

## МЕЖПОПУЛЯЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ТЕМПЕ РАЗВИТИЯ И ПОТРЕБЛЕНИИ КИСЛОРОДА ГОЛОВАСТИКАМИ ОСТРОМОРДОЙ ЛЯГУШКИ (*RANA ARVALIS* NILSSON, 1842, ANURA: AMPHIBIA)

© 2021 г. С. М. Ляпков<sup>a, \*</sup>, С. Ю. Клеймёнов<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биологической эволюции, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 12, Москва, 119234 Россия

<sup>b</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, 26, Москва, 119334 Россия

\*e-mail: [lyapkov@mail.ru](mailto:lyapkov@mail.ru)

Поступила в редакцию 31.10.2020 г.

После доработки 22.11.2020 г.

Принята к публикации 26.11.2020 г.

Проведено сравнение темпа развития и скорости потребления кислорода у головастика остромордой лягушки из разных популяций (Брянская и Московская области) при выращивании в лабораторных условиях при температуре 20°C. Темп развития, скорость потребления кислорода на особь и на грамм веса, а также скорость прироста массы тела у особей из более северной популяции оказались достоверно выше. Полученные данные соответствуют выявленной нами ранее закономерности: более высокая скорость роста головастика характерна для популяций со сравнительно коротким сезоном активности, что указывает на наличие наследственной основы особенностей их метаболизма.

**Ключевые слова:** темп развития, потребление кислорода, головастики, остромордая лягушка, межпопуляционные различия

DOI: 10.31857/S0475145021020038

### ВВЕДЕНИЕ

Изменчивость количественных признаков, направленная против градиента условий среды, — это выявляемые в естественных условиях межпопуляционные фенотипические различия, направленность которых прямо противоположна адаптивному генетическим изменениям, формирующимся как ответ на данный градиент внешних условий. Даже если такие изменения уже сформированы, их можно выявить только в экспериментах, обычно в одинаковых условиях лабораторных опытов, существенно реже с помощью межпопуляционных переносов особей в естественных условиях (Berven, 1982). Так, например, на представителях двух широкоареальных видов бурых лягушек — остромордой (*Rana arvalis* Nilss.) и травяной (*Rana temporaria* L.), показано, что в естественной среде обитания в южных популяциях обоих видов темп развития головастика выше, чем в северных, что обусловлено разной температурой мест обитания. Но в лабораторных условиях при одинаковой температуре содержания, особи из северных популяций развивались быстрее, чем из южных (Ляпков и др., 2009; Ляпков, 2016). Преимущество сравнительно быстрого роста и развития особей из более северных популяций очевидно,

поскольку в условиях ограниченной длительности сезона активности это позволяет им быстрее достичь необходимого размера для успешной зимовки.

Похожую закономерность выявили наблюдения зависимости энергетического метаболизма от температуры у пойкилотермных животных. Интенсивность метаболизма у представителей северных популяций, рассчитанная по уравнению зависимости от температуры, заметно выше аналогичной величины у обитателей низких широт при той же температуре. В биоэнергетике это явление носит название температурной компенсации метаболизма (Озернюк, 2006).

Вместе с тем, известны факты модификации зависимости энергетического метаболизма от температуры при акклимации пойкилотермных животных к разным температурам содержания вследствие изменения экспрессии изоферментов. Показано, что смещение минимума константы Михаэлиса лактатдегидрогеназы рыб при переносе особей в среду с более высокой или низкой температурой соответствует новым условиям обитания и происходит за счет изменения ее изоферментного состава (Klyachko, Ozernyuk, 1998). Однако выращенные в одинаковых лабораторных условиях головастики

**Таблица 1.** Масса тела, средний прирост массы и скорость потребления кислорода головастиками остромордой лягушки

Популяция	Группа		n	Вес головастика (мг)	Потребление кислорода		Средний прирост массы тела (мг сутки <sup>-1</sup> )
					на особь (мл мин <sup>-1</sup> )	на грамм веса (мл г <sup>-1</sup> мин <sup>-1</sup> )	
	♀	♂		$x \pm st.er.$	$x \pm st.er.$	$x \pm st.er.$	$x \pm st.er.$
Брянская обл.	1	1	20	698.8 ± 27.2	0.886 ± 0.062	1.280 ± 0.082	16.05 ± 0.61
		2	20	710.0 ± 30.9	0.942 ± 0.053	1.352 ± 0.077	16.32 ± 0.71
	2	1	20	687.5 ± 12.0	0.875 ± 0.032	1.291 ± 0.054	15.80 ± 0.27
		2	20	695.0 ± 19.2	0.986 ± 0.029	1.426 ± 0.037	15.98 ± 0.45
	Все вместе		80	697.8 ± 11.5	<b>0.922 ± 0.023</b>	<b>1.337 ± 0.033</b>	<b>16.04 ± 0.26</b>
Московская обл.	3	3	20	654.0 ± 14.0	1.085 ± 0.039	1.667 ± 0.060	17.68 ± 0.38
		4	20	677.5 ± 13.5	1.025 ± 0.028	1.516 ± 0.035	18.31 ± 0.36
	4	3	20	670.5 ± 16.3	1.012 ± 0.036	1.514 ± 0.049	18.63 ± 0.45
		4	20	<b>735.0 ± 17.3*</b>	1.101 ± 0.027	1.506 ± 0.038	<b>20.42 ± 0.48*</b>
	Все вместе		80	684.2 ± 8.3	<b>1.056 ± 0.017</b>	<b>1.551 ± 0.024</b>	<b>18.76 ± 0.24</b>

Примечание. Выделены жирным шрифтом пары средних для популяций значений, достоверно различающиеся между собой, n – объем выборки;  $x \pm st.er.$  – среднее ± стандартная ошибка. \* – Достоверно отличаются от аналогичных величин у остальных групп данной популяции.

травяной лягушки из нескольких географически удаленных друг от друга популяций устойчиво различались по интенсивности потребления кислорода, что свидетельствует об отсутствии полной акклимации в период предметаморфозного роста (Lindgren, Laurila, 2009).

Вопрос о том, в какой мере такие важные свойства организма как темп развития и интенсивность метаболизма закреплены генетически, а в какой представлены нормой реакции в пределах диапазона толерантности вида, до сих пор открыт.

Задачей нашей работы было изучение интенсивности метаболизма головастика остромордой лягушки, происходящих из двух популяций, обитающих на разной широте (условно – более южной и более северной), при их выращивании в стандартных лабораторных условиях.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве исходного материала были использованы по 4 группы полных сибсов, полученные в результате экспериментальных скрещиваний половозрелых особей остромордой лягушки, отловленных в каждой из двух исследованных популяций в нерестовых водоемах в период размножения. Место отлова особей из первой популяции находилось в Брянской обл. (52°27' N; 33°53' E), длительность сезона активности – 7 мес. Местообитание второй популяции – Московская обл. (55°44' N, 36°51' E), длительность сезона активности – 6 мес., начало размножения – в среднем на

2 недели позднее (Ляпков и др., 2009). В каждой популяции были отловлены по 2 самки и по 2 самца. В результате контролируемых перекрестных скрещиваний, от родителей каждой из двух исследованных популяций было получено по 4 различные группы потомков – полных сибсов (см. табл. 1). Оплодотворенные яйца содержали в емкостях с уровнем воды 5 см, при температуре около 15°C до достижения 39-й стадии (начало активного питания по таблицам нормального развития травяной лягушки по Дабагян и Слепцовой, 1975). Затем головастика рассаживали по 20 экз. от каждой группы сибсов в 2 аквариума емкостью 20 л каждый. Дальнейшее выращивание головастика во всех аквариумах проводили при постоянной температуре 20°C и при одинаковом режиме кормления кормом для декоративных рыб фирмы TetraMin, а также сушеным гаммарусом и вареной крапивой. Для определения интенсивности потребления кислорода использовали по 20 экз. от каждой из 4 групп сибсов, происходящих из двух популяций, всего 160 экз.

Определение интенсивности потребления кислорода головастиками проводили на стадиях 46–47 (по: Дабагян, Слепцова, 1975). Измерения производили с помощью оксиметра Orion Star A323 RDO/DO meter (Thermo Fisher Scientific Inc.). Головастика по одному экземпляру помещали в герметичную стеклянную камеру, из которой сразу отбирали 1 мл воды для измерения начальной концентрации кислорода. Отбор пробы производили таким образом, чтобы в камере осталось

ровно 20 мл воды и отсутствовали пузырьки воздуха. Через 20 мин из камеры отбирали вторую пробу воды для измерения концентрации кислорода. Для заполнения камер использовали воду из аквариума, в котором содержался данный экземпляр. Контролем служили 2–3 камеры объемом 20 мл без объектов, заполненные водой из того же аквариума. Интервал времени между отборами проб измеряли с точностью до 1 мин. Скорость потребления кислорода вычисляли для камеры индивидуально, затем вносили поправку на потребление кислорода микробиотой, вычитая среднее значение скорости потребления кислорода в камерах без объекта. По окончании измерения потребления кислорода каждого головастика взвешивали с точностью до 10 мг и затем возвращали в аквариум.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc.). Достоверность различий между средними для популяций значениями оценивали с помощью двухфакторного иерархического дисперсионного анализа, в котором первым фактором (включающим в себя градации второго фактора) были «популяции», вторым фактором – группы полных сибсов. Достоверность различий между средними значениями потомства разных самцов и разных самок в пределах каждой из двух популяций оценивали с помощью трехфакторного дисперсионного анализа, с факторами «самки», «самцы» и «повторности» (схема с полной классификацией).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Различия между двумя популяциями*

Продолжительность развития от оплодотворения до стадии 47 составила в потомстве популяции из Брянской обл. 43.5 сут, из Московской обл. – 36.5 сут. Различия средних составляют 19.2% и достоверны ( $p < 0.001$ ). Не обнаружено достоверных межпопуляционных различий по среднему значению массы тела головастика на стадии 46–47 (табл. 1).

Результаты измерения интенсивности потребления кислорода оказались сходными по величине с известными из научной литературы данными для близкого вида – травяной лягушки (Lindgren, Laurila, 2009). Обнаружены достоверные различия средних значений потребления кислорода головастиками из разных популяций в расчете на особь и на единицу массы тела. Оба показателя были достоверно выше (при  $p < 0.0001$ ) у потомства родителей, взятых из Московской обл., на 13.5 и 14.8% соответственно (табл. 1). Скорость прироста массы тела также была выше у головастика популяции Московской обл. на 15.6% ( $p < 0.0001$ ).

### *Внутрипопуляционная изменчивость исследованных характеристик*

В пределах популяции из Брянской обл. не было выявлено различий между потомством двух самок и между потомством двух самцов по средним значениям всех четырех изучаемых характеристик (табл. 1). В пределах популяции из Московской обл. средние значения массы тела и скорости ее прироста у потомков самки 2 и самца 2 было достоверно больше, чем у трех других групп потомков (табл. 1). Не выявлено различий между потомством двух самок и между потомством двух самцов по средним значениям потребления кислорода на особь и по средним значениям потребления кислорода на грамм массы тела, что указывает на отсутствие влияния на них материнского эффекта. Отсутствие влияния самцов на эти характеристики метаболизма в обеих популяциях означает низкую аддитивную изменчивость, что принято интерпретировать как достаточно жесткий контроль отбором по данным признакам (Falconer, Mackay, 1996).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Достоверные различия по продолжительности развития до 47 стадии при одинаковой температуре содержания указывают на устойчивые межпопуляционные различия темпов развития остромордой лягушки из Брянской и Московской областей. Результаты проведенных ранее исследований темпов развития и роста головастика в лаборатории при таких же условиях (20°C и начальная плотность 1 особь на 1 л) из тех же популяций показали, что головастики из Брянской обл. развивались достоверно медленнее, но были несколько крупнее более северных конспецификов из Московской обл. Продолжительность развития от оплодотворения до завершения метаморфоза составляла 53.6 и 49.7 суток соответственно, а длина тела после завершения метаморфоза равнялась 14.52 и 13.88 мм соответственно (Ляпков и др., 2009). В нашем эксперименте соотношение массы тела головастика сохраняло данную тенденцию, хотя различия не были достоверны.

Полученные нами результаты показали четкую направленность различий в потреблении кислорода: у особей из популяции с более длительным сезоном активности этот показатель достоверно ниже в сравнении с особями из более северной популяции. Такой результат вполне ожидаем, исходя из установленного ранее факта более высокой скорости роста головастика из популяций со сравнительно коротким сезоном активности (Ляпков и др., 2009). Сохранение этого соотношения при развитии головастика в лабораторных условиях при одинаковой температуре указывает на то, что особенности их физиологии, задающие разный

темпы развития в популяциях, вероятно, закреплены генетически.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа по постановке скрещиваний и выращиванию головастиков в лабораторных условиях выполнялась в рамках госзадания (Ч. 2 № ЦИТИС 04-1-21). Измерение потребления кислорода проводилось в рамках госзадания 0088-2021-0009.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных в экспериментах и условия ухода за ними были соблюдены

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

#### ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ

Авторы внесли равный вклад в проведение исследований и написание статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дабаян Н.В., Слепцова Л.А. Травяная лягушка *Rana temporaria* L. // Объекты биологии развития. 1975. С. 442–462.
- Ляпков С.М. Географическая изменчивость характеристик метаморфов травяных лягушек // Вестник СПбГУ. Сер. 3. 2016. Вып. 3. С. 86–91.
- Ляпков С.М., Корнилова М.Б., Сербина И.А., Корзун Е.В., Новицкий Р.В. Формирование направленной географической изменчивости особенностей жизненного цикла бурых лягушек // Современная герпетология. 2009. Т. 9. № 3/4. С. 103–121.
- Озернюк Н.Д. Экологическая энергетика животных. М.: Т-во научных изданий КМК, 2006. 168 с.
- Berven K.A. The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. II. An experimental analysis of larval development // Oecologia, Berlin. 1982. V. 52. № 3. P. 360–369.
- Falconer D. S., Mackay T. F. C. Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. Essex, Longman, Harlow, 1996. 464 p.
- Klyachko O. S., Ozernyuk N. D. Functional and structural properties of lactate dehydrogenase from embryos of different fishes // Comp. Biochem. Physiol. 1998. V. 119B. P. 77–80.
- Lindgren B., Laurila A. Physiological variation along a geographical gradient: is growth rate correlated with routine metabolic rate in *Rana temporaria* tadpoles? // Biological J. Linnean Society. 2009. V. 98. P. 217–224.

## Interpopulation Differences in the Developmental Rate and Oxygen Consumption in Tadpoles of Moor Frog (*Rana arvalis* Nilsson, 1842, Anura: Amphibia)

S. M. Lyapkov<sup>1,\*</sup> and S. Yu. Kleymenov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory 1-12, Moscow, 119234 Russia

<sup>2</sup>Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia

\*e-mail: lyapkov@mail.ru

A comparative study of the developmental rate and oxygen consumption in *Rana arvalis* tadpoles from the population of the Bryansk region (Southern) and Moscow region (Northern) in laboratory conditions at a temperature of 20°C was carried out. The rates of growth and development, the rate of oxygen consumption as well as the specific rate of oxygen consumption in individuals from a Northern population were significantly higher. This result corresponds to the previously detected higher growth rate of tadpoles from populations with a relatively short season of activity (Northern) and indicates that these tadpole metabolism features are probably genetically determined.

**Keywords:** developmental rate, oxygen consumption, tadpoles, *Rana arvalis*, interpopulation differences