

6. Селюков А. Г. Репродуктивная система сиговых рыб (Coregonidae, Salmoniformes) как индикатор состояния экосистемы Оби. II. Половые циклы муксуна *Coregonus muksun* // *Вопр. ихтиологии*. 2002. Т. 42. № 2. С. 225-235.
7. Юхнева В. С. Наблюдения за нерестом и развитием икры сиговых рыб на р. Сыня // *Озерное и прудовое хоз-во в Сибири и на Урале*. Тюмень, 1967. 190-199 с.
8. Малышев В. И. Эмбриональное развитие тугуна // *Изв. ГосНИОРХ*. 1974. Т. 92. С. 98-101.
9. Богданов В. Д. Видовые особенности личинок некоторых сиговых (Coregoninae) рыб на этапе вылупления // *Вопр. ихтиологии*. 1983. Т. 23. Вып. 3. С. 449-459.
10. Богданов В. Д. Экология молоди и воспроизводство сиговых рыб Нижней Оби. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: ИПЭЭ РАН, 1997. 38 с.
11. Селюков А. Г., Степанов А. М., Васильева Л. В. Состояние воспроизводительной системы сиговых рыб на этапе вылупления // *IV Всес. конф. по раннему онтогенезу рыб*. М., 1988. С. 88-89.
12. Бондаренко О. М. Формирование генеративной системы и ее модификация экологическими факторами в раннем онтогенезе сиговых и осетровых рыб. Автореф. дисс. ... к. б. н. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2003. 22 с.
13. Боровиков В. П. Популярное введение в программу STATISTICA. М.: Компьютер-пресс. 1998. 267.
14. Кузьмин А. Н. Эмбриональное развитие пеляди // *Тр. Обь-Тазовск. отд. ГосНИОРХ. Нов. серия*. 1963. Т. 3. С. 148-164.
15. Лебедева О. А. Развитие икры и личинок // *Пелядь. Систематика, морфология, экология, продуктивность*. М.: Наука. 1989. С. 211-228.
16. Пак И. В. Комплексная морфогенетическая оценка состояния природных популяций рыб (на примере сиговых Обь-Тазовского бассейна): Автореф. дисс. ... д. б. н. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2004. 39 с.
17. Андреев В. Л., Решетников Ю. С. Исследование внутривидовой морфологической изменчивости сига *Coregonus lavaretus* (L.) методами многомерного статистического анализа // *Вопр. ихтиологии*. 1977. Т. 17. Вып. 5 (106). С. 862-878.
18. Сергиенко Л. Л. Биологические основы совершенствования заводского воспроизводства сиговых рыб. Автореф. дисс. ... к. б. н. СПб.: ГосНИОРХ, 1995. 19 с.

Галина Александровна ПЕТУХОВА —
биологический факультет,
Тюменский государственный
университет, Тюмень, Россия

УДК 681.3.574.3.575.224

ИЗМЕНЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДРОЗОФИЛ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ СРЕДЫ

АННОТАЦИЯ. В ходе длительного (около 400 поколений) развития мух на питательной среде, содержащей нефть, показана стабилизация основных показателей жизнедеятельности на уровне контроля. Выявлен высокий уровень морфологического и генетического полиморфизма в популяциях нефтеустойчивых мух. Установлено наследование нефтеустойчивости и изучена локализация генов нефтеустойчивости, исследованы пределы возможной устойчивости дрозофил к нефтяному загрязнению среды.

The author demonstrates stabilization of basic biological control indices during long-term (about 400 generations) rearing of Drosophila flies in cultural habitat

containing oil. High level of morphological and genetic polymorphism has been revealed in the populations of oil-resistant flies. The inheritance of oil resistance has been defined, the localization of oil resistance genes has been determined, as well as the limits of potential resistance of flies to oil pollution of the environment.

Беспрецедентные масштабы и темпы добычи нефти и газа в Тюменской области сопровождаются значительными потерями углеводородного сырья [1]. Интенсивное развитие нефтеперерабатывающей отрасли промышленности привело к тому, что популяции живых организмов вынуждены длительное время находиться в условиях нефтяного загрязнения и приспосабливаться к хроническому действию токсических веществ. Возможность адаптации к нефтяному загрязнению изучена недостаточно. В ряде работ была показана адаптация к сублетальным концентрациям к нефти синезеленых водорослей [2], простейших [3]. Данные организмы оказались способны жить и размножаться в среде с добавлением нефти без патологических изменений. Л. Д. Гапочка [2] считает, что отбор готовых резистентных форм в генетической популяции водорослей является основным механизмом адаптации популяций одноклеточных к нефти, что приводит к генетической адаптации. Такой же точки зрения придерживается Б. А. Флеров [4], который указывает на то, что гидробионты приспосабливаются к действию токсических веществ только путем отбора и сохранения уже имеющихся резистентных особей и элиминации слабоустойчивой части популяции. Представляет интерес изучение сохранения нефтеустойчивости и механизмов адаптации различных организмов к нефти и нефтепродуктам. В наших исследованиях [5] была показана возможность адаптации плодовой мушки дрозофилы к хроническому нефтяному загрязнению среды. Оценка изменений основных показателей жизнедеятельности мух в ходе адаптации к нефтезагрязненной среде и явилась целью данной работы.

Материалы и методы исследования

В лабораторных условиях на кафедре экологии и генетики биологического факультета Тюменского госуниверситета были отселектированы 2 линии плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, способные жить и размножаться в условиях хронического нефтяного загрязнения. Мухи, начиная с 1994 года, содержатся на стандартной питательной среде с добавлением нефти в полулетальной концентрации (5% от состава среды) и половинной полулетальной (2,5%). К настоящему времени обе линии прожили на загрязненной нефтью среде около 400 поколений. В ходе многолетних исследований у мух оценивали основные показатели общей приспособленности: выживаемость и плодовитость [6]. Кроме того, исследовали темп развития и поведенческие особенности мух, а также уровень морфологического и генетического полиморфизма при хроническом нефтяном загрязнении среды [7]. Оценивали степень сохранения нефтеустойчивости при длительном (2 поколения) содержании дрозофил на чистой питательной среде. Все исследования проводили с использованием стандартных методов токсикогенетического анализа.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведенные многолетние исследования на мухах, помещенных на питательную среду с добавлением нефти, показали, что у дрозофил в первом же поколении резко снижается приспособленность: все основные показатели жизнедеятельности

тельности снижены по сравнению с показателями мух на чистой среде (табл. 1). По мере содержания мух в условиях нефтезагрязнения лидирующее положение в процессе адаптации занимают сдвиги в поведенческих реакциях: первыми на уровень контроля вышли такие показатели, как частота спариваний (к 17 поколению) и двигательная активность (к 33 поколению). К 45 поколению уровня контроля достигла реальная плодовитость мух из опытных вариантов. С 60 поколения показатели выживаемости и потенциальной плодовитости мух, частоты крыловых морфозов значимо не отличались от контрольного уровня. Развитие адаптивных процессов в линии мух, содержащихся на питательной среде с добавлением 2,5% нефти, шло с опережением по сравнению с линией, содержащейся на среде с концентрацией нефти 5%. Проведенные исследования показывают возможность приспособления дрозофил к хроническому действию нефти. В ходе развития адаптации к нефтяному загрязнению идет отбор устойчивых генотипов. Лидирующее место в этом процессе занимает поведенческая адаптация мух к нефтяному загрязнению.

Таблица 1

Основные показатели жизнедеятельности мух при хроническом действии нефти

Показатели	Поколения	Варианты эксперимента		
		Контроль	Нефть, 2,5%	Нефть, 5%
Выживаемость (%) на 18 день	F1	49,1±3,53	16,2±2,59*	0±0,07*
	F60	38±3,17	34,5±3,15	33,5±2,95
Потенциальная плодовитость (шт)	F1	13,9±0,96	8,5±0,35*	5,3±0,51*
	F 60	22,9±1,23	20,5±0,71	19,2±1,29
Реальная плодовитость (шт.)	F1	7,7±0,43	4,2±0,16*	3,2±1,03 *
	F 45	7,5±1,84	5,9±2,06	4,2±1,32
Частота (%) эмбриональных летелей	F1	3,3±0,65	5,4±1,09 *	6,1±1,32 *
	F 80	2,0±0,47	2,4±0,56	2,6±0,63
Частота крыловых морфозов (%)	F 1	0,3±0,32	1,0±0,42	1,7±0,67*
	F 60	0,2±0,21	0,2±0,23	0,0±0,06
Активность СОД (% ± m)	F 1	11,6±0,56	7,9±0,62*	5,3±0,41*
	F 70		17,0±0,54*	22,8±0,38*
Активность каталазы (мк моль/100 г)	F 1	51,6±1,71	78,6±1,90 *	89,4±1,06*
	F 70		84,7±1,18*	109,9±1,40*
Содержание диеновых конъюгатов (в долях)	F 1	1±0,31	2,26±0,19*	5,64±0,85*
	F70		1,17±0,14	3,48±0,93*
Двигательная активность (%±m)	F 1	77,7±2,94	37,8±3,43 *	42,3±3,49*
	F33	64,7±3,38	68,9±3,27	60,9±3,45
Частота спаривания (%±m)	F 1	2,3±0,67	1,0±0,58*	1,3±0,88*
	F17	2,7±0,88	1,7±0,89	1,6±0,94
Длина тела (мм)	F 1	10,3±0,11	11,2±0,08	11,5±0,32
	F90		12,2±0,14*	12,7±0,34*
Суммарное количество морфологических аномалий (шт)		6,9±0,80	42,5±1,56*	49,8±1,58*
			13,5±1,08*	12,0±1,02*
Количество пуфов в поли-тенных хромосомах (шт)	F 1	11,7±0,34	18,4±0,35*	14,9±0,36*
	F90		21,8±0,28*	18,1±0,25*

Условные обозначения: * — статистически достоверные различия между контролем и опытом при $P < 0,05$

Несмотря на то, что большинство показателей мух нефтеустойчивых линий достигло уровня контроля, биохимические характеристики, размеры тела, количество морфологических аномалий статистически значительно превышали контрольный уровень. Вероятно, это связано с накопившимися в ходе адаптации изменениями, позволяющими дрозофилам выживать в сложных условиях полулетальной концентрации нефтяного загрязнения. Высокая активность супероксиддисмутазы и каталазы позволяла мухам нейтрализовать токсические продукты, возникающие в клетках, однако количество нарушений оставалось достаточно высоким, о чем свидетельствует высокое содержание промежуточных продуктов перекисного окисления липидов, а также конъюгатов.

В ходе проведенных экспериментов анализировали уровень полиморфизма в нефтеустойчивых линиях по морфологическим и цитогенетическим характеристикам. Учитывали изменения в цвете и форме глаз, форме крыльев и брюшка, количестве и форме щетинок, цвете и размерах тела. Выявлен высокий уровень изменчивости практически всех проанализированных морфометрических показателей. Особенно значимый уровень полиморфизма установлен у мух первого поколения, развивавшихся в среде с добавлением нефти в полулетальной концентрации. По мере приспособления к условиям нефтяного загрязнения уровень изменчивости хотя и снижался, но был выше среднестатистического по популяции.

Показано увеличение спектра генетической активности у мух нефтеустойчивых линий, анализируемое по частоте встречаемости и размерам пухов в политенных хромосомах. Показано, что часть пухов у личинок является, вероятно, неспецифической, так как их появление зафиксировано при различных стрессовых воздействиях на дрозофил. Однако некоторые пухы строго специфичны для нефтяного загрязнения. Увеличивался и размер пухифицированных зон по мере адаптации особей к нефтяному загрязнению.

Для выяснения природы нефтеустойчивости мух, содержащихся в течение ряда поколений на нефтезагрязненной среде, проводили посадку дрозофил на чистую питательную среду. При переводе мух на чистую питательную среду в первом поколении основные показатели приспособленности резко изменяются: выживаемость к 20 дню эксперимента снижается почти на 40%, потенциальная плодовитость увеличивается на 50%, а реальная — более чем на 200%, частота спариваний и двигательная активность увеличиваются более чем на 50%. Во втором поколении выявлено снижение выживаемости на 60%, реальной плодовитости — на 55%, двигательная активность и частота спариваний снижаются более чем на 60%. Возвращение мух в условия нефтезагрязнения стабилизирует все показатели жизнедеятельности. Полученные данные свидетельствуют о том, что условия чистой питательной среды являются инадаптивными для мух нефтеустойчивой линии — все показатели жизнедеятельности у особей, переведенных из условий нефтезагрязнения на чистую среду, резко отклоняются от контрольного уровня. Возврат дрозофил в условия загрязнения сразу же стабилизирует все показатели, что свидетельствует о генотипической адаптации организмов к нефтяному загрязнению среды.

Проведение гибридологического анализа мух нефтеустойчивой линии с мухами тесторных линий, маркированных по всем хромосомам, позволило выявить доминирование нефтеустойчивости. Установлено, что нефтеустойчивость определяется не менее чем 3 генами. Два гена локализованы во 2 и 3 хромосоме

соответственно и имеют разную степень экспрессивности. Основные гены нефтеустойчивости локализованы в X-хромосоме дрозофил и определяют несколько различающуюся степень нефтеустойчивости самок и самцов.

Проведено изучение пределов устойчивости мух к высоким концентрациям нефти в среде (8 и 10%). Показано, что мухи, адаптированные к более низкой концентрации нефти, имеют и меньший резерв нефтеустойчивости по сравнению с мухами, адаптированными к полулетальной концентрации нефти в среде. Можно указать, что длительное пребывание мух в загрязненной среде, безусловно, ведет к развитию генотипических адаптаций к нефтезагрязнению. Обеспечение нормального функционирования механизмов нефтеустойчивости позволяет дрозофилам противостоять очень высоким концентрациям загрязнения, вызывающим гибель особей, не адаптированных к подобного рода воздействиям. Мухи, устойчивые к высоким концентрациям нефти в среде (5%), имеют больший резерв адаптационных возможностей и могут более успешно противостоять еще более высоким (8 и 10%) концентрациям загрязнителя в среде.

Выводы

1. Хроническое загрязнение питательной среды нефтью в концентрации 2,5 и 5% приводит к развитию генотипической адаптации дрозофил, проявляющейся в стабилизации основных показателей жизнедеятельности (выживаемости, плодовитости, поведенческих реакций) на уровне мух стандартной линии. Становление генотипической адаптации происходит медленно (в течение 60 поколений развития дрозофил) и проявляется прежде всего в стабилизации поведенческих показателей, затем показателей выживаемости и плодовитости.

2. Установлен высокий уровень морфологического и цитогенетического полиморфизма дрозофил нефтеустойчивой линии. Уровень активности ряда ферментов у мух нефтеустойчивых линий превышал спонтанный. Выявлен ряд пuffed в политенных хромосомах, специфически проявляющихся только при нефтяном загрязнении среды.

3. Нефтеустойчивость мух наследуется по доминантному типу, определяется 3 генами. Основное влияние на нефтеустойчивость оказывают гены, локализованные в X-хромосоме.

4. Мухи нефтеустойчивой линии, адаптированные к полулетальной концентрации загрязнителя в среде (5%), имеют больший резерв нефтеустойчивости по сравнению с дрозофилами линии, адаптированной к более низким концентрациям нефти в среде (2,5%). Дрозофилы из высоконефтеустойчивой линии (5%) способны выживать в среде с концентрацией нефти 8 и 10%, что невозможно для неадаптированных мух и весьма затруднено для особей из линии с адаптацией к невысокой концентрации нефти в среде (2,5%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Обзор: Экологическое состояние, использование природных ресурсов, охрана окружающей среды. Тюмень, 2001. 214 с.
2. Гапочка Л. Д. Об адаптации водорослей. М.: Изд-во МГУ, 1981. 80 с.
3. Бурковский Н. В. Структурно-функциональная организация морских донных сообществ // М.: МГУ, 1992. 207 с.
4. Флеров Б. А. К вопросу о приспособленности гидробионтов к токсическому фактору // Гидробиологический журнал. 1971. Т. 7. С. 105-108.

5. Петухова Г. А., Ануфриева В. В., Афанасьева Т. Н., Волкова С. Ю. Ответные реакции организмов на нефтяное загрязнение среды // Северный регион: наука и социокультурная динамика. 2002. С. 24-26.

6. Медведев Н. Н. Практическая генетика. М.: Наука, 1968. 237 с.

7. Власова И. Е., Умбетова Г. Х., Беляева Е. С., Жимулёв И. Ф. Выявление активных районов в политенных хромосомах *Drosophila melanogaster* при иммунофлюоресцентной локализации гибридов ДНК // Генетика, 1986. Т. 21. № 3. С. 424-428.

*Оксана Николаевна ЖИГИЛЕВА,
Анна Владимировна БУРАКОВА —
биологический факультет,
Тюменский государственный
университет, Тюмень, Россия*

УДК 574.576.895:597.6

**ПОКАЗАТЕЛИ СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ,
ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ
ПОПУЛЯЦИЙ ОСТРОМОРДОЙ ЛЯГУШКИ *RANA ARVALIS*
НА УРБАНИЗИРОВАННЫХ И ФОНОВЫХ ТЕРРИТОРИЯХ**

*АННОТАЦИЯ. На основе анализа генетической структуры, показателей стабильности развития и паразитарной инвазии остромордой лягушки *Rana arvalis* дается комплексная сравнительная характеристика состояния ее популяций на фоновых и урбанизированных территориях в условиях юга Тюменской области.*

*Genetic structure, indexes of developmental stability and parasitic invasion of populations of the moor frog *Rana arvalis* in natural and urban territories were studied in the south of Tyumen region.*

Амфибии составляют существенный компонент водных и наземных биоценозов и являются удобным объектом биологического мониторинга антропогенно нарушенных территорий. Из множества различных методов оценки состояния популяций животных в последнее время уделяется особое внимание показателям флуктуирующей асимметрии [1-3]. Величина флуктуирующей асимметрии, определяемая как незначительные ненаправленные отклонения от строгой билатеральной симметрии между двумя сторонами тела, является характеристикой, по которой можно судить о стабильности развития организма [4]. Стабильность развития — это способность организма к формированию генетически детерминированного фенотипа. Основу любой морфологической изменчивости составляет генетическая, самым доступным методом выявления которой в популяциях любых видов служит изучение полиморфизма белков. Другим широко используемым для оценки состояния популяций подходом служит паразитологический анализ [5]. Как правило, эти подходы используются независимо друг от друга, между тем, в комплексном мониторинге природных популяций очевидна ценность интегрированных исследований. В связи с этим целью нашей работы была комплексная эколого-генетическая и паразитологи-