



УДК 59

Реакции организма озерной лягушки (*Pelophylax* cf. *Bedriagae*) на химический состав водной среды обитания в Екатеринбурге

ТЛАСС

Майса Махмуд

аспирант, Уральский федеральный университет,
maysaatlass1988@gmail.com

АЛХЕНДАВИ

Зейна

аспирант, Уральский федеральный университет,
Zeina.hn.91@gmail.com

ВЕРШИНИН

Владимир Леонидович

доктор наук, Уральский Федеральный университет,
vol_de_mar@list.ru

Ключевые слова:

морфофизиологические индикаторы
кисотно-щелочной баланс
озерные лягушки
печень

Аннотация:

В работе изучены морфофизиологические показатели кислотно-щелочного баланса у половозрелых *Pelophylax* cf. *bedriagae* – озерных лягушек в 2021 г. из лесопарка «Калиновские разрезы» и Белоярского водохранилища в окрестностях Екатеринбурга. Показано, что в выборке из Белоярского щелочного водохранилища у животных отмечено снижение массы тела P ($P < 0.05$), массы печени ($P < 0.03$) и упитанности (P/L) ($P < 0.02$) (из-за техногенного загрязнения). В сравнении с выборкой из лесопарка «Калиновские разрезы» со слабокислым pH водной среды озерные лягушки, являющиеся инвазионным видом на восточном склоне Урала, обладают особенностями, отличающими их от высших позвоночных, и часто используются в качестве модельных объектов при изучении физиологических процессов различных систем органов.

© 2022 Петрозаводский государственный университет

Получена: 16 декабря 2022 года

Опубликована: 06 января 2023 года

Введение

Для животного организма решающее значение имеет кислотно-щелочной контроль на внутриклеточном и внеклеточном уровнях. Для демпфирования этих колебаний на ранних этапах развития организма требуется наличие дополнительных специфических механизмов, хотя у половозрелых особей хорошо развита кислотно-щелочная регуляция, позволяющая компенсировать нарушения кислотно-щелочного баланса.

Для нормальной физиологической функции концентрация ионов водорода должна поддерживаться в определенном диапазоне. Предотвращая значительные колебания pH в различных жидкостях организма, ряд буферных систем необходим для поддержания гомеостаза ионов водорода. Регулируя альвеолярную вентиляцию, дыхательная система может управлять системой обратной связи, чтобы быстро устранить кислотно-щелочной дисбаланс, регулируя парциальное давление углекислого газа. Согласно общепринятой теории, образование бикарбонатов и секреция ионов водорода – это то, что почки используют для регулирования кислотно-щелочного баланса (Sirker et al., 2002). Локальные

заряды белков могут изменяться при изменении pH среды, что влияет на эффективность их работы. Наиболее восприимчивыми мишенями для таких воздействий являются мембранные каналы и ферменты. Все это может нарушать клеточные функции, в т. ч. экспрессию генов, регуляцию объема и межклеточную связь, а также общую продуктивность организма животного, которая зависит от активности метаболических путей и сокращения мышц. В результате гомеостаз pH как на клеточном, так и на внеклеточном уровне имеет решающее значение для выживания большинства позвоночных. Кровь обладает широким спектром функций, хорошо выраженной структурой и способностью реагировать, что делает ее одним из самых полезных индикаторов.

Объектом нашего исследования была озерная лягушка – представитель зеленых лягушек, обитающий в двух водоемах с различными экологическими условиями на восточном склоне Среднего Урала. Озерная лягушка – полуводная лягушка и один из видов амфибий, наименее чувствительный к загрязнению окружающей среды. Он может обитать в районах, недоступных для других амфибий из-за наличия крупных металлургических и химических предприятий, а также водоемов, загрязненных хозяйственными отходами или удобрениями. Взрослые лягушки могут использовать водоемы, близкие к источникам загрязнения, но развитие эмбрионов и головастиков происходит в совершенно неподходящих условиях (Slavica et al., 2016).

Цель нашей работы – изучить у озерных лягушек, обитающих в водоемах с различным химическим составом вод, химические характеристики крови и морфофизиологические особенности особей.

Материалы

Предметом нашего исследования является озерная лягушка, выборки были собраны в двух разных местах в окрестностях Екатеринбурга – в водоемах Калиновского лесопарка ($n = 28$) и в Белоярском водохранилище ($n = 30$). Все особи обоего пола взрослые, примерно одинакового размера и возраста. Разрешение на сбор этого вида в России не требуется.

Интерес к этим водоемам как местообитаниям водных амфибий был вызван тем, что Белоярское водохранилище – это искусственный водоем-охладитель, в котором концентрируется значительное количество минеральных соединений, водоемы Калиновского лесопарка – естественные, сходные с природными водоемами региона исследований. Эти водоемы существенно различаются по pH. Большинство природных водоемов Урала имеют кислую среду (pH = 6.6) (Vershinin et al., 2015). Гидрохимические анализы проб воды из изученных водоемов выполнены в лаборатории физико-химических анализов Уральского государственного горного университета, а также в лаборатории инженерно-экологических испытаний ООО «АкваСолум». При химическом исследовании воды было установлено, что в Белоярском водохранилище значения pH сдвинуты в щелочную сторону (pH = 7.5). Кроме этого, воды Белоярского водохранилища минерализованы (табл. 1). Общая минерализация Белоярского водохранилища более чем в два раза выше, чем в Калиновском лесопарке, где pH слабокислое, что характерно для природных вод региона.

Таблица 1. Химическая характеристика водных местообитаний амфибий

Местообитание	pH	Минерализация
Калиновский лесопарк	6.6 ± 0.16	103.6 ± 7.4
Белоярское водохранилище	7.5 ± 0.23	253.9 ± 10.4
Уровень значимости различий, p	0.02	0.0003

Методы

Животные были отловлены, после чего доставлены в лабораторию и подвергнуты эвтаназии пропофолом в соответствии с национальными правилами Российской Федерации от 1977 г. и второй частью отчета рабочей группы DGXT EC (1997 г.).

После эвтаназии каждую особь взвешивали, измеряли длину тела с помощью цифрового штангенциркуля (Kraftool, Германия) с ценой деления 0.01 мм и определяли пол. Определение массы тела и печени проведено на цифровых весах (Shimadzu, Япония) с ценой деления 0.01 г.

Отбор проб крови произведен непосредственно из сердца через разрез желудочка. Изучение газов крови и электролитов цельной крови амфибий выполнено с помощью анализатора GASTAT-navi (Япония). Для исследования использована проба цельной крови объемом 200 мкл (время выполнения анализа – 165 с).

Прямым потенциометрическим измерением получены значения pH – концентрация ионов (активность) H^+ . Гидрохимические анализы выполнены в лаборатории физико-химических анализов

Уральского государственного горного университета, а также в лаборатории инженерно-экологических испытаний ООО «АкваСолум».

Статистический анализ данных выполнен в программном пакете (Statistica for Windows). Применен однофакторный дисперсионный анализ. Изучена взаимосвязь состояния среды местообитания с исследуемыми гематологическими показателями.

Результаты

С помощью дисперсионного анализа были выявлены статистически значимые различия в весе животных, взятых из Белоярского водохранилища, по сравнению с особями из естественных водоемов (табл. 2, рис. 1). По упитанности животные существенно различались. Это связано с тем, что Белоярское водохранилище является олиготрофным и присутствующие поллютанты, негативно сказывающиеся на физиологическом состоянии организма, приводят к повышенным энергозатратам. Загрязняющие вещества, которые изменяют pH, постоянно присутствуют в водной среде данного местообитания. Трансформация среды обитания приводит к увеличению или уменьшению массы тела, и эти изменения физиологических показателей напрямую зависят от видовой принадлежности и степени влияния человека (Perry and Gilmour, 2006).

Таблица 2. Характеристики массы тела и печени амфибий из двух местообитаний

Местообитание	L (мм)	P (мг)	Упитанность (P/L)	Масса печени (мг)	n
Калиновский лесопарк	83.7 ± 2.6	72710 ± 6578	813 ± 53	3838 ± 527	28
Белоярское водохранилище	81.0 ± 2.5	54307 ± 6355	640 ± 52	2246 ± 509	30
Значимость различий (p)	0.46	0.04	0.02	0.034	58

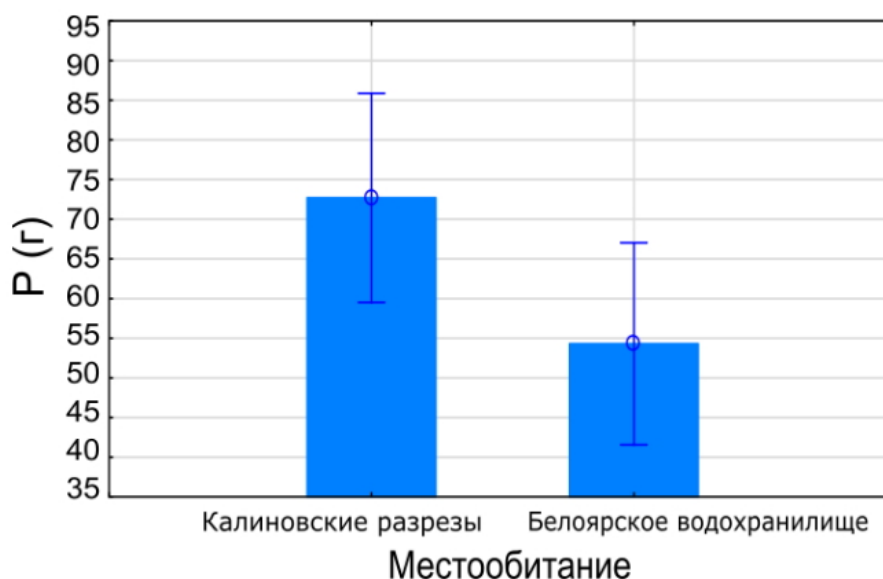


Рис. 1. Разница в массе исследованных животных
Fig 1. The difference in the mass of the studied animals

Морфофизиологические показатели животных из двух сравниваемых популяций существенно различаются, несмотря на одноразмерность особей (см. табл. 2). Существенно и значимо меньше была не только упитанность, но и масса печени у животных, взятых из искусственного водоема (см. табл. 2, рис. 2). Вероятно, это связано с дефицитом питания у животных из Белоярского водохранилища. Печень выполняет ряд важных функций при адаптации к изменениям окружающей среды, с которыми бесхвостые амфибии сталкиваются в течение своего жизненного цикла (Mentino et al., 2017). Обычно масса печени меняется в течение сезонного цикла до трех раз, и эти колебания связаны с массой тела, изменениями окружающей среды, размножением, спячкой и даже филогенетической историей (Withers and Hillman, 2001). Хорошо известно участие печени в нескольких метаболических путях: в частности,

она действует как важная система депонирования гликогена и липидов (Withers and Hillman, 2001). При вскрытии животных из Белоярского водохранилища отмечен очень темный цвет печени, что обычно встречается у амфибий в период зимовки, а также при голодании. Возможно, кроме ограниченного числа пищевых объектов, это связано с повышением энерготрат на физиологические адаптации к антропогенно-трансформированной водной среде (увеличенной концентрацией минеральных веществ и повышенной температурой).

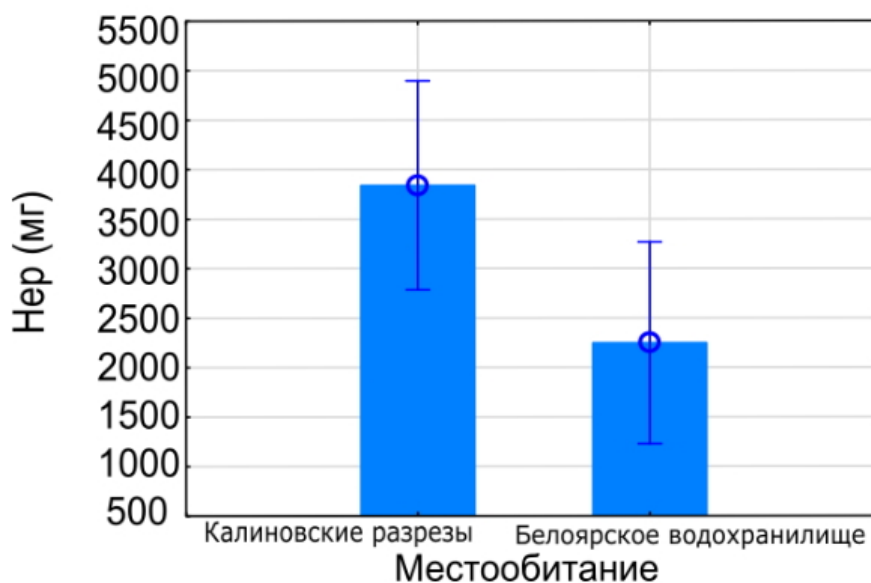


Рис. 2. Разница в массе печени исследованных животных
Fig 2. The difference in the liver mass of the studied animals

Образцы крови лягушек, взятые из Белоярского водохранилища (со щелочным рН), имели более высокое значение рН, чем образцы крови с Калиновских разрезов (с более низким рН) (рис. 3). Управление кислотно-щелочным балансом крови амфибий является важным физиологическим механизмом, который требует тщательного контроля. Хотя физиологические значения рН различаются у разных видов и между частями тела одного и того же вида и зависят от температуры окружающей среды и солености, рН в этой системе тщательно регулируется (Gilmour et al., 2007). Наличие статистически значимых различий рН проб, отобранных у животных с Калиновских разрезов и Белоярского водохранилища, определяет выявленную внутрипопуляционную изменчивость рН крови. Выявленное различие можно объяснить тем, что рН существенно ниже у самок с незрелыми гонадами в популяции лесопарка «Калиновские разрезы».

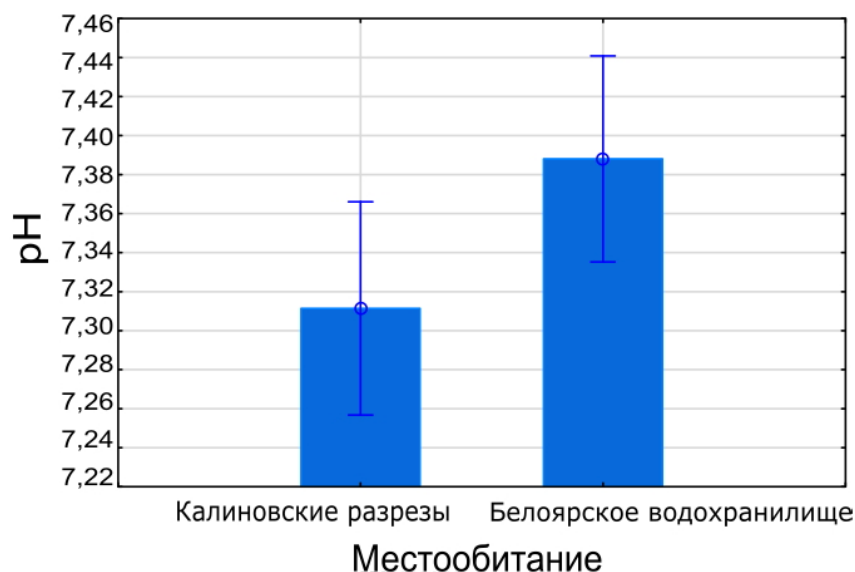


Рис. 3. Разница в значении pH крови в исследуемых выборках
Fig.3. The difference in the pH value of blood in the studied samples

Общими чертами, присущими всем амфибиям, являются их зависимость от влажных местообитаний и источников воды, сложные жизненные циклы и большая физиологическая чувствительность к изменениям окружающей среды. Земноводные относятся к числу видов позвоночных, которым больше всего угрожает исчезновение на планете, и ряд факторов, включая утрату и фрагментацию среды обитания, повышение температуры и ультрафиолетового излучения, наличие инфекционных заболеваний и загрязнение окружающей среды, способствуют сокращению численности популяций земноводных. Кислотные дожди, агрохимикаты, промышленные отходы и другие загрязняющие вещества, изменяющие pH, – это лишь некоторые из загрязнителей, воздействию которых подвержены водные экосистемы.

Заключение

1. В искусственном водоеме, Белоярском водохранилище, значения pH сдвинуты в щелочную сторону (pH = 7.5).
2. Образцы крови лягушек из Белоярского водохранилища имели более высокие значения pH, чем из лесопарка «Калиновские разрезы».
3. При одинаковых размерах массы тела упитанность и масса печени были ниже у лягушек из Белоярского водохранилища, чем из природных слаботрансформированных водоемов Калиновского лесопарка.
4. Вероятно, кислотность крови озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* может быть использована как гематологический маркер негативных изменений среды, в т. ч. обусловленных трансформацией и загрязнением.

Библиография

- Gilmour K. M., Euverman R. M., Esbaugh A. J., Kenney L., Chew S. F., Ip Y. K., Perry S. F. Mechanisms of acid-base regulation in the African lungfish *Protopterus annectens* // The Journal of Experimental Biology. 2007. № 210. С. 44–59.
- Mentino D. G., Scillitani G., Marra M., Mastrodonato M., Mentino D. Seasonal changes in the liver of a non-hibernating population of water frogs, *Pelophylax kl. Esculentus* // The European Zoological Journal. 2017. № 84. С. 525–535.
- Perry S. F., Gilmour K. M. Acid-base balance and CO₂ excretion in fish: Unanswered questions and emerging models // Respiratory Physiology and Neurobiology. 2006. № 154. С. 199–215.

Тласс М. М., Алхендави З., Вершинин В. Л. Реакции организма озерной лягушки (*Pelophylax cf. bedriagae*) на химический состав водной среды обитания в Екатеринбурге // Принципы экологии. 2022. Т. 11. № 4. С. 3–2.

Sirker A. A., Rhodes A., Grounds R. M., Bennett E. D. Acid-base physiology: the traditional and the modern approaches // *Anaesthesia*. 2002. № 57. С. 348–356.

Withers P. S., Hillman S. S. Allometric and ecological relationships of ventricle and liver mass in anuran amphibians // *Functional Ecology*. 2001. № 15. С. 60–69.

Vershinin V., Vershinina S., Berzin D., Zmeeva D., Kinev A. Long-term observation of amphibian populations inhabiting urban and forested areas in Yekaterinburg, Russia // *Scientific Data*. 2015. Vol. 2. DOI: 10.1038/sdata.2015.18.

Reactions of the lake frog *Pelophylax cf. Bedriagae* on the chemical composition of the aquatic habitat in Ekaterinburg

TLASS
Maysa *Ural Federal University, maysaatlass1988@gmail.com*

ALHENDA VI
Zeyna *Ural Federal University, Zeina.hn.91@gmail.com*

VERSHININ
Vladimir *D.Sc., Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, vol_de_mar@list.ru*

Keywords:

morphophysiological indicators
acid-base balance
lake frogs
liver

Summary:

We studied the morphophysiological parameters of acid-base balance in sexually mature *Pelophylax cf. bedriagae* – lake frogs from the Kalinovsky sections forest park and the Beloyarsk reservoir in the vicinity of Yekaterinburg in 2021. It was estimated that in the sampling from the Beloyarsk alkaline reservoir, animals showed a decrease in body weight P ($P < 0.05$), liver mass ($P < 0.03$) and fatness (P/L) ($P < 0.02$) due to man-made pollution in comparison with the sampling from the forest park Kalinovsky sections with slightly acidic pH of the aquatic environment. Lake frogs, which are an invasive species on the eastern slope of the Urals, have characteristic features that distinguish them from higher vertebrates, and are often used as model objects in the study of physiological processes of various organ systems.

References

- Gilmour K. M., Euverman R. M., Esbaugh A. J., Kenney L., Chew S. F., Ip Y. K., Perry S. F. Mechanisms of acid-base regulation in the African lungfish *Protopterus annectens*, *The Journal of Experimental Biology*. 2007. No. 210. P. 44–59.
- Mentino D. G., Scillitani G., Marra M., Mastrodonato M., Mentino D. Seasonal changes in the liver of a non-hibernating population of water frogs, *Pelophylax kl. Esculentus*, *The European Zoological Journal*. 2017. No. 84. P. 525–535.
- Perry S. F., Gilmour K. M. Acid-base balance and CO₂ excretion in fish: Unanswered questions and emerging models, *Respiratory Physiology and Neurobiology*. 2006. No. 154. P. 199–215.
- Sirker A. A., Rhodes A., Grounds R. M., Bennett E. D. Acid-base physiology: the traditional and the modern approaches, *Anaesthesia*. 2002. No. 57. P. 348–356.
- Vershinin V., Vershinina S., Berzin D., Zmeeva D., Kinev A. Long-term observation of amphibian populations inhabiting urban and forested areas in Yekaterinburg, Russia, *Scientific Data*. 2015. Vol. 2. DOI: 10.1038/sdata.2015.18.
- Withers P. S., Hillman S. S. Allometric and ecological relationships of ventricle and liver mass in anuran amphibians, *Functional Ecology*. 2001. No. 15. P. 60–69.