

## **Половой диморфизм гистохимической активности фосфатаз кожных желез пашенной полевки**

*Киладзе Андрей Бондоевич*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН*

*к.т.н., старший научный сотрудник*

*Джемухадзе Наталья Константиновна*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН*

*к.б.н., старший научный сотрудник*

### **Аннотация**

Изучены особенности гистоэнзиматической активности кислой фосфатазы, щелочной фосфатазы и аденозинтрифосфатазы в специфических кожных железах самцов и самок пашенной полевки. Установлены признаки полового диморфизма по следующим параметрам гистохимической активности: по кислой фосфатазе – в эккриновых железах подошв лап в пользу самок; по щелочной фосфатазе и аденозинтрифосфатазе – в железах углов рта и анальной области в пользу самцов. В остальных случаях наблюдается половой паритет в ферментной активности кожных желез. Указано, что гистохимия ферментов может оказывать опосредованное физиологическое влияние на хемокоммуникацию между особями за счет активизации секреторной активности кожных желез. Практическое значение исследования заключается в изучении особенностей биологии вида, который может наносить определенный вред сельскому хозяйству.

**Ключевые слова:** пашенная полевка *Microtus agrestis*, гистохимия ферментов, кожные железы, половой диморфизм, хемокоммуникация, агропромышленный комплекс

## **Sexual dimorphism of histochemical phosphatases activity of skin glands of the field vole**

*Kiladze Andrey Bondoevich*

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences*

*Candidate of technical sciences, senior researcher*

*Dzhemukhadze Natal'ya Konstantinovna*

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences*

*Candidate of biological sciences, senior researcher*

### **Abstract**

The features of the histoenzymatic activity of acid phosphatase, alkaline phosphatase and adenosine triphosphatase in specific skin glands of males and females of the

field voles were studied. The signs of sexual dimorphism were established according to the following parameters of histochemical activity: according to acid phosphatase – in the eccrine glands of the soles of the feet in favor of females; by alkaline phosphatase and adenosine triphosphatase – in the glands of the corners of the mouth and the anal region in favor of males. In other cases, sexual parity is observed in the enzymatic activity of the skin glands. It is indicated that histochemistry of enzymes can have an indirect physiological effect on the chemical communication between individuals due to activation of the secretory activity of the skin glands. The practical significance of the research lies in the study of the features of the biology of the species, which can cause some harm to agriculture.

**Key words:** the field vole *Microtus agrestis*, enzyme histochemistry, skin glands, sexual dimorphism, chemical communication, agro-industrial complex

Пашенная полевка (синоним – темная полевка) (далее – ПП) представляет собой достаточно типичный вид, широко обитающий на территории России, при этом ареал этого палеарктического вида покрывает пространство от Западной Европы к востоку от России и до южной части Восточной Сибири, территориально примыкая к о. Байкал [1, 2].

Необходимо отметить присутствие ПП в Великобритании, а также в центральной и северной частях континентальной Европы. Зарегистрировано присутствие ПП на территории Португалии, Испании, Франции, Швейцарии, Италии, Словении, Хорватии, Боснии и Герцеговине, а также в Сербии. При этом она не встречается в Исландии, Ирландии и Южной Европе. ПП включена в Красный список Международного союза охраны природы (IUCN) с природоохранным статусом «Least Concern» [2].

ПП экологически привязана к опушкам, лесам, горным пустошам, болотам, торфяникам и берегам рек, предпочитая влажные и заболоченные районы [1, 2]. Заселяет ПП и антропогенные ландшафты, включая луга и поля, однако вид не обитает в местах, где происходит достаточно интенсивный выпас скота. Диета ПП в летний период отличается доминированием растительных кормов, включая травы и травянистые растения. В зимний период ПП предпочитает кормиться корой деревьев [2].

Таксономическая значимость морфологических признаков ПП подробно разобрана в классической сводке проф. С.И. Огнева (1950), который приводит сведения о внешнем виде и окраске волосяного покрова, строении черепа, зубной системы, половых органов и зоогеографии вида [3].

Практическое значение ПП возрастает в период пика численности, так как зверек истребляет сельскохозяйственные культуры, обгладывает кору садовых деревьев и лесных насаждений, поселяется и загрязняет стога сена и животноводческие постройки [2, 4]. Все это наносит ощутимый урон агропромышленному комплексу России и других стран. Кроме того, ПП является природным носителем возбудителей клещевого энцефалита и туляремии [4].




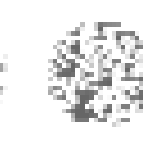

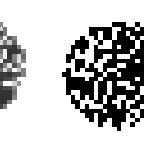






Вот почему исследование биологии ПП и особенно физиологических параметров вида, коррелирующих с репродуктивной функцией, крайне

актуально. Гистохимическая активность кожных желез тесным образом связана с маркировочным поведением, которое активизируется в период половой активности зверьков. В фундаментальной монографии В.Е. Соколова и О.Ф. Черновой (2001) приведены сведения о кожных железах углов рта, век, пахучих железах на затылке у детенышей, крестцовых железах у самцов, анальных желез и подошвенных эккриновых желез ПП [5]. Весь этот железистый комплекс кожи полевок вовлечен в хемокоммуникационные взаимоотношения между полами [6].

Цель работы – представить данные по гистохимической активности кожных желез обоих полов ПП с целью выявления уровня полового диморфизма, а также обсуждения роли активности фосфатаз в хемокоммуникации. Данная работа продолжает серию ранее выполненных исследований, посвященных гистохимической активности фосфатаз кожных желез в сравнительном ряду полевок подсемейства *Arvicolinae* [7].

*Материал и методы.* В качестве объекта исследования изучены специфические кожные железы (далее – СКЖ) пашенной полевки *Microtus agrestis* (Linnaeus 1761). Особи отловлены в Рязанской области Ю.М. Ковальской (ИПЭЭ РАН) и любезно предоставлены для исследования. Изучены шесть самцов и шесть самок. Все полевки примерно одного возраста и взяты в эксперимент для сравнительного анализа в весенне-летний период. Умерщвление особей осуществляли в соответствии с приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Исследовали три наиболее значимых топографических участка кожного покрова – СКЖ углов рта и анальной области, а также эккриновые железы подошв лап. Пробы кожи фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на холоде до 24 ч. Толщина замороженных «плавающих» срезов составила 15 мкм. Гистохимические реакции проводили по методикам Гомори [8] в собственных модификациях Н.К. Джемухадзе специально для СКЖ: на кислую фосфатазу (далее – КФ), щелочную фосфатазу (далее – ЩФ) и аденозинтрифосфатазу (далее – АТФаза), при соблюдении условий контроля – идентичной параллельной обработки материала и контрольных реакций без субстрата. Специально для изучения кожного покрова отработана экспозиция инкубации ( $t = 37^{\circ}\text{C}$ ) для каждой гистоэнзиматической реакции: на КФ с использованием ацетатного буфера (рН 5,0) – 2,0 ч; на ЩФ с использованием трис-буфера (рН 9,2) – 1,5 ч; на АТФазу с использованием трис-буфера (рН 7,2) – 2,0 ч [8, 9]. Изучение препаратов проводили с помощью микроскопа марки «Carl Zeiss» (Германия, фирма-изготовитель «VEB Carl Zeiss Jena»). Результат фиксировали на основе просмотра каждого среза, последовательно смещая поле зрения микроскопа, изучая по 5–10 желез из одной пробы от каждой особи. Для реализации квалитетического метода [10] необходимым условием является создание шкалы ферментной активности, поэтому проведено ранжирование активности ферментов СКЖ с цифровым представлением результатов (табл. 1).

Таблица 1 – Степень гистоэнзиматической активности в клетке, представленная в различных формах [6, 7, 11]

|  |   |   |   |  |   |   |
|--|---|---|---|--|---|---|
| Визуальная характеристика активности, отражающая долю осадка |  |  |  |  |  |  |
| Серая шкала, отражающая степень активности                   |  |  |  |  |  |  |
| Словесная характеристика активности                          | Следы или отсутствие активности   | Неотчетливая активность   | Низкая активность   | Умеренная активность   | Средняя активность  | Высокая активность  |
| Знаковая характеристика активности                           | «-»   | «-(+)»  | «+(-)»  | «+»  | «++»  | «+++»   |
| Цифровая характеристика активности, баллы                    | «0»   | «1»   | «2»   | «3»  | «4»   | «5»   |
| Относительная характеристика активности, %                   | 0   | 20  | 40  | 60   | 80  | 100   |

В современных зоологических исследованиях [12, 13] используют достаточно много вариантов расчета полового диморфизма, однако мы остановились на более простом с арифметической точки зрения методе, который предполагает следующий алгоритм определения индекса полового диморфизма:

(1) если параметр самок (F) доминирует над параметром самцов (M), то используют соотношение

$$\left(\frac{F}{M}\right) - 1;$$

(2) если параметр самцов (M) превосходит параметр самок (F), то применяют другой расчет, а именно:

$$-\left(\frac{M}{F}\right) + 1.$$

Полученные таким образом значения индексов являются симметричными по отношению к нулевому значению. Считают, что подобный расчет позволяет более корректно масштабировать межполовые различия [12, 13].

*Результаты и обсуждение.* Гистохимический профиль СКЖ ПП, основанный на полуколичественном анализе активности фосфатаз, приведен в таблице 2. На основе исходных данных была проведена оценка полового диморфизма между самцами и самками ПП по параметрам гистоэнзиматической активности СКЖ (табл. 2).

Таблица 2 – Гистоэнзиматическая активность специфических кожных желез самцов и самок пашенной полевки *M. agrestis*

| Кожные железы               | Стандартное обозначение активности в виде знаков |       | Квалиметрическое обозначение активности, баллы / % |         | Индекс полового диморфизма |
|-----------------------------|--|-------|--|---------|----------------------------|
|                             | Самцы  | Самки | Самцы  | Самки   |                            |
| <b>Кислая фосфатаза</b>     |  |       |  |         |                            |
| углов рта                   | +++  | +++   | 5 / 100  | 5 / 100 | 0                          |
| анальные                    | +++  | +++   | 5 / 100  | 5 / 100 | 0                          |
| экриновые                   | +(-)   | +     | 2 / 40   | 3 / 60  | 0,5                        |
| <b>Щелочная фосфатаза</b>   |  |       |  |         |                            |
| углов рта                   | ++   | +     | 4 / 80   | 3 / 60  | - 0,33                     |
| анальные                    | ++   | +     | 4 / 80   | 3 / 60  | - 0,33                     |
| экриновые                   | +++  | +++   | 5 / 100  | 5 / 100 | 0                          |
| <b>Аденозинтрифосфатаза</b> |  |       |  |         |                            |
| углов рта                   | ++   | +     | 4 / 80   | 3 / 60  | - 0,33                     |
| анальные                    | ++   | +     | 4 / 80   | 3 / 60  | - 0,33                     |
| экриновые                   | +++  | +++   | 5 / 100  | 5 / 100 | 0                          |

КФ в железах углов рта и в анальной области отличается максимальным уровнем гистохимической активности как у самцов, так и у самок, что отражает отсутствие полового диморфизма за счет равенства параметров. КФ в эккриновых железах подошв лап имеет сниженные параметры гистоэнзиматической активности у обоих полов, однако у самок регистрируется более высокие значения, чем у самцов. Значение индекса полового диморфизма в данном случае имеет положительное значение и составляет 0,5.

ЩФ в железах углов рта и в анальной области не достигает максимальных значений. Учитывая, что значения гистохимической активности самцов по двум топографическим участкам превышают аналогичные значения у самок, то значения индексов полового диморфизма, согласно методике, имеют отрицательные значения (- 0,33 и - 0,33). ЩФ в эккриновых железах подошв лап отличается максимальным значением активности у обоих полов, что предопределило отсутствие полового диморфизма.

АТФаза в железах углов рта и в анальной области отражает сходную тенденцию, выявленную для ЩФ: при средней активности у самцов и умеренной активности у самок показан аналогичный уровень полового диморфизма. АТФаза в эккриновых железах подошв лап отличается высокой

гистохимической активностью как у самцов, так и у самок, что указывает на половой паритет.

Особенности гистохимической активности кожных желез у ПП необходимо учитывать в рамках обсуждения полового поведения, так как секрет кожных желез представляет собой один из важнейших источников информационного поля особи, определяющим уровень активности отдельных индивидов, отличающихся видоспецифическим характером [6].

Современные этологические представления свидетельствуют о наличии достаточно убедительной концепции опосредованной хемокоммуникации, основанной на активности источников химических сигналов, продуцирующих специфические запаховые метки, оставляемые животными в пространстве [14].

В качестве ведущего источника хемокоммуникации выступают железы кожного покрова [5]. Так, на примере местообитания степного сурка *Marmota bobak* впервые установлены компоненты биологического сигнального поля [15]. В образцах почвы, взятых из троп и нор, выявлена смесь альдегидов, углеводов, спиртов и нитрилов, при этом источником информационного поля является именно секрет кожных желез степных сурков [15]. Необходимо отметить, что и в рамках морфологических исследований СКЖ степного сурка отмечается их роль в хемокоммуникации и социальном поведении, что позволяет трактовать особенности макро- и микростроения кожных желез в качестве таксономического признака [16].

Гистохимию ферментов целесообразно рассматривать в качестве опосредованной физиологической связи, благодаря которой биохимические реакции, происходящие на тканево-клеточном уровне кожных желез, ускоряются или тормозятся в зависимости от состояния особи и условий среды обитания, что является примером функциональной адаптации. В этой связи наше исследование является актуальным и значимым, так как активность ферментов и их гистохимическое выявление в кожных железах указывает на характер и степень секреторной активности желез, а также вовлеченность данного источника коммуникации в систему социального поведения животных.

Практическое значение полученных результатов целесообразно рассматривать в контексте важных физиологических параметров размножения ПП, численность которой в условиях антропогенных ландшафтов, имеющих сельскохозяйственное значение, должна находиться под контролем, обеспечивая возможное управление популяцией данного вида.

В заключение отметим, что приведенные особенности гистохимической активности кожных желез ПП, отражающие половой диморфизм, дополняют сведения о физиологии этого вида, имеющего не только широкое распространение, но и определенное воздействие на разнообразные агроценозы и агроэкосистемы.

Авторы выражают глубокую признательность д.б.н. О.Ф. Черновой (ИПЭЭ РАН) за научное редактирование рукописи статьи.

**Библиографический список**

1. Абрамсон Н.И., Лисовский А.А. Подсемейство Arvicolinae. – Павлинов И.Я., Лисовский А.А. (ред.): Млекопитающие России: систематико-географический справочник (Сборник трудов Зоологического музея МГУ. Т. 52). М.: Т-во научных изданий КМК, 2012. С. 220–276.
2. Kryštufek V., Vohralík V., Zima J., Zagorodnyuk I., 2016. *Microtus agrestis* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T13426A115112050. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T13426A22349665.en>. Downloaded on 01 April 2018.
3. Огнев С.И. Звери СССР и прилежащих стран. Грызуны. Т. VII. М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1950. С. 313–332.
4. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб.: ЗИН РАН, 1995. 239 с.
5. Соколов В.Е., Чернова О.Ф. Кожные железы млекопитающих. М.: ГЕОС, 2001. 648 с.
6. Киладзе А.Б., Джемухадзе Н.К. Гистоэнзиматическая модель хемокоммуникации полевок подсемейства Arvicolinae (на основе активности фосфатаз кожных желез). М.: РУСАЙНС, 2016. 134 с.
7. Джемухадзе Н.К., Киладзе А.Б. Гистохимия фосфатаз кожных желез в сравнительном ряду полевок подсемейства Arvicolinae. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing, 2014. 112 с.
8. Берстон М. Гистохимия ферментов. Пер. с англ. М.: Мир, 1965. 464 с.
9. Пирс Э. Гистохимия. Пер. с англ. М.: Издательство иностранной литературы, 1962. 962 с.
10. Азгальдов Г.Г., Костин В.В., Садовов В.В. Квалиметрия: первоначальные сведения. М.: Высшая школа, 2011. 143 с.
11. Киладзе А.Б., Джемухадзе Н.К. Квалиметрия в гистохимии ферментов (на примере кожных желез млекопитающих). М.: Инфра-Инженерия, 2013. 128 с.
12. Lovich J.E., Gibbons J.W. A review of techniques for quantifying sexual dimorphism // Growth, Development and Aging. 1992. V. 56. P. 269–281.
13. Taniguchi M., Lovich J.E., Mine K., Ueno S., Kamezaki N. Unusual population attributes of invasive red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*) in Japan: do they have a performance advantage? // Aquatic Invasions. 2017. V. 12 (1). P. 97–108.
14. Рожнов В.В. Опосредованная хемокоммуникация в социальном поведении млекопитающих. М.: Т-во научных изданий КМК, 2011. 288 с.
15. Ванисова Е.А., Горяинов С.В., Никольский А.А., Нифтуллаев Ф.Ю., Сорока О.В., Калабин Г.А. Химическая структура биологического сигнального поля степного сурка (*Marmota bobak*) // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2016. № 3. С. 16–25.

- 
16. Скурат Л.Н., Потапова Л.А. Сравнительная морфология специфических кожных желез степного сурка (*Marmota bobak*, Sciuridae, Rodentia) // Зоол. журн. 2015. Т. 94. № 5. С. 604–613.