

Морфологические особенности зародышей амфибий при УФ облучении Хабаева З. Г.¹, Бадтиев А. К.², Газзаева Р. А.³, Гаглоева М. Т.⁴

¹Хабаева Зинаида Григорьевна / *Хабаева Zinaida Grigor'evna* - кандидат биологических наук, доцент;

²Бадтиев Алибек Кириллович / *Badtiev Alibek Kirillovich* - кандидат биологических наук, заведующий лабораторией;

³Газзаева Римма Александровна / *Gazzaeva Rimma Aleksandrovna* - доктор химических наук, профессор;

⁴Гаглоева Мариам Тамазиевна / *Gagloeva Mariam Tamazievna* – аспирант,
химико-биологический факультет,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова,
г. Владикавказ, Республика Северная Осетия–Алания

Аннотация: осуществлен морфологический анализ состояния зародышей амфибий при воздействии на них УФ излучением средневолнового диапазона. Описаны особенности дефектов их развития и состояния зародышевых оболочек в этих условиях. Выявлены деструктивные изменения оболочек, способные вызвать нарушения в ходе эмбрионального развития амфибий.

Ключевые слова: УФ излучение средневолнового диапазона, зародыши амфибий, дефекты развития.

УДК 57.041; 57.043; 575.2.084

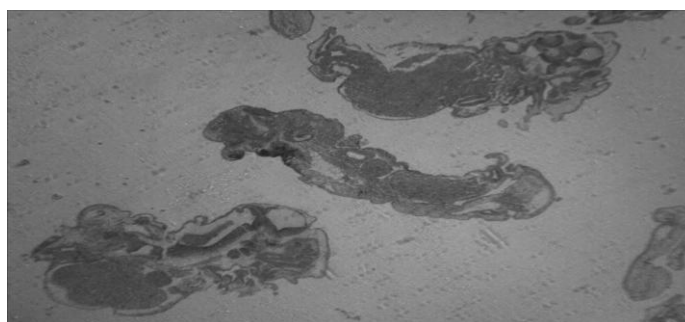
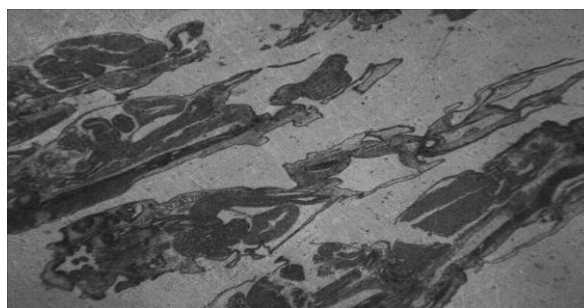
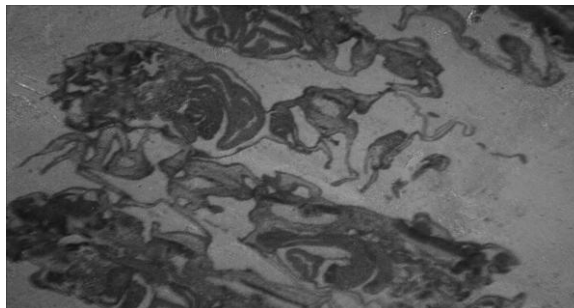
Введение. Зародыши амфибий в условиях воздействия внешних факторов среды, нередко экстремального характера, должны обладать достаточным уровнем защитно-компенсаторных реакций, широким диапазоном адаптивных возможностей. К числу этих факторов следует отнести экологические и физиологические адаптации, проявляющиеся в избирательности среды обитания, форме и способе откладывания яиц, наличии яйцевых оболочек и слизи, ферментативного аппарата, пигментной системы и т. д. [Ankley et al., 2002; Palen et al., 2002]. Характер этих приспособительных возможностей обеспечивает защиту и адаптацию животных при изменении условий среды, обусловленных, в частности, изменениями состояния озонового слоя [Kerr, McElroy, 1993; Schindler et al., 1996; Yagura T. et al., 2011] и, как следствие, увеличением мощности УФ излучения средневолнового диапазона (УФВ). Хорошо известно, что прямые УФВ лучи вызывают гибель зародышей амфибий или аномалии их развития [Anzalone et al., 1998; Ankley et al., 2002; Blaustein, Belden, 2003; Хабаева, Бадтиев, 2008 и мн. др.].

Цель исследования. Ранее нами было показано, что УФВ облучение мощностью от 120 с. до 420 с. вызывает различного рода эффекты – от гибели зародышей до дефектов их развития. Обнаружено проявление индивидуальной вариабельности в чувствительности зародышей амфибий к действующему раздражителю [Хабаева и др., 2008; Бадтиев и др., 2008]. В рамках реализации вопроса о причинах индивидуальной чувствительности зародышей амфибий к УФ облучению, была поставлена задача определения состояния барьерных механизмов зародышей при прямом воздействии на них УФ лучей различной интенсивности.

Материал и методы исследования. В качестве объектов исследования были использованы зародыши двух видов представителей класса Земноводных (*Amphibia*) отряда Бесхвостых амфибий (*Anura*), наиболее распространенных на территории Республики Северная Осетия-Алания: лягушки малоазиатской (*Rana macrocnemis* Boulenger) и лягушки озерной (*Rana ridibunda* Pallas). В работе было использовано 8 кладок, поставлено 27 опытов, общее количество икринок в которых составило около 2000. Сбор эмбрионального материала осуществляли в естественной среде обитания амфибий. При облучении зародышей соблюдали условия, препятствующие перегреву эмбрионов: температура воды в чашке Петри была не более 16-18⁰ С. Интенсивность облучения определялась продолжительностью УФ облучения. Облучали зародышей на разных стадиях их развития (бластула, гастрюла, нейрула). В качестве источника УФ лучей использовали лампу ДРТ 240-1С с длиной волны излучения 280-320 нм. Характер патологических изменений оценивали на личиночной стадии развития (30-31 стадия). Для регистрации наблюдаемых дефектов развития применялся метод фотографирования, через оптическую систему бинокулярного микроскопа цифровыми фотоаппаратами (SAMSUNG и Nikon COOLPIX L12).

Результаты и обсуждение. В предыдущих работах было показано, что УФ облучение зародышей продолжительностью от 120 с. до 420 с. вызывало аномалии их развития, проявляющиеся в форме бугристости поверхности тела, недоразвитых жабр, различных типов деформаций тела. Чаще всего наблюдались различного рода аномалии в области хвоста, при повышении продолжительности облучения возникали опухолевидные образования. Характер и степень выраженности наблюдаемых аномалий зависели от экспозиции УФ фактора и стадии, на которой осуществляли облучение, и не проявляли видоспецифичности [Хабаева и др., 2008; Бадтиев и др., 2008]. В настоящей работе наряду с указанными типами патологий были обнаружены изменения положения зародышей в чашке Петри. Пределы вариабельности наблюдаемых поворотов составляли от 90⁰ до 180⁰ и возникали, по всей видимости, из-за смещения центра тяжести тела зародыша.

Гистологический контроль состояния зародышей амфибий проводили на базе лаборатории гистологии Северо-Кавказского медицинского центра. Зародыши контрольной и опытной групп находились на одной стадии развития. Продолжительность облучения составляла 120 и 360 с. В контрольной группе на срезе были видны достаточно чётко дифференцированные ткани зародыша, можно выделить отдельные зачатки органов, в частности, отделы кишечной и нервной трубки (рис. 1а). Облучение продолжительностью 120 с вызвало нарушение части тканей и органов (рис. 1б). Этот процесс усугублялся при повышении интенсивности облучения (360 с). На рисунке видны фрагменты разрушенных тканей, органы невозможно дифференцировать (рис. 1в).



*Рис. 1. Гистологический срез тканей зародыша лягушки малоазиатской
а) контроль; б) УФ – облучение (120 с); в) УФ – облучение (360 с)*

Для определения состояния барьерных механизмов зародышей амфибий осуществили анализ их оболочек. В контроле вторичная оболочка была всегда прозрачная, плотно прилегала к зародышу и росла вместе с ним. Облучение вызвало нарушение вторичной оболочки, прекращался её рост, что, в свою очередь, препятствовало нормальному развитию зародыша. Возможно, что наблюдаемые аномалии в виде скрюченности, загибов хвоста определяются механическим давлением вторичной оболочки на данном этапе развития. В последующем рост зародыша приводил к преждевременному разрыву вторичной оболочки, т. е. более ранним срокам вылупления зародышей. Понятно, что ранние сроки вылупления зародыша определяют его более низкие защитно-компенсаторные возможности, т. к. различные морфофункциональные комплексы, созревающие именно в эти сроки, остаются незавершенными. Хотелось бы подчеркнуть различия внешнего вида вторичных оболочек зародышей амфибий. В отличие от контрольных особей, у облученных зародышей вторичная оболочка была непрозрачная, можно было разглядеть частички разрушенной ткани (рис. 2).

При анализе состояния студенистой оболочки, окружающей зародыши амфибий в естественной среде их обитания, также были выделены внешние изменения слизи при УФВ облучении. Визуально наблюдаемые изменения студенистой оболочки выявлялись уже при малых дозах облучения ($63-378 \text{ Дж/см}^2$): уменьшалась плотность оболочки, она становилась более рыхлой, разреженной. При повышении дозы облучения третичная оболочка практически разрушалась, невозможно было выделить ее четкие границы, она могла сохраняться в виде отдельных рыхлых островков небольших размеров (рис. 2).

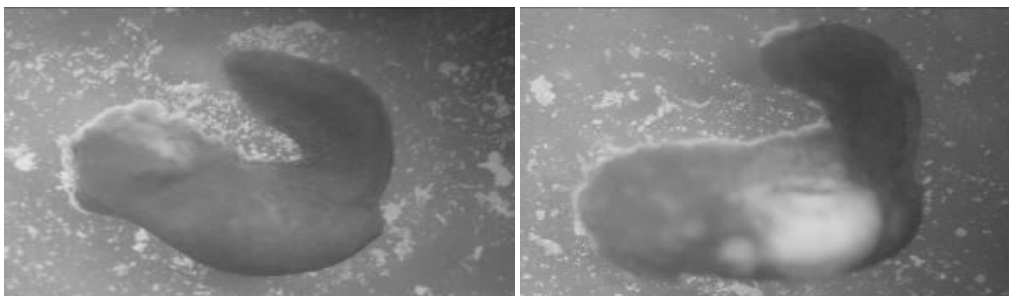


Рис. 2. Зародыши лягушки малоазиатской, облучение на 20 стадии (время УФО - 480 с)

Таким образом, УФВ излучение сопровождается разрушением как вторичной, так и студенистой оболочки, что приводит либо к гибели зародышей, либо к формированию разнообразных дефектов развития, в части случаев имеющих обратимый характер. Известно, что в естественной среде обитания именно зародышевые оболочки и слизь обеспечивают высокий уровень защитных возможностей развивающегося зародыша. Так, эластичность и гибкость оболочек яиц всех земноводных определяет их амортизирующие свойства при механических воздействиях на яйцо. Высокая прозрачность оболочек (собирающие линзы) способствует концентрации световых и тепловых лучей на яйце, что, наряду с их малой теплопроводностью, повышает температуру в кладке. Толщина оболочек препятствует сближению яиц между собой и тем самым способствует лучшей их аэрации. Водоросли, поселяющиеся на оболочках, улучшают кислородный режим яиц, а особенности их химического состава препятствуют росту на яйцах бактерий. Клейкость оболочек в ряде случаев обеспечивает возможность икринкам держаться на растениях, камнях и т. д. Именно многофункциональностью в обеспечении защиты и целостности развивающегося эмбриона и определяются многочисленные последствия нарушений зародышевых оболочек, возникающих при воздействии УФВ излучения.

Заключение. По всей видимости в естественных условиях УФО может выступать в качестве одного из факторов регулирующих численность амфибий, при этом регуляция будет осуществляться путем гибели менее устойчивых особей. Полученные данные, на наш взгляд, приобретают большую актуальность в связи с существующими в литературе данными об уменьшении толщины озонового слоя и, как следствие, увеличением интенсивности ультрафиолетового воздействия.

Литература

1. Хабаева З. Г., Бадмиев А. К. Ультрафиолетовое излучение и эффекты его воздействия на жизнеспособность зародышей амфибий // Сб. статей II Всерос. научн. конф. «Актуальные проблемы экологии и сохранения биоразнообразия». Владикавказ, 2008. С. 95-101.
2. Бадмиев А. К., Хабаева З. Г., Калабеков А. Л. Об особенностях зародышевого развития амфибий как модельных объектов для оценки экологического влияния ультрафиолетового облучения // Сельскохозяйственная биология. 2008. № 2. С. 107-110.
3. Adams M. J., Hossack B. R., Knapp R. A. et al. Distribution Patterns of Lentic-Breeding Amphibians in Relation to Ultraviolet Radiation Exposure in Western North America // Ecosystems. 2005. V. 8. P. 488-500.
4. Ankley G. T., Diamond S. A., Tietge J. E. et al. Assessment of the risk of ultraviolet radiation to amphibians. I. Dose-dependent induction of hind limb malformations in the northern leopard frog (*Rana pipens*) // Environmental Science and Technology. 2002. V. 36. P. 2853-2858.
5. Blaustein A. R., Romansic J. M., Scheessele E. A. Ambient levels of ultraviolet-B radiation cause mortality in juvenile western toads, *Bufo boreas* // American Midland Naturalist. 2005. V. 154. P. 375-382.
6. Diamond S. A., Peterson G. S., Tietge J. E. et al. Assessment of the risk of solar ultraviolet radiation to amphibians. III. Prediction of impacts in selected northern mid-western wetlands // Environ Sci Technol., 2002. V. 36. P. 2866-2874.
7. Kerr J. B., McElroy C. J. Evidence for large upward trends of ultraviolet-b radiation linked to ozone depletion // Science. 1993. V. 262. P. 1032-1034.
8. Palen W. J., Schindler D. E., Adams M. J. et al. Optical characteristics of natural waters protect amphibians from UV-B in the U.S. Pacific Northwest // Ecology. 2002. V. 83. P. 2951-2957.