

УДК 591.1

**СРАВНЕНИЕ СПЕЦИФИКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОЖИ СИБИРСКОЙ  
(*RANA AMURENSIS* BOULENGER, 1886) И ОСТРОМОРДОЙ  
ЛЯГУШЕК (*RANA ARVALIS* NILSSON, 1842)\***

**А.Н. Гурвич<sup>1</sup>, В.Л. Вершинин<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет, Екатеринбург

<sup>2</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

Исследования особенностей физиологических параметров кожи различных видов амфибий Среднего Урала, с помощью установки Уссинга ранее не проводилось, поэтому представленные результаты актуальны и носят пионерный характер. Выполнен сравнительный анализ исследуемых показателей кожи вентрального и дорсального лоскута у исследуемых видов (*R. arvalis*, *R. amurensis*), что позволило установить наличие значимых различий в значениях разности потенциалов и “тока короткого замыкания”. Наивысшие значения изученных показателей, свидетельствующие о наиболее энергозатратном варианте работы калиево-натриевых насосов, отмечены у остромордой лягушки, что вероятно обеспечивает высокую пластичность и эвритопность *R. arvalis*. Наблюдаемые отличия показателей кожи остромордой и сибирской лягушек, по-видимому, обусловлены полиморфностью первого вида и мономорфностью последнего.

**Ключевые слова:** остромордая лягушка, *Rana arvalis*, сибирская лягушка, *Rana amurensis*, кожа, транспорт Na, установка Уссинга, ток короткого замыкания (SCC).

DOI: 10.26456/vtbio102

**Введение.** Как и сама лягушка, ее кожа – классический модельный объект биофизиков и физиологов (Ussing, 1949; Flier et al., 1980; Daly et al., 1987; Harris et al., 2009). Но несмотря на то, что она широко используется для изучения механизмов влияния на мембранный транспорт различных гормонов и фармакологических агентов, используют амфибий различной видовой принадлежности, а также пола, что может привести к исходным различиям и ошибкам в

---

\* Исследование поддержано программой 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.A03.21.0006.

трактовку экспериментальных результатов. На характеристику транспорта и электрофизиологических параметров кожи амфибий оказывают влияние не только внешние условия, но и такие особенности как наличие микротрубочек или содержание белков (Крутецкая и др., 2006; Мельницкая и др., 2006, 2015), также как видовая специфика (Слоним, 1971), генетический полиморфизм (Вершинин, 2006, 2008), географическая приуроченность выборки, а также локализация отбираемого образца лоскута на поверхности тела животного. Известно, что физиологические параметры кожи амфибий разнятся в зависимости от возраста, пола и ряда других особенностей, которые необходимо учитывать при планировании экспериментальных исследований (Lodi et al., 1993). Работ по изучению особенностей физиологических показателей кожи (разность потенциалов, "ток короткого замыкания", трансэпителиальная проницаемость) представителей различных видов амфибий из природных популяций, специфики транспорта, а также изучения проницаемости кожи немного (Вершинин, Терешин, 1999), чем и было обусловлено проведение данного исследования. Целью настоящей работы являлось изучение трансмембранного транспорта дорзального и вентрального лоскутов кожи каждого из исследуемых видов амфибий и сравнительный анализ видовой специфики двух представителей сем. Ranidae – остромордой и сибирской лягушек. *Rana arvalis* (Nilsson, 1842), *R. amurensis* Boulenger, 1886).

**Методика.** Для проведения экспериментов был проведен отлов животных из природных популяций в период активной фазы жизненного цикла. Выборки были произведены в летний период 2014-2016 года в Мокроусовском районе Курганской области (берег оз. Куртан). В целом, для исследования трансэпителиальных токов использовано 72 экз. остромордой - *Rana arvalis* (Nilsson, 1842) и 46 экз. сибирской - *R. amurensis* Boulenger лягушек.

Сразу после отлова животные транспортировались в лабораторию для проведения исследований.

В ходе экспериментов исследовались кожа брюшка (вентральный лоскут) и кожа спинной стороны (дорзальный лоскут). Лоскуты срезали по очереди и помещали в камеру Уссинга "World Precision Instruments, Inc" (Германия) с диаметром внутреннего отверстия 6 мм. Камеру заполняли раствором Рингера, для холоднокровных, содержащим в (Мм): NaCl – 8,6г., KCl – 0,3г. CaCl – 0,25г. В установке использовались хлорсеребряные (AgCl) электроды, которые перед экспериментом заполняли NaCl - агаровыми мостиками. Опыты проводили при комнатной температуре (22-23 градуса по Цельсию). С помощью установки Уссинга фиксировали

следующие величины –  $I_{sc}$  (ток короткого замыкания), PD (разность потенциалов) для каждого лоскута кожи. В дальнейшем данные пересчитывали по формуле –

Ток короткого замыкания:

$$I_{sc} (\mu A/cm^2) = I(s) / \pi R^2 \text{ (диаметр камеры) (1)}$$

Полученные значения обрабатывались с помощью пакетов программ Statistica 6.0 и MS Excel. Сравнение значений между дорсальным и вентральным лоскутами оценивалось с помощью критерия Стьюдента. Межвидовые различия оценивались с помощью ANOVA.

**Результаты и обсуждение.** Сравнительный анализ значений  $I_{sc}$  вентрального и дорсального лоскутов *R. arvalis* показал наличие между ними достоверных различий (Табл. 1). Показатель "тока короткого замыкания" больше для кожи брюшной стороны тела. Также отмечены значимые различия разности потенциалов у этого вида между дорсальным и вентральным лоскутом ( $p < 0,05$ ).

Для *R. amurensis* сравнение значений PD и  $I_{sc}$  вентрального и дорсального лоскута достоверных различий не выявило (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика физиологических параметров кожи остромордой и сибирской лягушек

Вид	Показатель	Вентральный лоскут	Дорсальный лоскут	F	P
<i>R. arvalis</i>	PD (mV)	-45,45±27,72	-28,25±18,67	40,49	$p < 0,05$
<i>R. amurensis</i>		-10,56±5,61	-7,29±4,43		$p > 0,05$
<i>R. arvalis</i>	$I_{sc}$ ( $\mu A/cm^2$ )	39,96±19,09	25,56±14,78	44,27	$p < 0,05$
<i>R. amurensis</i>		12,65±6,55	12,65±5,46		$p > 0,05$

Проведенные межвидовые сравнения, выявили существенные различия изученных показателей. Так, сибирская лягушка обладает низкими значениями разности потенциалов обоих лоскутов, по сравнению с остромордой ( $p < 0,05$ ). Причем PD у *R. amurensis* намного превышает таковые у *R. arvalis*. При анализе значений "тока короткого замыкания" -  $I_{sc}$ (мкА) двух исследуемых видов также было установлено значимое различие ( $p < 0,05$ ). При этом в данном случае  $I_{sc}$  сибирской лягушки ниже, чем у остромордой.

Обнаруженные отличия физиологических характеристик кожи *R. arvalis* до ( $I_{sc}$ ), по сравнению с *R. amurensis*. Интересно, что у остромордой лягушки отмечаются различия в показателях активного транспорта кожи вентрального и дорсального лоскута, которые, по-видимому, обусловлены тем, что именно через кожу брюшной

стороны в большей мере происходит активный обмен с внешней средой (Leaf et al., 1957).

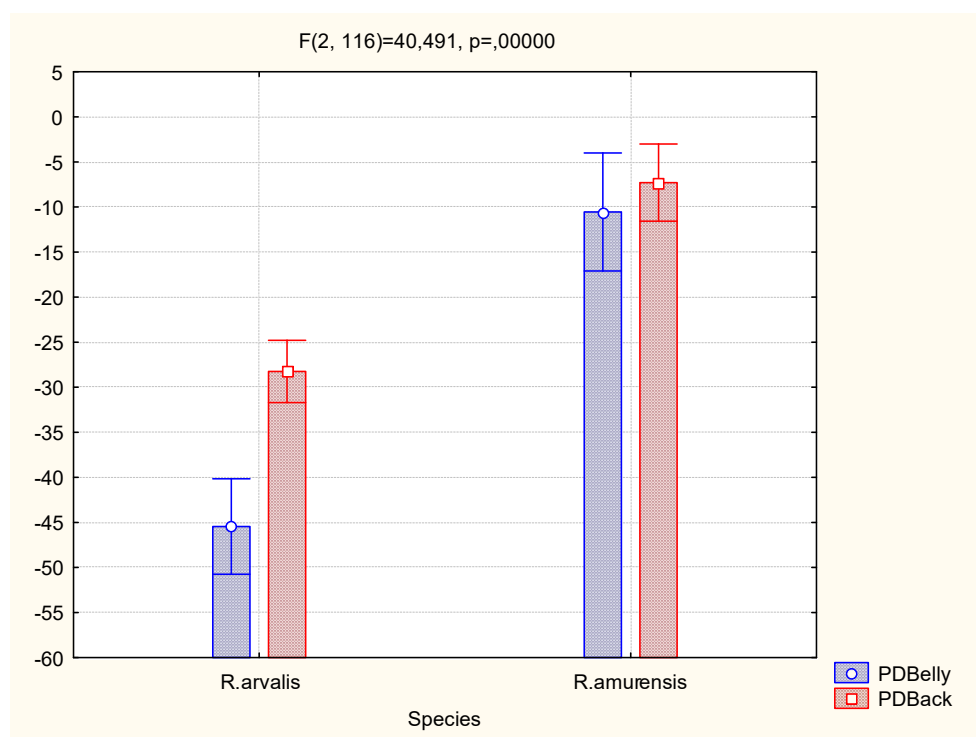


Рис. 1. Сравнение значений разности потенциалов (PD) *R. amurensis* и *R. arvalis*

Приведенные отличия физиологических характеристик кожи остромордой лягушки от сибирской, хорошо согласуются с экологической спецификой исследуемых видов. Отмечена высокая, сравнимая с сибирским углозубом, холодоустойчивость сибирской лягушки (Кузьмин, 2012), что также может отражаться на специфике трансэпителиальных токов. Остромордая лягушка – эвритопный экологически пластичный вид, не связанный в период зимовки с водоемами, в отличие от водозимующей сибирской лягушки (Кузьмин, 2012). Хорошо известен высокий полиморфизм *R. arvalis* и мономорфность стенотопной сибирской лягушки (Вершинин, 2001, 2008). Нередко за внешней стороной полиморфизма видов часто стоят глубокие физиологические различия (Гершензон, 1985). Возможно, специфика физиологических параметров кожного транспорта определяет узкий диапазон экологических предпочтений и лимитирует распространение *R. amurensis* границей восточного склона Уральских гор. Можно заключить, что сравнительно невысокий уровень эпителиального транспорта отражает стратегию *R. amurensis* –

экономного расходования ресурсов и энергии, результатом которого является стенотопность вида. *R. arvalis* обладает энергетически более затратным вариантом, обеспечивающим высокие значения PD и  $I_{sc}$ , свидетельствующие о высоких значениях активного кожного транспорта, обеспечивающего ее эвритопность.

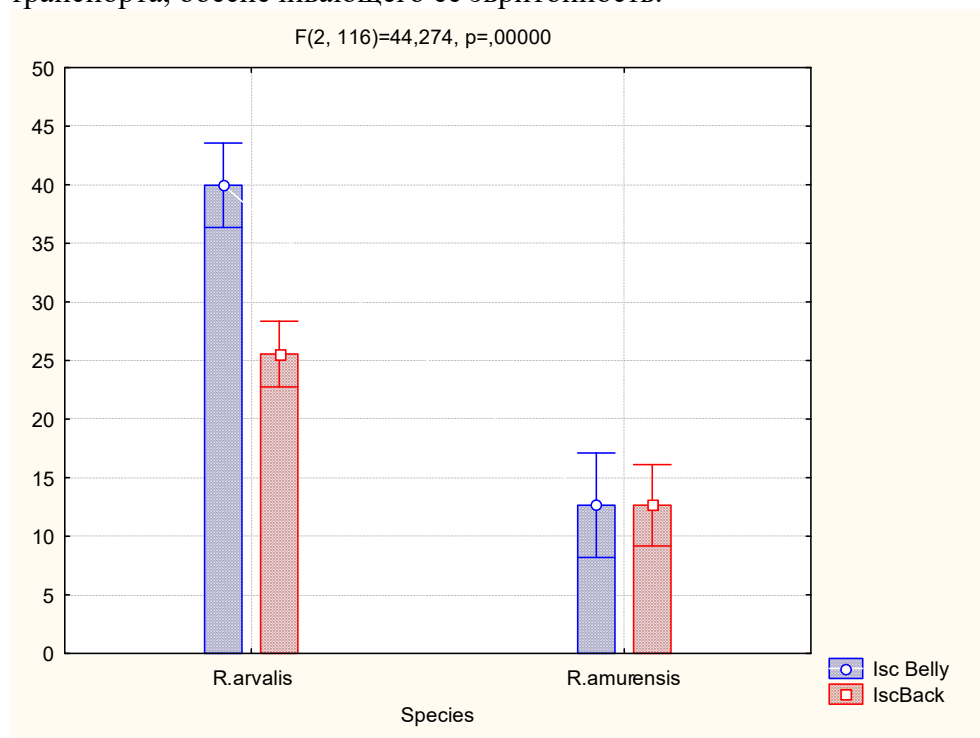


Рис. 2. Сравнение значений тока короткого замыкания (SCC) *R.amurensis* и *R.arvalis*

**Заключение.** У исследуемых видов установлены существенные межвидовые различия по изученным показателям трансмембранного транспорта кожи - "тока короткого замыкания" и разности потенциалов для вентрального и дорзального лоскутов.

Для остромордой лягушки выявлены достоверные различия по значениям разности потенциалов - PD и значений  $I_{sc}$  между дорсальным и вентральным лоскутом.

В целом, *R. amurensis* обладает крайне невысокими показателями активного и пассивного транспорта в сравнении с *R. arvalis*, что хорошо согласуется с элементами экологической стратегии видов - шириной экологических ниш и распространенностью в различных типах ландшафтов.

### Список литературы

- Вершинин В., Терешин С.* 1999. Физиологические показатели амфибий в экосистемах урбанизированных территорий // *Экология*. № 4. С. 283-287.
- Вершинин В.Л.* 2001. Адаптивные и микроэволюционные процессы в популяциях земноводных урбанизированных территорий // *Вопросы герпетологии: Матер. I Съезда герпетологического общества им. АМ Никольского. Пущино–М.: МГУ*. Т. 2. С. 56-57.
- Вершинин В.Л.* 2006. Значение рецессивных и доминантных мутаций в процессах адаптации рода *Rana* в современной биосфере // *Генетика*. Т. 42. № 7. С. 912-916.
- Вершинин В.* 2008. Морфа *Striata* у представителей рода *Rana* (Amphibia, Anura) – причины адаптивности к изменениям среды // *Журнал общей биологии*. 2008. Т. 69. № 1. С. 65-71.
- Гершензон М.С.* 1985. Микроэволюция, полиморфизм и доминантные мутации // *Природа*. № 4. С. 80-89.
- Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Мельницкая А.В., Ноздрачев А.В.* 2006. Роль актинового цитоскелета в регуляции фосфатидилинозитолкиназами транспорта  $Na^+$  в коже лягушки // *Доклады академии наук*. Т. 410. № 4. С. 568-570.
- Кузьмин С.Л.* 2012. Земноводные бывшего СССР. 2е изд., перераб. М.: Товарищество научных изданий КМК. 370 с.
- Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е.* 2006. Структурно-функциональная организация транспорта  $Na^+$  в эпителиальных системах. I. Эпителиальные  $Na^+$ -каналы // *Цитология*. Т. 48. № 10. С. 817-841.
- Мельницкая А. В., Крутецкая З. И.* 2015. Роль липоксигеназного пути окисления арахидоновой кислоты в регуляции глутоксимом транспорта  $Na^+$  в коже лягушки // *Международные индексы*. Т. 1. № 8. С. 128-131.
- Слоним А. Д.* 1971. Экологическая физиология животных. М.: Высшая школа. 448 с.
- Daly J.W., Myers C.W., Whittaker N.* 1987. Further classification of skin alkaloids from neotropical poison frogs (Dendrobatidae), with a general survey of toxic/noxious substances in the amphibia // *Toxicon*. V. 25. №10. P. 1023-1095.
- Flier J., Edwards M.W., Daly J.W., Myers C.W.* 1980. Widespread occurrence in frogs and toads of skin compounds interacting with the ouabain site of  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase // *Science*. V. 208. № 4443. P. 503-505.
- Harris R. N., Brucker R.M., Walke J. B., Becker M. H., Schwantes C. R., Flaherty D. C., Lam B. A., Woodhams D. C., Briggs C. J., Vredenburg V. T.* 2009. Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus // *The ISME journal*. V. 3. № 7. P. 818-824.
- Leaf A., Renshaw A.* 1957. Ion transport and respiration of isolated frog skin // *Biochemical Journal*. V. 65. № 1. P. 82.
- Lodi G., Andreone F., Dore B., Parainfo A., Usai P., Biciotti M.* 1993. Active ion transport and morphofunctional organization in the skin of the alpine newt,

*Triturus alpestris* during the life cycle // Italian Journal of Zoology. V. 60. № 2. P. 147-154.

Ussing H.H. 1949. The active ion transport through the isolated frog skin in the light of tracer studies // Acta physiologica Scandinavica. V. 17. № 1. P. 1-37.

## COMPARATIVE RESEARCH OF SKIN PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN *RANA AMURENSIS* AND *R. ARVALIS*

A.N.Gurvich<sup>1</sup>, V.L. Vershinin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ural Federal University, Yekaterinburg

<sup>2</sup>Institute of Plant and Animal Ecology RAS, Ural division. Yekaterinburg

Research of amphibian skin physiological parameters in Middle Urals using Ussing chamber system has not previously been conducted. Thus, the presented results are up-to-date and new. A comparative analysis of the certain parameters of the skin of the ventral and dorsal flap in *R. arvalis* and *R. amurensis* was performed, which allowed to establish the presence of significant differences in the values of the potential difference and the "short circuit current". The highest values of the studied parameters, indicating the most energy intensive option potassium-sodium pumps, were observed in *R. arvalis*, which is likely, ensuring high ecological plasticity and eurytopity of *R. arvalis*. The observed differences of skin parameters in moor and Siberian frogs are apparently related to the polymorphism of the former and the monomorphism of the latter species.

**Keywords:** *Rana arvalis*, moor frog, siberian frog, *Rana amurensis*, skin, Na<sup>+</sup> transport, Ussing chamber, short circuit current (SCC).

Об авторах:

ГУРВИЧ Андрей Николаевич – аспирант кафедры биоразнообразия и биоэкологии, Уральского Федерального Университета, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, д. 19, e-mail: pignifnif@yandex.ru.

ВЕРШИНИН Владимир Леонидович – доктор биологических наук, профессор кафедры биоразнообразия и биоэкологии, Уральского Федерального Университета, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, д. 19; заведующий лабораторией функциональной экологии наземных животных Института растений и животных УрО РАН, 620144, Екатеринбург, ул. 8 марта, д. 202, e-mail: vol\_de\_mar@list.ru.

Гурвич А.Н. Сравнение специфики физиологических показателей кожи сибирской (*Rana amurensis* Boulenger, 1886) и остромордой (*Rana arvalis* Nilsson, 1842) лягушек / А.Н. Гурвич, В.Л. Вершинин // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2019. № 3(55). С. 105-111.