Бочаров, Вилкина, 1966; Xiao et al., 1998). Однако у грызунов из природных популяций он высоко скоррелирован с репродуктивным статусом. Выявить возможное влияние возраста на частоту клеток с аберрациями хромосом и уровень геномных мутаций позволяет сравнение размножающихся полевок разного возраста (перезимовавшие и сеголетки). При этом грызуны одного репродуктивного статуса, но разного возраста значимо не различались по уровню аберрантных клеток (U=2934,00; P=0,163) (рис. 2а), однако перезимовавшие грызуны имели достоверно повышенный уровень анеу- и полиплоидии (U= 2549,50; P=0,003). Судя по литературным данным и нашим исследованиям на лабораторной колонии обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*), повышенный уровень клеток с аберрациями хромосом обнаруживается у очень старых (в природных популяциях такие животные встречаются редко) и новорожденных грызунов. Кроме того, при сравнении близких по возрасту сеголеток разного репродуктивного статуса размножающиеся грызуны имели достоверно повышенную частоту хромосомных аберраций (U= 6954,00; P=0,012) в отличие от неразмножающихся (рис. 2б), в случае анеу- и полиплоидии различия незначимы (U=8296,00; P=1,000).

В литературе имеется ряд сообщений о возможности участия гормонов надпочечников, обладающих мутагенной активностью, в регуляции численности популяции. При этом большинство исследователей склонны считать, что переуплотнение популяции ведет к возрастанию веса надпочечника. При проведении трехфакторного дисперсионного анализа (факторы: «год отлова», «пол» и «репродуктивный статус») значимым оказалось влияние на относительный вес надпочечника всех трех факторов (F=6,51; df= 3/426; P=0,0003; F=115,91; df= 1/426; P< 0,0001; F=99,79; df= 1/426; P<0,0001). Достоверность

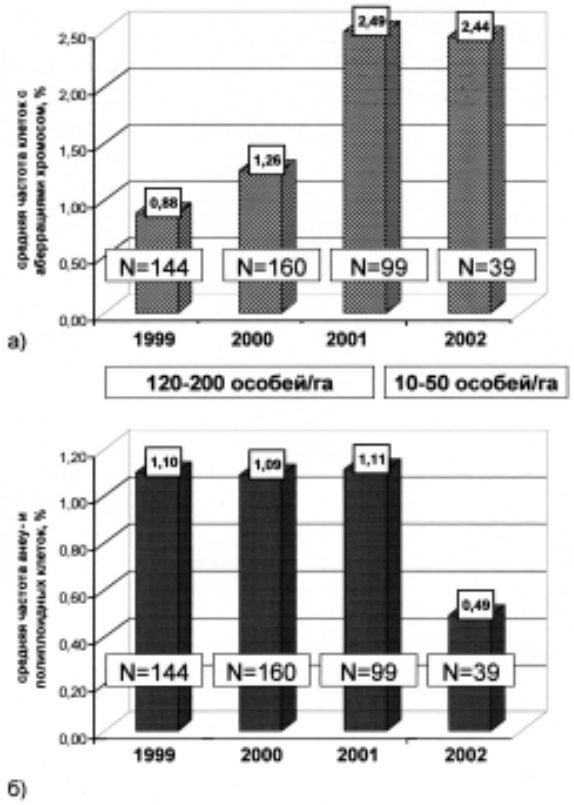

Рис. 1. Средний уровень клеток с аберрациями хромосом (а) и анеу- и полиплоидных клеток (б) у рыжих полевок в 1999–2002 гг.

взаимодействия факторов «пол» и «репродуктивный статус» свидетельствует о том, что относительный вес надпочечника самок сильнее реагирует на участие в размножении ($F=90,85$; $df=1/426$; $P<0,0001$). Из таблиц 1 и 2 хорошо видно, что наибольший относительный вес надпочечника наблюдается у размножающихся самок как перезимовавших, так и сеголеток. Значимым оказалось взаимодействие факторов «год отлова» и «репродуктивный статус» ($F=4,66$; $df=3/426$; $P=0,003$). В 1999–2000 гг. (годы высокой численности популяции) размножающиеся самцы имели больший относительный вес надпочечника по сравнению с неразмножающимися. В 2001–2002 гг. (год перед снижением численности и год низкой численности) картина изменилась на обратную

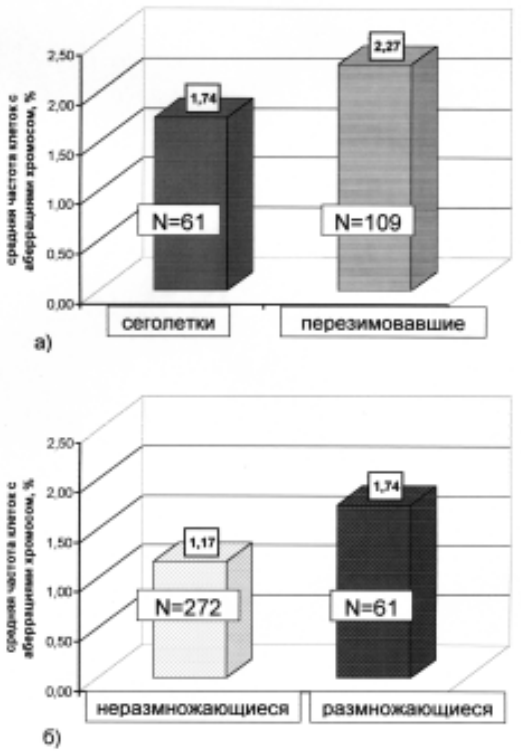

Рис. 2. Уровень хромосомных аберраций у рыжих полевок в 1999–2002 гг.:
а) размножающиеся зверьки разного возраста;
б) сеголетки разного репродуктивного статуса.

— индекс надпочечника оказался несколько меньше у размножающихся самцов, но эти отличия статистически незначимы. У самок различного репродуктивного статуса в разные годы соотношение между индексами надпочечника выражено в разной степени, но всегда его относительный вес был выше у размножающихся полевок. При этом в 2001–2002 гг. размножающиеся самки имели несколько меньший относительный вес надпочечника по сравнению с 1999–2000 гг. Индекс надпочечника оказался отрицательно скоррелирован с частотой аберрантных клеток у самцов, как у размножающихся (R_S = -0,219; P = 0,042), так и у неразмножающихся (R_S = -0,177; P = 0,029). В выборках самок разного репродуктивного статуса корреляционной связи уровня хромосомных аберраций с индексом надпочечника не обнаружено. Одна-

ко отождествление веса эндокринного органа с его функциональной активностью, по мнению Ф.Б. Чернявского и А.В. Ткачева (1982), далеко не всегда оправдано. В работах по определению функциональной активности надпочечника было показано, что уровень гормонов существенно меняется в зависимости от численности популяции. Так, М.П. Мошкин (1989) отмечает статистически значимые подъемы концентрации кортикостероидов и прогестерона в крови водяной полевки в фазу спада численности и при переходе от пика к спаду. Именно в эти фазы цикла численности мы наблюдали возрастание уровня клеток с аберрациями хромосом в популяции рыжей полевки.

Таким образом, рост хромосомной нестабильности при смене популяционной стратегии, скорее всего, связан с происходящими при этом значительными изменениями эндокринных и метаболических показателей. Однако, надо иметь в виду, что возможен и противоположный характер связи между популяционной численностью и уровнем хромосомной нестабильности — именно такая ситуация наблюдалась С.Г. Дмитриевым с соавторами (1996) в островной экосистеме после «бутылочного горлышка». При этом следует с большой осторожностью относиться к экстраполяции данных, полученных на лабораторных животных, и однократным наблюдениям над природными популяциями.

У размножающихся животных, скорее всего, одним из факторов повышения цитогенетической нестабильности является возрастание продукции половых гормонов. По литературным данным, половые гормоны, например, такие как прогестерон и эстрадиол, могут проявлять существенную мутагенную активность, вызывая структурные и числовые мутации хромосом (Roy, Liehr, 1999). В то же время период размножения влечет за собой повышение активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что приводит к интенсификации выделения кортикостероидов, также обладающих мутагенной активностью. Так, В.И. Евсиков с соавторами (1999) обнаружили, что у водяной полевки концентрация глюкокортикоидов в плазме крови на всех стадиях беременности была достоверно выше по сравнению с непокрытыми особями. Кроме того, прогестерон, достигающий во время беременности высоких концентраций в организме самок грызунов, обладает иммуносупрессивным эффектом (Мошкин и др., 2003), также как и тестостерон (Лохмиллер, Мошкин, 1999). Поскольку иммунная система призвана контролировать генетический гомеостаз организма, то её угнетение может приводить к увеличению в организме числа клеток с цитогенетическими нарушениями (Ильинских и др., 1986).

Резюмируя вышесказанное, логично заключить, что популяционно-демографические факторы могут оказывать существенное влияние на уровень хромосомной нестабильности, что увеличивает генетическое разнообразие потомства, физиологический и иммунный гомеостаз. Несомненно, что их

необходимо принимать во внимание при изучении цитогенетической нестабильности у грызунов из природных популяций.

Автор выражает искреннюю благодарность всем сотрудникам группы популяционной цитогенетики ИЭРиЖ УрО РАН за всестороннюю помощь и содействие при проведении исследования.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 02–04–49071 и № 03–04–48776).

ЛИТЕРАТУРА

Бочаров Ю.С., Вилкина Г.А. Мутации кариотипа и старение // Генетика. 1966. № 4. С. 45–50.

Дмитриев С.Г., Захаров В.М., Шефтель Б.И. Цитогенетический гомеостаз и популяционная плотность у двух видов лесных полевок (*Clethrionomys rutilus* и *C. glareolus*) в Центральной Сибири // Состояние териофауны в России и ближнем Зарубежье: Труды междунар. совещ. Москва, 1995. С. 118–126.

Евсиков В.И., Мошкин М.П., Герлинская Л.А. Популяционная экология водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.) в Западной Сибири. III. Стресс и воспроизводство в популяционном цикле // Сибирский экологический журнал. 1999. № 1. С. 79–88.

Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Бочаров Е.Ф. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. Новосибирск: Наука, 1986. 199 с.

Лохмиллер Р.Л., Мошкин М.П. Экологические факторы и адаптивная значимость изменчивости иммунитета мелких млекопитающих // Сибирский экологический журнал. 1999. № 1. С. 37–58.

Мошкин М.П. Роль стресса в поддержании популяционного гомеостаза млекопитающих (на примере грызунов): Автореферат дис… д-ра биол. наук. Свердловск, 1989. 32 с.

Мошкин М.П., Герлинская Л.А., Евсиков В.И. Иммунная система и реализация поведенческих стратегий размножения при паразитарных прессах // ЖОБ. 2003. Т. 64. № 1. С. 23–44.

Чернявский Ф.Б., Ткачев А.В. Популяционные циклы леммингов в Арктике. М.: Наука, 1982. 164 с.

Roy D., Liehr J.G. Estrogen, DNA damage and mutations // Mutat. Res. 1999. V. 424. P. 107–115.

Tucker J.D., Spruill M.D., Ramsey M.J., Director A.D., Nath J. Frequency of spontaneous chromosome aberrations in mice: effects of age // Mutat. Res. 1999. V. 425. P. 135–141.

Xiao Y., Tates A.D., Boei J.J.W.A., Natarajan A.T. Aging and diethylstilbestrol-induced aneuploidy in male germ cells: a transgenic mouse model // Chromosoma. 1998. V. 107. P. 507–513.