

А. Г. Трофимов

МЕЖПОПУЛЯЦИОННОЕ СРАВНЕНИЕ АНОМАЛИЙ СКЕЛЕТА *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* PALLAS, 1771*

Изучена изменчивость дефинитивных скелетных структур неполовозрелых особей *Pelophylax ridibundus* из ряда нативных и интродуцированных популяций. Исследование скелетов проводилось после просветления мягких тканей по методике Даусона. Установлено, что встречаемость животных с отклонениями в строении скелета на территории городской агломерации Екатеринбурга значимо выше, чем в автохтонных популяциях Кавказского региона. Наибольшее сходство в перекрывании спектров аномалий отмечено для популяций рек Исеть и Подкумок, что может быть связано со сходством условий обитания и с возрастными особенностями животных в исследованных выборках. Библиогр. 17 назв. Ил. 1. Табл. 2.

Ключевые слова: амфибии, скелет, морфологические аномалии, тератогенез, экология, биология развития.

A. G. Trofimov^{1,2}

INTERPOPULATION COMPARISON OF SKELETAL ANOMALIES OF *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* PALLAS, 1771

¹ Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, 19, ul. Mira, Yekaterinburg, 620002, Russian Federation; alexandertrofimov92@gmail.com

² Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch RAS, 202, ul. 8 Marta, Yekaterinburg, 620144, Russian Federation; alexandertrofimov92@gmail.com

The variability of definitive skeletal structures of immature *Pelophylax ridibundus* was studied from native and introduced populations. The study of skeletons was carried out after the clearing of soft tissue by Dawson's method. It was found that the occurrence of animals with abnormalities of the skeleton structure in the urban area of Yekaterinburg is significantly higher, than in the autochthonic populations of the Caucasian region. The high similarity in spectra overlapping of anomalies observed for populations of the Iset River and Podkumok River can be related to the similarity of living conditions and the age features of the animals in the studied samples. Refs 17. Figs 1. Tables 2.

Keywords: amphibians, skeleton, morphological abnormalities, malformation, ecology, teratogenesis, developmental biology.

Формирование дефинитивного облика организма представляет собой процесс сложного взаимодействия генотипа, эпигенетической разметки и регуляторных механизмов, реализующегося в ходе развития организма в конкретных условиях среды [1]. Вопросы диверсификации онтогенеза, включая и девиантные формы, в природных популяциях являются важной проблемой, решение которой не исчерпывается лабораторными исследованиями, дающими представление о формообразовательных потенциях, но не позволяющими оценить возможные синергетические эффекты в условиях природных экосистем.

А. Г. Трофимов (alexandertrofimov92@gmail.com): Уральский Федеральный Университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Российская Федерация, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19; Институт экологии растений и животных УрО РАН, Российская Федерация, 620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202.

* Исследование поддержано программой 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2016

Рост доли аномалий в популяциях животных отражает дестабилизацию системы морфогенеза [2], причины которой не всегда ясны [3, 4]. В соответствии с представлениями Ч. Дарвина [5] «наиболее дивергировавшие вариации» представляют собой материал для эволюционного процесса. Согласно эпигенетической теории эволюции, любое отклонение итога развития от нормы всегда является системной реакцией, выбор которой определяется местом и временем возмущения, вносимого в развитие повреждающим воздействием [6]. Изучение полного спектра вариантов морфологии структур, а не только их нормы (модальной части кривой нормального распределения) позволяет получить информацию о специфике морфогенеза в меняющихся условиях современных экосистем [7].

В ряду тетрапод амфибии обладают рядом архаичных особенностей онтогенеза, все этапы которого проходят во внешней среде водоемов, что делает их наиболее чувствительными к любым флуктуациям условий местообитаний [8].

Целью нашей работы было изучение изменчивости морфологии скелетных структур озерной лягушки на основе сравнительного анализа спектров и частот девиантных форм ряда нативных и адвентивных популяций.

Материал и методика

В ходе работы были проанализированы выборки из трех популяций *Pelophylax ridibundus*: р. Подкумок, станица Незлобная, Предкавказье ($n=60$); оз. Набада, г. Поти, Колхидская низменность ($n=96$); р. Исеть, г. Екатеринбург, Средний Урал ($n=50$). Общий объем материала составил 206 особей. Выборка из Предкавказья собрана А. В. Ивановым и Т. А. Рупышевой в 2011 г., из Колхидской низменности — В. Г. Ищенко и Е. Л. Щупак в 1985 г. На территории Екатеринбурга производились отловы сеголетков, находящихся на 51–54-й стадии развития [9] в июле-сентябре в 2012 и 2014 гг. Первые две выборки взяты из автохтонных популяций, существующих в пределах естественного ареала вида, на восточном склоне Среднего Урала *Pelophylax ridibundus* является аллохтонным видом, интродуцированным в 60–70-х гг. XX в. [10].

Для исследования морфологии скелета использовали методику просветления мягких тканей Даусона [11]. Готовые препараты просматривали под стереомикроскопом ZOOM Meiji Techno EMZ-8TR. Перекрывание спектров аномалий рассчитывали по модифицированному индексу Мориситы [12] в Microsoft Excel 2010:

$$C_{\lambda} = (2 \times \sum(P_{ix} \times P_{iy})) / \sum(P_{ix}^2 + P_{iy}^2),$$

где P_{ix} — доля аномалии i в спектре выборки x , P_{iy} — доля аномалии i в спектре выборки y .

Дистанцированность спектров аномалий определялась с помощью кластерного анализа (метод полной связи, евклидово расстояние) в пакете программ Statistica for Windows 10.0. Общая встречаемость аномалий в выборке рассчитывали как отношение числа животных к числу аномалий, встречаемость конкретных аномалий — как отношение числа животных с данной аномалией к числу особей в выборке. Встречаемость животных с сочетанными аномалиями рассчитывали как отношение числа животных с сочетанными аномалиями к общему числу живот-

ных в выборке. В данной работе использовали классификацию аномалий сегментов бесхвостых амфибий, основанная на работах Ж. Ростана, А. Дюбуа, М. Тайлера, Е. Е. Коваленко и Н. С. Неустроевой [7].

Результаты

Основные характеристики исследованных популяций приведены в табл. 1, процентная встречаемость конкретных типов аномалий представлена в табл. 2.

Таблица 1. Основные характеристики исследованных популяций

Характеристики	р. Исеть (n=50)	р. Подкумок (n=60)	оз. Набада (n=96)
Встречаемость аномальных животных, %	92,0	68,3	54,2
Встречаемость аномалий, %	240,0	105,0	74,0
Доля аномалий осевого скелета, %	99,0	100,0	90,1
Доля аномалий периферического скелета, %	1,0	0,0	9,9
Встречаемость особей с сочетанными аномалиями, %	70,0	25,0	22,9
Количество вариантов отклонений	13	6	12
Среднее количество аномалий на особь	2,4	1,1	0,7

Количество обнаруженных аномалий для р. Исеть составило 120, для р. Подкумок — 63, для оз. Набада — 71. У исследованных животных количество вариантов аномалий в одной особи (сочетанные аномалии) может достигать 8.

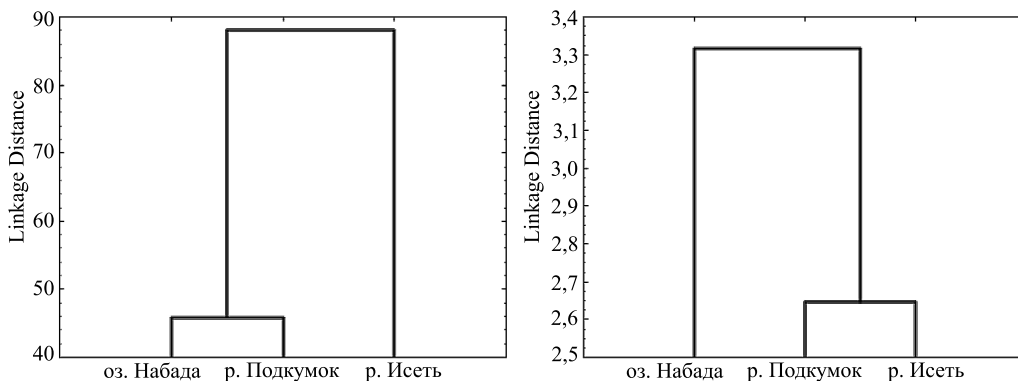
Таблица 2. Процентная встречаемость обнаруженных аномалий у *P. ridibundus*

Аномалии	р. Исеть	р. Подкумок	оз. Набада
Разрыв позвонка	16,0	0,0	5,21
Асимметрия позвонка	60,0	55,0	13,54
Редукция части позвонка	8,0	1,67	0,0
Дубликация части позвонка	2,0	0,0	0,0
Асимметрия поперечных отростков	40,0	25,0	25,0
Фрагментация поперечных отростков	0,0	0,0	9,38
Укорочение поперечных отростков	26,0	0,0	0,0
Редукция поперечных отростков	2,0	0,0	0,0
Развитие дополнительного сочленовного отростка	6,0	0,0	0,0
Слияние позвонков	2,0	1,67	1,04
Отклонения в строении уростия	72,0	20,0	6,25
Сколиоз	2,0	0,0	6,25
Нарушение причленения таза к позвоночнику	2,0	1,67	0,0
Деформация костей конечностей	0,0	0,0	1,04
Эктромелия	0,0	0,0	1,04
Схизодактилия	0,0	0,0	1,04
Эктродактилия	0,0	0,0	3,13
Брахифалангия	2,0	0,0	1,04

Примечание. Светло-серым и темно-серым цветом выделены общие для всех выборок и уникальные аномалии скелета соответственно.

Обнаружены значимые различия по встречаемости аномальных животных между популяциями р. Исеть и оз. Набада ($p < 0,001$, $\chi^2 = 19,64$), а также между р. Исеть и р. Подкумок ($p = 0,005$, $\chi^2 = 7,86$), между популяциями р. Исеть и оз. Набада значимых различий не выявлено.

Кластерный анализ спектров аномалий в исследованных популяциях с учетом доли каждой аномалии показал общность популяций Кавказского региона и их дистанцированность от популяций р. Исеть. Однако если не учитывать вклад каждой аномалии, то обнаруживается общность популяций рек Исеть и Подкумок (см. рисунок).



Дистанцированность спектров скелетных аномалий: с учетом доли аномалий (слева) и без учета доли аномалий (справа)

Анализ сходства спектров аномалий с помощью модифицированного индекса Мориситы так же, как и кластерный анализ без учета доли аномалий, выявил наибольшее сходство популяций рек Исеть и Подкумок — 74,3 %; спектры аномалий скелета в выборках р. Подкумок и оз. Набада перекрываются на 59,0 %, а спектры р. Исеть и оз. Набада — на 37,9 %.

Обсуждение

Известно, что р. Подкумок, где была собрана выборка из Предкавказья, имеет сильное техногенное загрязнение поверхностных вод нефтепродуктами, нитратами, фосфором и тяжелыми металлами [13], сходная ситуация наблюдается и в р. Исеть на территории Екатеринбурга, имеющей большую антропогенную нагрузку. В связи с этим, мы полагаем, что отмеченное сходство в перекрывании спектров отклонений скелетных структур амфибий из данных популяций неслучайно и может быть связано со средовой компонентой, определяющей устойчивость онтогенеза.

Уникальные аномалии скелета в популяции Исети (см. табл. 2), а также редкие аномалии (нарушение причленения таза к позвоночнику, редукция части позвонка) отражают наличие гетерохроний, вследствие ретардации процессов онтогенеза на стадии формирования сегментации. Кроме того, в 2012 г. на территории Екатеринбурга была поймана гермафродитная особь *P. ridibundus* [14], что вместе с на-

шими данными может свидетельствовать о наличии эндокринных дизрапторов. Вместе с тем, высокий процент животных с отклонениями в строении уростиля может быть связан с незавершенностью процесса развития, однако из 36 животных с данной аномалией у 13 отмечено наличие 10 позвонка, который выражен в разной степени: от оконтуренного, но слитого с уростилем, до полностью сформированного, с развитыми поперечными отростками. При этом у одной особи к 10 позвонку с правой стороны крепился таз, тогда как в норме он причленяется к 9 позвонку с обеих сторон.

Высокая встречаемость аномальных животных из популяции р. Исеть относительно двух других популяций, вероятно, связана также с тем, что особи данной выборки находились на более ранних этапах развития, чем остальные — у многих особей метаморфоз не завершился, присутствовал хвост (стадия 52 [9]), в то время как особи из популяции р. Подкумок прошли метаморфоз полностью. В свою очередь, значительная часть животных из популяции озера Набада относилась к группе субадультусов. В связи с этим наши результаты можно трактовать также с позиции возрастной изменчивости: с увеличением возраста уменьшается количество животных с аномалиями, что может быть связано с завершением развития скелета и, частично, с элиминацией животных с наиболее серьезными аномалиями, такими как редукция и дубликация части позвонка, а также с нарушением причленения таза к позвоночнику.

Кроме того, как известно, с увеличением количества признаков, по которым оцениваются особи, происходит уменьшение встречаемости животных, у которых все признаки будут находиться в пределах нормы [15]. На примере наших данных (см. табл. 1, 2) видно, что большая часть аномалий на уровне признаков (13 из 18) не превышает 10 %, в то время как особи с нормой для всех признаков составляют меньше 50 % во всех выборках, а в популяциях р. Исеть составили всего лишь 8 %.

Причина относительно низкой степени перекрытия спектров между кавказскими популяциями также может быть связана с географической изоляцией популяций Закавказья, в том числе и оз. Набада. Проникновение *P. ridibundus* в Предкавказье происходило, вероятно, в конце третичного периода, с дальнейшим расселением на Кавказ и Закавказье, а в среднем-верхнем плиоцене произошел разрыв ареала из-за оледенения хребтов Большого и Малого Кавказа, и популяции Колхидской низменности превратились в эксклав европейской биоты [16, 17]. В настоящее время основным лимитирующим фактором для продвижения данного вида в горы является гидрологический режим водоемов, однако на Среднем Кавказе встречаются полностью изолированные популяции *P. ridibunus* [17].

Качественный и количественный анализ дефинитивной морфологии скелета озерной лягушки показал, что выборка с территории городской агломерации Екатеринбурга значительно отстоит от остальных двух по ряду параметров: встречаемость животных с аномалиями, встречаемость аномалий, доля сочетанных аномалий. Известно, что популяции урбанизированных территорий характеризуются как повышенной частотой, так и широким спектром девиантных морфологических форм. Для детальной интерпретации результатов требуется продолжение исследований и большой объем материала из различных частей ареала данного вида.

Литература

1. Gilbert S. F. Ecological developmental biology: developmental biology meets the real world // *Dev. Biol.* 2001. Vol. 233, N 1. P. 1–12.
2. Вершинин В. Л. Траты как «зеркало эволюции» // Аномалии и патологии амфибий и рептилий: методология, эволюционное значение, возможность оценки здоровья среды: материалы междунар. школы-конф. Екатеринбург, 2014. С. 45–52.
3. Kovalenko E. E. Mass anomalies of extremities in Anura // *Zh. Obshch. Biol.* 2000. Vol. 61, N 4. P. 424–427.
4. Kaiser J. A Trematode parasite causes some frog deformities // *Science*. 1999. Vol. 284, N 5415. P. 731–733.
5. Darwin C. On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. UK.: John Murray, 1859. 509 p.
6. Шишкин М. А. Индивидуальное развитие и эволюционная теория // Эволюция и биоценотические кризисы. М.: Наука, 1987. С. 76–124.
7. Вершинин В. Л. Основы методологии и методы исследования аномалий и патологий амфибий. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2015. 80 с.
8. Вершинин В. Л., Середюк С. Д., Черноусова Н. Ф., Толкачев О. В., Силс Е. А. Пути адаптации генеза наземной фауны к условиям техногенных ландшафтов. Екатеринбург: УрО РАН, Банк культурной информации, 2006. 183 с.
9. Дабагян Н. В., Слепцова Л. А. Травяная лягушка *Rana temporaria* L. // Объекты биологии развития. М.: МАИК «Наука / Интерпериодика», 1975. С. 442–462.
10. Топоркова Л. Я. Новый элемент в герпетофауне горно-таежной зоны Среднего Урала // Фауна и экология животных УАССР и прилежащих районов. 1978. № 2. С. 63–65.
11. Dawson A. B. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S // *Stain Technol.* 1926. Vol. 1, N 4. P. 123–124.
12. Horn H. S. Measurement of «overlap» in comparative ecological studies // *The American Naturalist*. 1966. Vol. 100, N 914. P. 419–424.
13. Озанова А. Г., Золоторева Е. Р. Техногенное загрязнение водных ресурсов региона Кавказские минеральные воды // Вестник Есентукского института управления, бизнеса и права. 2013. № 7. С. 32–35.
14. Байтумирова Е. А., Вершинин В. Л. Оценка оплодотворяющей способности сперматозоидов и случай гермафродитизма у озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*, Pallas, 1771) в условиях антропогенно-измененных ландшафтов // Аномалии и патологии амфибий и рептилий: методология, эволюционное значение, возможность оценки здоровья среды: материалы междунар. школы-конф. Екатеринбург, 2014. С. 6–13.
15. Коваленко Е. Е. Эффект нормы признака и его теоретическое значение // Эволюционная биология: история и теория. 2003. Вып. 2. С. 66–87.
16. Tuniyev B. S. About exact borders of the colchis biogeographical province // *Russian journal of herpetology*. 1997. Vol. 4, N 2. P. 182–185.
17. Туниев С. Б. Эктотермные позвоночные Сочинского национального парка: таксономический состав, зоогеография и охрана: дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 2008. 328 с.

Для цитирования: Трофимов А. Г. Межпопуляционное сравнение аномалий скелета *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771 // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. 2016. Вып. 3. С. 150–156. DOI: 10.21638/11701/spbu03.2016.325

References

1. Gilbert S. F. Ecological developmental biology: developmental biology meets the real world. *Dev. Biol.*, 2001, vol. 233, no. 1, pp. 1–12.
2. Vershinin V. L. Teraty kak “zerkalo evoliutsii” [Terats as a “mirror of evolution”]. *Anomalii i patologii amfibiiv i reptilii: metodologiya, evoliutsionnoe znachenie, vozmozhnost' otsenki zdorov'ia sredy: materialy mezhdunar. shkoly-konf.* [Anomalies and pathologies of amphibians and reptiles: methodology, evolutionary significance, the ability to assess the health of the environment: materials of the international. School-Conf.]. Ekaterinburg, 2014, pp. 45–52. (In Russian)
3. Kovalenko E. E. Mass anomalies of extremities in Anura. *Zh. Obshch. Biol.*, 2000, vol. 61, no. 4, pp. 424–427.

4. Kaiser J. A Trematode parasite causes some frog deformities. *Science*, 1999, vol. 284, no. 5415, pp. 731–733.
5. Darwin C. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. UK., John Murray, 1859. 509 p.
6. Shishkin M. A. Individual'noe razvitiie i evoliutsionnaia teoriia [*Individual development and the theory of evolution*]. *Evoliutsiia i biotsenoticheskie krizisy* [*Evolution and biocenotic crises*]. Moscow, Nauka Publ., 1987, pp. 76–124. (In Russian)
7. Vershinin V.L. *Osnovy metodologii i metody issledovaniia anomalii i patologii amfibii* [*Basics of the methodology and methods of research anomalies and pathologies of amphibians*]. Ekaterinburg, Ural. University Publ., 2015. 80 p. (In Russian)
8. Vershinin V.L., Serediuk S.D., Chernousova N.F., Tolkachev O.V., Sils E.A. *Puti adaptatsiogeneza nazemnoi fauny k usloviyam tekhnogennykh landshaftov* [*Ways of terrestrial fauna adaptation to the conditions of technogenious landscapes*]. Ekaterinburg, Uro RAN, Bank kul'turnoi informatsii Publ., 2006. 183 p. (In Russian)
9. Dabagian N.V., Sleptsova L.A. *Travianaiia liagushka Rana temporaria L.* [The common frog *Rana temporaria L.*]. *Ob'ekty biologii razvitiia*. Moscow, MAIK "Nauka / Interperiodika" Publ., 1975, pp. 442–462. (In Russian)
10. Toporkova L.Ia. *Novyi element v gerpetofaune gorno-taezhnoi zony Srednego Urala* [The new element in the herpetofauna of mountain taiga zone of the Middle Urals]. *Fauna i ekologiya zhivotnykh UASSR i prilozhashchikh raionov* [*Fauna and ecology of animals of UASSR and adjacent territories*], 1978, no. 2, pp. 63–65. (In Russian)
11. Dawson A.B. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.*, 1926, vol. 1, no. 4, pp. 123–124.
12. Horn H.S. Measurement of «overlap» in comparative ecological studies. *The American Naturalist*, 1966, vol. 100, no. 914, pp. 419–424.
13. Oganova A.G., Zolotoreva E.R. *Tekhnogennoe zagriaznenie vodnykh resursov regiona Kavkazskie mineral'nye vody* [The technogenic pollution of water resources in the region Caucasian Mineral Waters]. *Vestnik Esentuk'skogo instituta upravleniia, biznesa i prava*, 2013, no. 7, pp. 32–35. (In Russian)
14. Baitimirova E.A., Vershinin V.L. *Otsenka oplodotvoriaiushchei sposobnosti spermatozoidov i sluchai germafroditizma u ozernoii liagushki (Pelophylax ridibundus, Pallas, 1771) v usloviakh antropogenno-izmenennykh landshaftov* [The assessment of impregnating spermatozoid capacity and incident of hermaphroditism in marsh frog (*Pelophylax ridibundus*, Pallas, 1771) in anthropogenically modified landscapes]. *Anomalii i patologii amfibii i reptilii: metodologiya, evoliutsionnoe znachenie, vozmozhnost' otsenki zdorov'ia sredi: materialy mezhdunar. shkoly-konf.* [*Anomalies and pathologies of amphibians and reptiles: methodology, evolutionary significance, the ability to assess the health of the environment: materials of the international. School-Conf.*]. Ekaterinburg, 2014, pp. 6–13. (In Russian)
15. Kovalenko E.E. *Effekt normy priznaka i ego teoreticheskoe znachenie* [The effect of the norms attribute and its theoretical value]. *Evoliutsionnaia biologiya: istoriia i teoriia* [*Evolutionary biology: history and theory*], 2003, issue 2, pp. 66–87. (In Russian)
16. Tuniyev B.S. *About exact borders of the colchis biogeographical province*. *Russian journal of herpetology*, 1997, vol. 4, no. 2, pp. 182–185.
17. Tuniev S.B. *Ektotermnye pozvonochnye Sochinskogo natsional'nogo parka: taksonomicheskii sostav, zoogeografiia i okhrana: dis. ... kand. biol. nauk* [*Ectothermic vertebrates of Sochi National Park: taxonomic composition, zoogeography and protection: PhD Diss.*]. Saint Petersburg, 2008. 328 p. (In Russian)

For citation: Trofimov A.G. Interpopulation comparison of skeletal anomalies of *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771. *Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology*, 2016, issue 3, pp. 150–156. DOI: 10.21638/11701/spbu03.2016.325

Статья поступила в редакцию 11 января 2016 г., принята 23 апреля 2016 г.

Сведения об авторе:

Трофимов Александр Геннадьевич — аспирант
Trofimov Alexander G. — Postgraduate student