

Р. И. Замалетдинов, Н. Г. Назаров,  
А. О. Свинин, Г. П. Дробот, Е. Ю. Сальникова

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОСОБЕЙ ПРУДОВОЙ ЛЯГУШКИ  
*PELOPHYLAX LESSONAE* (CAMERANO, 1882) ИЗ ПОПУЛЯЦИЙ,  
НАСЕЛЯЮЩИХ ВОДОЕМЫ ГОРОДА КАЗАНИ**

**Аннотация.**

*Актуальность и цели.* Амфибии представляют собой удобную модельную тест-систему при проведении биоиндикационных исследований и экологического мониторинга, так как обитают на границе двух сред, характеризуются относительно слабой миграционной способностью, высокой численностью и экологической пластичностью, позволяющей им заселить естественные и урбанизированные местообитания.

*Материалы и методы.* Особи прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* отлавливались в июле 2018 г. в трех биотопах: вторичный водоем около «Парка Победы» г. Казани, карстовое озеро «Малое Глубокое» и озеро Круглое, представляющее условно-контрольную территорию (заповедник). Определение биохимических показателей крови включало в себя анализ содержания глюкозы, лактата, общего белка и гемоглобина. Из гематологических признаков изучены два показателя: содержание эритроцитов и лейкоцитов.

*Результаты.* Изучены биохимические показатели крови прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* из популяций, населяющих два биотопа города Казани и условно-контрольный биотоп. Определено содержание глюкозы, лактата, общего белка, гемоглобина в периферической крови, проведен подсчет количества эритроцитов и лейкоцитов. Установлено более низкое содержание глюкозы, общего белка и повышенный уровень лактата у прудовых лягушек из популяции в центре города (Парк Победы) по сравнению с условно-контрольной территорией и «зеленой зоной» города. Наблюдается низкое содержание гемоглобина у лягушек из городских территорий.

*Выводы.* У особей из популяции *P. lessonae*, обитающих в водоеме «Парка Победы» (городская популяция), выявлено состояние гипогликемии, повышенное содержание лактата в крови, снижение содержания общего белка, гемоглобина и повышение удельного числа эритроцитов, что, возможно, свидетельствует об условиях гипоксии, вызванных высоким уровнем загрязнения городских местообитаний и эвтрофикацией водоемов. Вероятно, в антропогенно нарушенных местообитаниях у амфибий наблюдаются различные адаптивные реакции, заключающиеся в росте числа эритроцитов в ответ на снижение уровня гемоглобина, и изменение интенсивности обменных процессов.

**Ключевые слова:** прудовая лягушка, *Pelophylax lessonae*, биохимия крови, гематология, урбоэкосистемы.

R. I. Zamaletdinov, N. G. Nazarov,  
A. O. Svinin, G. P. Drobot, E. Yu. Sal'nikova

## BIOCHEMICAL PECULIARITIES OF THE PERIPHERAL BLOOD OF THE *PELOPHYLAX LESSONAE* POND FROG (CAMERANO, 1882) OF THE KAZAN CITY POPULATIONS

### Abstract.

**Background.** Amphibians are a convenient model test system for bioindication research and environmental monitoring; because of they are live on the border of two environments, characterized by relatively weak migration ability, high numerosity and ecological plasticity, allowing them to inhabit natural and urbanized habitats.

**Materials and methods.** The individuals of the pool frog *Pelophylax lessonae* were caught in July, 2018 from three localities: the secondary reservoir near Park Pobedy of the city of Kazan, the M. Glubokoe karstic lake, and the Krugloe lake, representing control habitat (nature reserve). The study of biochemical parameters included the analysis of glucose, lactate, total protein and hemoglobin in the blood. Two hematological traits were studied: the count of erythrocytes and leukocytes.

**Results.** The biochemical blood parameters of the pool frog, *Pelophylax lessonae*, inhabited populations from two biotopes of the city of Kazan and one control locality were studied. The content of glucose, lactate, total protein, hemoglobin in peripheral blood was determined. The number of erythrocytes and leukocytes per liter was counted. A lower content of glucose, total protein and elevated levels of lactate were found in pool frogs from the population in the city center (Park Pobedy) compared to control areas and the “green zone” of the city. Low hemoglobin levels are observed in frogs from urban areas.

**Conclusions.** The revealed state of hypoglycemia and decreased level of total protein, increased lactate level in blood of *P. lessonae* individuals from population in Park Pobedy waterbodies, decreased hemoglobin level and an increase in the number of erythrocytes may indicate the conditions of hypoxia caused by high levels of urban pollution and eutrophication of water bodies. Apparently, various adaptive reactions are observed in anthropogenically disturbed habitats, consisting in increased number of red blood cells, decreased hemoglobin level and high level of metabolic processes.

**Keywords:** pool frog, *Pelophylax lessonae*, blood biochemistry, hematology, urban ecosystems.

### Введение

Ответная реакция живых организмов на трансформацию среды обитания проявляется в изменениях морфофизиологического состояния организма и отдельно взятых систем органов [1]. Биохимические показатели периферической крови наряду с общими гематологическими показателями наиболее чутко реагируют на стрессовые воздействия факторов окружающей среды и могут служить индикаторами физиологического статуса животных и стабильности развития популяций [2–4].

Среди позвоночных животных при выборе объектов биоиндикационных исследований амфибии обладают рядом преимуществ: высокой экологической пластичностью, приуроченностью к водным объектам, сравнительно небольшим миграциям, высокой численностью в широком спектре условий обитания [2, 5–8]. Наиболее часто с этой целью используют зеленых лягушек рода *Pelophylax* в связи с их высокой численностью, высоким адаптивным

потенциалом, плодовитостью и скоростью роста популяции [2–4, 9], что позволило им распространиться в разнообразных местообитаниях, в том числе и на урбанизированных территориях.

В связи с этим особый интерес представляет исследование реакции крови зеленых лягушек на воздействие антропогенных факторов в водоемах крупных городов. Целью данной работы было дать оценку биохимическим показателям периферической крови прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) с территории урбэкоосистем города Казани.

### Материалы и методы

Материалом для настоящей работы послужили выборки из популяций прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882). Отлов лягушек проведен в июле 2018 г. в трех участках: 1) близ Парка Победы города Казани: вторичный водоем, сформированный в результате подпора грунтовых вод ( $n = 18$ ); 2) лесопарк «Лебяжье»: карстовое озеро «Малое Глубокое» в ( $n = 15$ ); 3) на территории охранной зоны Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника: озеро Круглое (контрольный участок;  $n = 14$ ). Для территории Казани принято выделять четыре функциональные зоны [3], из которых два исследуемых городских местообитания относятся к зоне многоэтажной застройки (Парк Победы, зона II) и зеленой зоне города (озеро Малое Глубокое, зона IV).

Взятие крови проведено в момент декапитации. Для гематологических исследований использованы пробирки с ЭДТА, тогда как для биохимического анализа кровь отбиралась в пробирки с гелем и активатором компании «Минимед».

Изучение биохимических показателей включало в себя анализ содержания глюкозы (мм/л), лактата (мм/л), общего белка (мм/л) и гемоглобина (г/л) в крови. Из гематологических признаков изучены два показателя: содержание эритроцитов и лейкоцитов (число клеток на литр крови). Подсчет форменных элементов крови осуществлен с помощью микроскопа Nikon H550S.

Оценка гидрохимических показателей проведена с помощью стандартных методов [10–11] на базе кафедры природообустройства и водопользования Казанского (Приволжского) федерального университета и Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника. Значения ряда гидрохимических параметров (содержание ионов аммония, нитратов, фосфатов и АСПАВ) оказались выше в водоемах «Парка Победы» и озере Малое Глубокое в сравнении с условно-контрольной территорией (озеро Круглое) (табл. 1).

Таблица 1

Гидрохимические параметры исследуемых водоемов

| Локалитеты           | pH, ед. | Аммоний ион, мг/л | Нитриты, мг/л | Нитраты, мг/л | Фосфаты, мг/л | АСПАВ, мг/л |
|----------------------|---------|-------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| Водоем Парка Победы  | 7,6     | 2,0               | 0,00          | 0,75          | 0,12          | 0,095       |
| Озеро Малое Глубокое | 7,1     | 0,85              | 0,02          | 0,1           | 0,06          | 0,015       |
| Озеро Круглое        | 7,4     | 0,14              | 0,042         | < 0,10        | < 0,05        | 0,021       |

Сравнение средних значений проведено с помощью непараметрического критерия Краскела – Уоллиса, а множественные сравнения данных – с использованием критерия рангов. Сравнение дисперсий выполнено с помощью критерия Левена. Попарное сравнение дисперсий проведено с помощью критерия Фишера с поправкой Бонферрони. Все расчеты выполнены в программе Statistica 6.0 (StatSoft Inc.).

### Результаты

Полученные значения биохимических показателей крови и гематологических параметров приведены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Биохимические показатели периферической крови популяций прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* г. Казани и условно-контрольного местообитания

| Местообитание        | Глюкоза, мМ/л | Лактат, мМ/л | Общий белок, мМ/л | Гемоглобин, г/л |
|----------------------|---------------|--------------|-------------------|-----------------|
| Водоем Парка Победы  | 4,68 ± 0,34   | 7,14 ± 0,48  | 23,29 ± 0,68      | 72,63 ± 0,78    |
| Озеро Малое Глубокое | 7,71 ± 0,16   | 5,48 ± 0,17  | 34,15 ± 0,38      | 73,61 ± 0,78    |
| Озеро Круглое        | 7,67 ± 0,16   | 5,28 ± 0,16  | 37,99 ± 0,37      | 80,23 ± 0,61    |

Таблица 3

Гематологические показатели периферической крови популяций прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* г. Казани и условно-контрольного местообитания

| Местообитание        | Эритроциты, 10 <sup>8</sup> кл./л | Лейкоциты, 10 <sup>6</sup> кл./л |
|----------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| Водоем Парк Победы   | 2,63 ± 0,05                       | 27,21 ± 0,72                     |
| Озеро Малое Глубокое | 2,55 ± 0,04                       | 26,96 ± 0,64                     |
| Озеро Круглое        | 2,45 ± 0,04                       | 28,88 ± 0,77                     |

Сравнение трех популяций прудовой лягушки по биохимическим параметрам крови с помощью критерия Краскела – Уоллиса выявило статистически значимые различия по содержанию в крови глюкозы ( $N = 29,5$ ;  $p < 0,001$ ), лактата ( $N = 8,7$ ;  $p = 0,013$ ), общего белка ( $N = 39,4$ ;  $p < 0,001$ ), гемоглобина ( $N = 28,0$ ;  $p < 0,001$ ), количества эритроцитов ( $N = 7,3$ ;  $p = 0,025$ ).

Дальнейшее множественное сравнение с помощью критерия рангов выявило детальные межпопуляционные отличия по ряду показателей. Содержание глюкозы и общего белка в популяции *P. lessonae* из водоема Парка Победы было ниже, чем у особей из двух других популяций (рис. 1,а и в). Также особи популяции из водоема Парка Победы характеризовались завышенными показателями лактата (рис. 1,б). Содержание гемоглобина в крови было выше в популяции амфибий из озера Круглое по сравнению с городскими популяциями (рис. 1,г). Приведены среднее, ошибка среднего и среднеквадратичное отклонение. Звездочкой показаны статистически значимо различающиеся группы (при  $p < 0,05$ ).

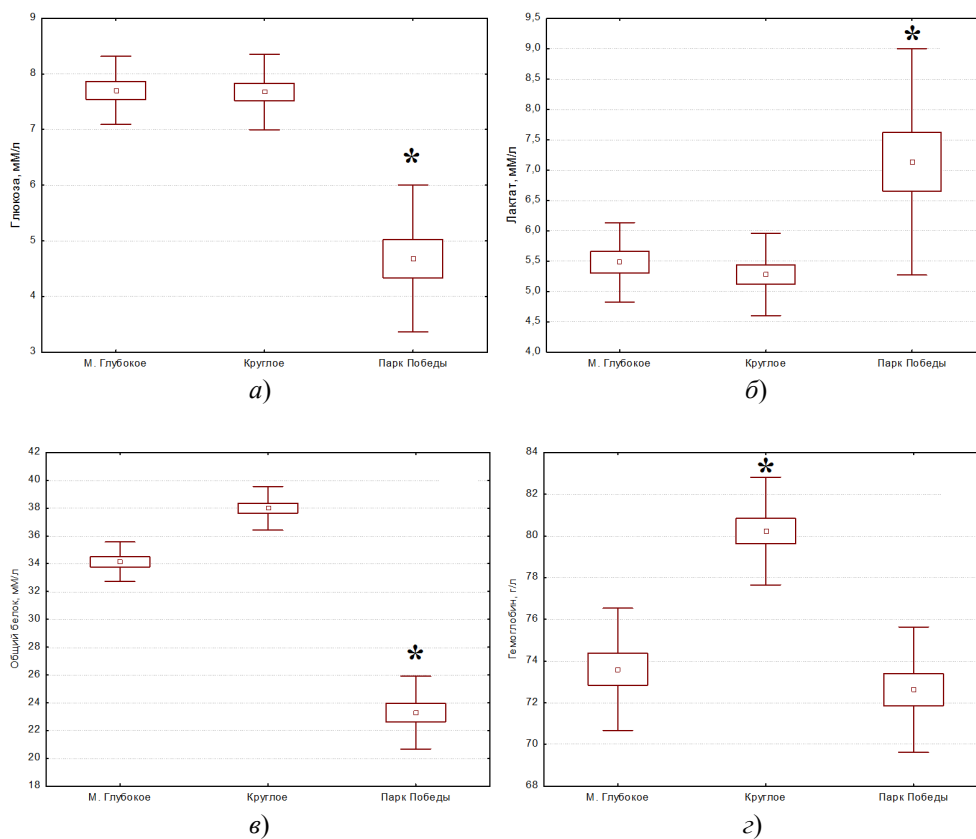


Рис. 1. Содержание глюкозы (а), лактата (б), общего белка (в) и гемоглобина (з) в периферической крови прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* из трех популяций, обитающих в водоемах города Казани

Множественное сравнение также выявило значимое увеличение содержания эритроцитов у особей из «Парка Победы» по сравнению с особями из контрольной территории (озеро Круглое).

Сравнение дисперсий исследуемых биохимических параметров крови выявило статистически значимые различия по содержанию глюкозы и лактата. Парное сравнение с помощью критерия Фишера показало увеличение размаха изменчивости у особей из водоема Парка Победы (зона II) по сравнению с остальными локалитетами (см. рис. 1, а–з).

### Обсуждение

Наблюдающееся состояние гипогликемии и снижение содержания общего белка в крови у особей популяции *P. lessonae* из водоема «Парка Победы» (относящейся к зоне II города Казани) свидетельствует о возможном дисбалансе метаболизма, вызываемого различными причинами (интоксикации организма, повреждениями внутренних органов вследствие паразитической инвазии и т.д.). Повышенное содержание лактата в крови особей амфибий из популяции «Парка Победы» может свидетельствовать об увеличении расходов энергии в условиях сильного антропогенного пресса, развитии гипоксии. Аналогичные выводы получены и ранее на основе оценки морфоби-

физиологических показателей, потребления кислорода и состояния возбудимых тканей [12]. Вероятно, измененный уровень обменных процессов у животных из популяций, обитающих в условиях интенсивного антропогенного пресса в городской среде, является адаптивным механизмом.

Снижение уровня гемоглобина в крови *P. lessonae* и повышение удельного числа эритроцитов, вероятно, подтверждают наши предположения об условиях гипоксии, вызванных высоким уровнем загрязнения городских местообитаний и эвтрофикацией водоемов (см. гидрохимические параметры в главе «Материалы и методы»). Возможно, в антропогенно нарушенном местообитании на урбанизированной территории наблюдается адаптивная реакция в виде роста числа эритроцитов на фоне общего снижения уровня гемоглобина в крови. В естественных местообитаниях эффективность окислительно-восстановительных реакций выше, и достигается она без роста числа эритроцитов, что также отмечено другими авторами [2].

Выявленная тенденция представляется в качестве адаптивной реакции при обитании в условиях антропогенной трансформации окружающей природной среды. Полученные результаты носят предварительный характер, и для детального подтверждения сформулированных выводов необходимо продолжение исследований. В частности, кажется необходимым определение размеров эритроцитов у амфибий, обитающих в условиях антропогенно измененных водоемов.

*Благодарности.* Авторы выражают свою искреннюю признательность доценту кафедры зоологии и экологии Томского государственного университета В. Н. Курановой за ценные замечания по работе, заместителю директора по управлению, экологическому образованию и туризму Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника Е. Н. Унковской и специалисту по учебно-методической работе кафедры природообустройства и водопользования КФУ Л. Р. Павловой за предоставление данных по гидрохимии исследованных водоемов, а также заведующей кафедрой природообустройства и водопользования и лаборатории оптимизации водных экосистем КФУ Н. М. Мингазовой за возможность работы с фондовыми материалами.

#### **Библиографический список**

1. **Шварц, С. С.** Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных / С. С. Шварц, В. С. Смирнов, Л. Н. Добринский. – Свердловск, 1968. – 386 с. – (Тр. АН СССР. Урал. фил. Ин-т экологии растений и животных. Вып. 58).
2. **Вершинин, В. Л.** Гемопоз бесхвостых амфибий – специфика адаптациогенеза видов в современных экосистемах / В. Л. Вершинин // Зоологический журнал. – 2004. – Т. 83, № 11. – С. 1367–1374.
3. **Жукова, Т. И.** Изменения гематологических показателей озерной лягушки в связи с обитанием в водоемах, загрязненных пестицидами / Т. И. Жукова // Экология. – 1987. – № 2. – С. 54–59.
4. **Романова, Е. Б.** Изменения гематологических параметров лягушек *Rana* в антропогенно-нарушенных территориях / Е. Б. Романова, М. Н. Егоркина // Экология. – 2006. – Т. 37, № 3. – С. 188–192.
5. **Замалетдинов, Р. И.** Экология земноводных в условиях большого города (на примере г. Казани) : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Замалетдинов Р. И. – Казань, 2003. – 24 с.

6. **Николаев, В. Ю.** Иммуногематологические характеристики амфибий и рептилий верхнего и среднего Поволжья в аутоэкологическом аспекте : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Николаев В. Ю. – Нижний Новгород, 2016. – 23 с.
7. **Baraquet, M.** Intraspecific variation in erythrocyte sizes among populations of *Hypsiboas cordobae* (Anura: Hylidae) / M. Baraquet, P. R. Grenat, N. E. Salas, A. L. Martino // *Acta Herpetologica*. – 2013. – № 8 (2) – P. 93–97.
8. **Davis, A. K.** The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologist / A. K. Davis, D. L. Maney, J. C. Maers // *Functional Ecology*. – 2008. – Vol. 22. – P. 760–772.
9. **Zhelev, Zh. M.** Haematological Parameters of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) from the Region of the Lead and Zinc Plant “Kardzhali” (South Bulgaria) and their use in the Environmental Quality Assessment / Zh. M. Zhelev, G. S. Popgeorgiev, N. H. Mehterov // *Acta zool. bulg.* – 2015. – Vol. 67 (2). – P. 271–282.
10. **Алекин, О. А.** Основы гидрохимии / О. А. Алекин. – Ленинград : Гидрометеоздат, 1970. – 444 с.
11. Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты / В. Д. Романенко, О. П. Оксюк, В. Н. Жукинский, Ф. В. Стольберг, В. И. Лаврик. – Киев : Наукова думка, 1990. – 255 с.
12. **Вершинин, В. Л.** Экологические особенности популяций амфибий урбанизированных территорий : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Вершинин В. Л. – Екатеринбург, 1997. – 47 с.

### References

1. Shvarts S. S., Smirnov V. S., Dobrinskiy L. N. *Metod morfofiziologicheskikh indikatorov v ekologii nazemnykh pozvonochnykh* [The method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates]. Sverdlovsk, 1968, 386 p. (Tr. AN SSSR. Ural. fil. In-t ekologii rasteniy i zhivotnykh. Vyp. 58). [In Russian]
2. Verшинin V. L. *Zoologicheskij zhurnal* [Zoological journal]. 2004, vol. 83, no. 11, pp. 1367–1374. [In Russian]
3. Zhukova T. I. *Ekologiya* [Ecology]. 1987, no. 2, pp. 54–59. [In Russian]
4. Romanova E. B., Egorkina M. N. *Ekologiya* [Ecology]. 2006, vol. 37, no. 3, pp. 188–192. [In Russian]
5. Zamaletdinov R. I. *Ekologiya zemnovodnykh v usloviyakh bol'shogo goroda (na primere g. Kazani): avtoref. dis. kand. biol. nauk* [Ecology of amphibians in a big city (on example of Kazan): author's abstract of dissertation to apply for the degree of the candidate of biological sciences]. Kazan, 2003, 24 p. [In Russian]
6. Nikolaev V. Yu. *Immunogematologicheskie kharakteristiki amfibiy i reptilij verkhnego i srednego Povolzh'ya v autekologicheskom aspekte: avtoref. dis. kand. biol. nauk* [Immuno-hematological characteristics of amphibians and reptiles of the upper and middle Volga region in the auteological aspect: author's abstract of dissertation to apply for the degree of the candidate of biological sciences]. Nizhniy Novgorod, 2016, 23 p. [In Russian]
7. Baraquet M., Grenat P. R., Salas N. E., Martino A. L. *Acta Herpetologica*. 2013, no. 8 (2), pp. 93–97.
8. Davis A. K., Maney D. L., Maers J. C. *Functional Ecology*. 2008, vol. 22, pp. 760–772.
9. Zhelev Zh. M., Popgeorgiev G. S., Mehterov N. H. *Acta zool. bulg.* 2015, vol. 67 (2), pp. 271–282.
10. Alekin O. A. *Osnovy gidrokhimii* [Basics of hydrochemistry]. Leningrad: Gidrometeoizdat, 1970, 444 p. [In Russian]
11. Romanenko V. D., Oksiyuk O. P., Zhukinskiy V. N., Stol'berg F. V., Lavrik V. I. *Ekologicheskaya otsenka vozdeystviya gidrotekhnicheskogo stroitel'stva na vodnye ob"ekty* [Environmental assessment of the impact of hydrotechnical construction on water issues]. Kiev: Naukova dumka, 1990, 255 p. [In Russian]

12. Vershinin V. L. *Ekologicheskie osobennosti populyatsiy amfibiiv urbanizirovannykh territoriy: avtoref. dis. d-ra biol. nauk* [Ecological peculiarities of amphibian populations in urban areas: author's abstract of dissertation to apply for the degree of the doctor of biological sciences]. Ekaterinburg, 1997, 47 p. [In Russian]
- 

***Замалетдинов Ренат Ирекович***

кандидат биологических наук, доцент,  
кафедра природообустройства  
и водопользования, Казанский  
(Приволжский) федеральный  
университет (Россия, г. Казань,  
ул. Кремлевская, 18)

E-mail: i.ricinus@rambler.ru

***Zamaletdinov Renat Irekovich***

Candidate of biological sciences, associate  
professor, sub-department of environmental  
engineering and water resources  
management, Kazan Federal University  
(18 Kremlevskaya street, Kazan, Russia)

***Назаров Наиль Госманович***

ассистент, кафедра природообустройства  
и водопользования, Казанский  
(Приволжский) федеральный  
университет (Россия, г. Казань,  
ул. Кремлевская, 18)

E-mail: nail-naz@yandex.ru

***Nazarov Nail' Gosmanovich***

Assistant, sub-department of environmental  
engineering and water resources  
management, Kazan Federal University  
(18 Kremlevskaya street, Kazan, Russia)

***Свинин Антон Олегович***

кандидат биологических наук, старший  
преподаватель, кафедра биохимии,  
клеточной биологии и микробиологии,  
Марийский государственный  
университет (Россия, г. Йошкар-Ола,  
площадь Ленина, 1)

E-mail: ranaesc@gmail.com

***Svinin Anton Olegovich***

Candidate of biological sciences, senior  
lecturer, sub-department of biochemistry,  
cell biology and microbiology, Mari State  
University (1 Lenin square, Yoshkar-Ola,  
Russia)

***Дробот Галина Павловна***

кандидат биологических наук, доцент,  
заведующий кафедрой биохимии,  
клеточной биологии и микробиологии,  
Марийский государственный  
университет (Россия, г. Йошкар-Ола,  
площадь Ленина, 1)

E-mail: droga59@gmail.com

***Drobot Galina Pavlovna***

Candidate of biological sciences, associate  
professor, head of the sub-department  
of biochemistry, cell biology and  
microbiology, Mari State University  
(1 Lenin square, Yoshkar-Ola, Russia)

***Сальникова Екатерина Юрьевна***

магистрант, Казанский (Приволжский)  
федеральный университет (Россия,  
г. Казань, ул. Кремлевская, 18)

E-mail: kate.salnikova2012@gmail.com

***Sal'nikova Ekaterina Yur'evna***

Master's degree student, Kazan Federal  
University (18 Kremlevskaya street, Kazan,  
Russia)



**Образец цитирования:**

Биохимические особенности периферической крови особей прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) из популяций, населяющих водоемы города Казани / Р. И. Замалетдинов, Н. Г. Назаров, А. О. Свинин, Г. П. Дробот, Е. Ю. Сальникова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2019. – № 1 (25). – С. 41–49. – DOI 10.21685/2307-9150-2019-1-5.