

УДК 574.3.591

**НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ТКАНЯМИ
И ОРГАНАМИ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* (PALLAS, 1771)
И *PELOPHYLAX LESSONAE* (CAMERANO, 1882) (AMPHIBIA: RANIDAE),
ОБИТАЮЩИХ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ г. НИЖНЕГО НОВГОРОДА**

Е. Б. Романова, Е. С. Рябина, А. В. Боряков

*Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского
Россия, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23
E-mail: romanova@ibbm.unn.ru*

Поступила в редакцию 15.03.2020 г., после доработки 19.05.2020 г., принята 14.06.2020 г.

*Романова Е. Б., Рябина Е. С., Боряков А. В. Накопление тяжелых металлов тканями и органами *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) и *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) (Amphibia: Ranidae), обитающих в водных объектах г. Нижнего Новгорода // Поволжский экологический журнал. 2020. № 3. С. 336 – 352. DOI: <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2020-3-336-352>*

Атомно эмиссионным методом проведено комплексное исследование и сравнительная оценка содержания и распределения тяжелых металлов (Mn, Cu, Cr, Al, Fe, Zn, Sr) в органах и тканях (мышцы, кожа, кости, гонады, печень, сердце, селезенка, кровь) озёрных и прудовых лягушек, собранных в озерах крупного промышленного города (г. Нижний Новгород). В высоких концентрациях тяжелые металлы обнаружены в селезенке (хром), костях (цинк, стронций), печени (медь) озёрных лягушек. У прудовых лягушек высокие коэффициенты биологического поглощения тяжелых металлов выявлены для марганца, стронция, цинка (костная ткань), железа (печень, селезенка), меди (сердце). Кумулятивные свойства тяжелых металлов определяли по установленным коэффициентам накопления (K_n). Видовые закономерности накопления тяжелых металлов из воды представлены по убыванию в виде следующих рядов: прудовые лягушки: $Zn > Cr > Al > Cu > Fe > Sr > Mn$; озёрные лягушки: $Fe > Zn > Mn > Cu > Cr > Al > Sr$. Приоритетное поступление хрома, марганца, алюминия и стронция из водной среды в организм происходило через кожу. Активное накопление цинка происходило преимущественно через пищу, что подтверждалось высокими значениями коэффициента биологического поглощения цинка для печени прудовых и озёрных лягушек. Методом регрессионного анализа установлена зависимость накопления тяжелых металлов в мышцах от органов и тканей, контактирующих с водной внешней средой (кожа) и пищеварительной системой (печень). Важнейшей адаптацией бесхвостых амфибий к существованию в условиях высокого загрязнения является их способность не допускать чрезмерного накопления тяжелых металлов в организме. Полученные результаты свидетельствовали о высокой степени аккумуляции тяжелых металлов в организме бесхвостых амфибий, определяемой условиями водной среды и биодоступностью металлов.

Ключевые слова: озёрная лягушка, прудовая лягушка, биоиндикация, тяжелые металлы.

DOI: <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2020-3-336-352>

ВВЕДЕНИЕ

Водные объекты Нижнего Новгорода – крупного промышленного центра европейской части России характеризуются интенсивной антропогенной нагрузкой, проявляющейся, прежде всего, в увеличении степени загрязнения химическими соединениями техногенного происхождения (Гелашвили и др., 2008). Среди загрязняющих веществ по масштабам загрязнения и воздействию на живые организмы особое место занимают тяжелые металлы, имеющие плотность более 5 г/см³ или атомную массу более 50 единиц (Гелашвили и др., 2016). Ряд металлов (Mn, Ni, Cu, Cr, Co, V, Zn, Fe) относится к числу эссенциальных (жизненно необходимых), индивидуальная потребность в них невелика. Однако высокая аккумуляция этих элементов в организме приводит к тяжелым нарушениям метаболизма и развитию патологий (Гелашвили и др., 2016). В городских водных объектах амфибии являются хищными животными, занимают верхние трофические уровни (консументы 2-3 порядка) и часто являются последним звеном в аккумуляции тяжелых металлов. Появляется все больше работ, посвященных использованию бесхвостых амфибий в качестве индикаторов накопления токсичных микроэлементов (кадмия, свинца, ртути) (Зарипова и др., 2009; Северцова и др., 2013; Комов и др., 2017; Banks et al., 2007 и др.). Представители бесхвостых амфибий озерная – *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) и прудовая – *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) лягушки не покидают водоемов, ведут околотовидный и придонный образ жизни, накапливают тяжелые металлы диффузно через кожу, при дыхании и алиментарным путем – с водными объектами питания (Комов и др., 2017; Berzins, Bundy, 2002). Известно, что в условиях повышенного содержания тяжелых металлов у амфибий отмечены изменение сроков развития, аномалии, преждевременная гибель (Blaustein et al., 2003; Crawshaw, 2003; Sparling et al., 2006; Jepson, 2011; Lanctot et al., 2016), изменение уровня метаболизма (Rowe et al., 1998, 2001; Jayawardena et al., 2017), поведенческие реакции (Wright et al., 2005), нарушение работы эндокринной и иммунной систем (Blaustein, Kiesecker, 2002). Показано, что в органах озёрных лягушек из водоемов хвостохранилищ в зоне поступления сточных вод предприятий уранодобывающей промышленности в высоких концентрациях содержатся ионы урана, свинца, кадмия, железа, марганца, меди и цинка (Мисюра и др., 2004). Тем не менее, в настоящее время крайне мало информации о способности тяжелых металлов к биоконцентрированию и передаче по трофическим цепям, также фрагментарны данные о содержании и распределении металлов в организме близкородственных видов, имеющих различную биотопическую приуроченность.

Цель статьи – аутэкологическое исследование накопления и распределения тяжелых металлов (Cr, Mn, Fe, Cu, Al, Zn, Sr) в органах и тканях озёрных (*P. ridibundus*) и прудовых (*P. lessonae*) лягушек, обитающих в озерах заречной части г. Нижнего Новгорода.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом работы служили сборы озёрных лягушек (9 особей), обитающих в оз. Силикатное (г. Н. Новгород, Сормовский район), (координаты: 56.370912° с.ш., 43.777608° в.д.) и прудовых лягушек (10 особей), обитающих в оз. Вторчермет

(г. Н. Новгород, Канавинский район) (координаты: 56.311944° с.ш., 43.848889° в.д.). Оба водоема расположены в заречной части г. Нижнего Новгорода. Озеро Вторчермет создано искусственно на месте переувлажненного понижения, бессточное. Притоки в озеро отсутствуют. Вблизи озера расположены крупные жилые массивы, прилегающая территория водоохранной зоны характеризуется высокой рекреационной нагрузкой (Гелашвили и др., 2008). Озеро Силикатное имеет искусственное происхождение, образовалось на месте карьера по добыче песка для расположенного рядом завода крупнопанельного домостроения (ЗКПД). Озеро является частью аквасистемы по стоку воды с торфяных болот в р. Волгу.

Видовая идентификация лягушек проводилась по внешним общепринятым при определении зеленых лягушек морфологическим признакам: сочленение голеностопного сустава, форма внутреннего пяточного бугра и цвет резонаторов у самцов (Банников и др., 1977).

Тяжелые металлы (Al, Mn, Sr, Cu, Cr, Fe, Zn) определяли атомно-эмиссионным методом с помощью AES-ICP-спектрометра Prodigy High Dispersion ICP (Teledyne Leeman Labs, США), использовалось оборудование ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н. И. Лобачевского), в тканях и органах объектов исследования, а также пробах воды, отобранных в прибрежной зоне водных объектов. Обездвиженных лягушек умерщвляли методом декапитации для взятия образцов органов и тканей: кожи, мышц, костей, селезенки, печени, сердца, крови, гонад. При подготовке проб для анализа использовали микроволновую систему пробоподготовки МС-6. Правильность определения металлов контролировалась периодическим анализом стандартных образцов, а возможное загрязнение проб в ходе анализа – регулярным определением холостых проб.

По результатам анализа рассчитывали коэффициент биологического поглощения (КБП) тяжелых металлов как отношение концентрации металла в тканях и органах к их содержанию в воде (Перельман, 1982) и коэффициент накопления (K_n) как отношение валового содержания металла в организме (мг/кг) к его концентрации в воде (мг/л) (Методические указания..., 2009). Согласно классификации К. К. Врончинского, В. Н. Маковского (1979) оценивали степень накопления тяжелых металлов: слабая – $K_n \leq 50$; умеренная – $51 \leq K_n \leq 200$; высокая – $201 \leq K_n \leq 1000$; сверхвысокая – $K_n > 1000$.

Статистический анализ проводили с помощью стандартных пакетов Microsoft Excel и Statistica 10.1 непараметрическими методами. Различие между независимыми группами оценивали критерием Краскела – Уоллиса (H), медианным тестом (χ^2), критерием Данна (D). При описании взаимосвязи показателей использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ). Анализ зависимости накопления тяжелых металлов в органах проводили методом регрессионного анализа. За критический уровень значимости принимали $\alpha = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результат гидрохимического анализа водных объектов выявил превышение норматива качества воды для водоемов рыбохозяйственного назначения (ПДК_{рыб-хоз})

по содержанию тяжелых металлов (Нормативы качества воды..., 2010). Данный норматив качества воды был выбран нами как наиболее жесткий из существующей нормативно-технической документации. В водных пробах оз. Силикатное с доминированием озёрных лягушек выявлено превышение ПДК по меди (8.7 ПДК) и цинку (1.5 ПДК). Содержание других тяжелых металлов (Fe, Mn, Cr, Al, Sr) не превышало значение ПДК для водоемов рыбохозяйственного назначения. Воды оз. Вторчермет, где доминировали прудовые лягушки, отличались более высоким уровнем загрязнения тяжелыми металлами. Установлено превышение ПДК по железу (3.25 ПДК), марганцу (112.6 ПДК), меди (19 ПДК), цинку (1.5 ПДК), стронцию (1.585 ПДК).

Установлена разная аккумуляция тяжелых металлов в тканях и органах прудовых и озёрных лягушек. Печень, как известно, связана с метаболизмом железа в организме и является органом его естественного депонирования. Клетками, аккумулирующими соединения железа, являются меланинсодержащие макрофаги печени или клетки Купфера (Barni et al., 2002). У прудовых лягушек содержание железа в печени в несколько раз превышало концентрацию в костях, гонадах, мышцах, сердце ($H = 39.46, p < 0.001$). Так, концентрация железа в печени превышала его накопление в сердце в 60.85 раза ($D = 4.31, p < 0.001$), в мышцах – в 15.18 раза ($D = 3.92, p = 0.002$), в гонадах – в 13.38 раза ($D = 3.16, p = 0.043$), в костях – в 9.83 раза ($D = 3.29, p = 0.027$). Высокое содержание железа в селезенке, печени (прудовые лягушки), а также в крови, печени, сердце (озёрные лягушки) могло быть обусловлено участием этого металла в молекулах гемоглобина, цитохромов и др., необходимых для обеспечения процессов энергетического обмена и кроветворения (рис. 1).

В условиях более высокого загрязнения водного объекта тяжелыми металлами у прудовых лягушек алюминий предпочтительно накапливался в селезенке, где его концентрация, по сравнению с другими изученными тканями, была максимальной (медиана 27.98 мг/кг, интерквартильный размах 15.67 мкг/кг). Хром имел высокий КБП и обнаруживался в сопоставимых концентрациях ($H = 12.04, p = 0.09$) во всех исследованных органах и тканях. Марганец в тканях и органах прудовых лягушек накапливался в слабой степени, за исключением сердечной мышцы (медиана 73.42 мг/кг, интерквартильный размах 35.74 мкг/кг), где его содержание соответствовало КБП = 65.20. Цинк содержался во всех органах, в большей степени накапливаясь в костях (медиана 138.24 мг/кг, интерквартильный размах 57.11 мкг/кг) и коже (медиана 112.97 мг/кг, интерквартильный размах

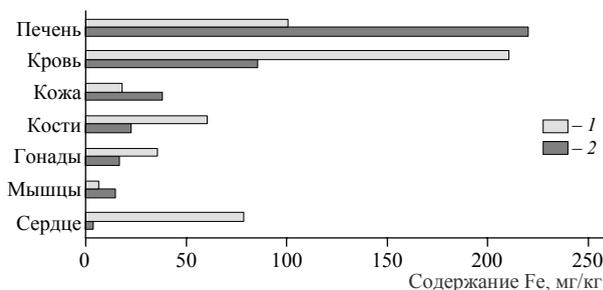


Рис. 1. Содержание железа в тканях и органах озёрных (1) и прудовых (2) лягушек
Fig. 1. Iron content in the tissues and organs of *P. ridibundus* (1) and *P. lessonae* (2)

81.19 мкг/кг). Аккумуляция стронция в организме прудовых лягушек была избирательной, в основном металл локализовался в костях, где его валовое содержание (медиана 126.51 мг/кг, интерквартильный размах 54.62 мкг/кг) было максимальным по сравнению с другими тканями и органами ($H = 45.58, p < 0.001$).

Озёрные лягушки характеризовались высоким значением коэффициента для хрома, цинка, марганца и меди в печени, сердце и гонадах. В ретикулярной ткани

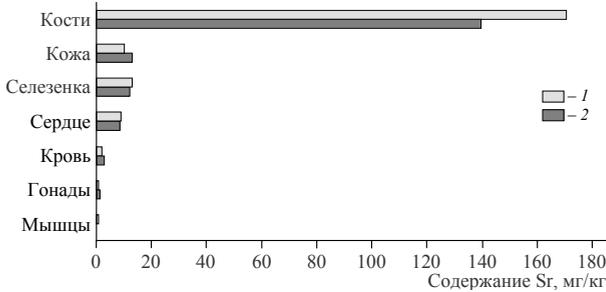


Рис. 2. Содержание стронция в органах и тканях озёрных (1) и прудовых (2) лягушек

Fig. 2. Strontium content in the organs and tissues of *P. ridibundus* (1) and *P. lessonae* (2)

У обоих видов амфибий медь накапливалась в более высоких концентрациях в гемопоэтических тканях, выполняющих функции кровообращения (сердце, печень, селезенка). Напротив, в составе опорно-двигательной системы медь содержалась в невысоких концентрациях (рис. 3).

Непараметрическим критерием Краскела – Уоллиса и медианным тестом показаны межвидовые различия по поглощению и распределению тяжелых металлов в тканях и органах озерных и прудовых лягушек. В организме прудовых лягушек выявлено более высокое валовое содержание хрома (медиана 8.93 мг/кг, интерквартильный размах 3.97 мг/кг) по сравнению с озерными лягушками (медиана

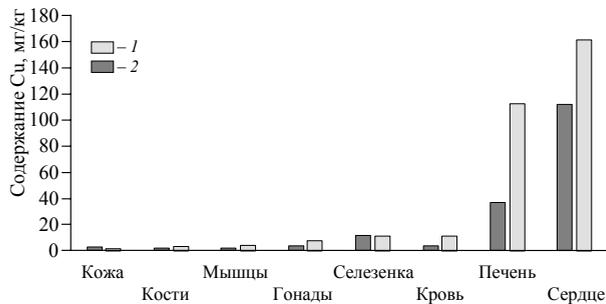


Рис. 3. Содержание меди в органах и тканях озёрных (1) и прудовых (2) лягушек

Fig. 3. Copper content in the organs and tissues of *P. ridibundus* (1) and *P. lessonae* (2)

селезенки в высоких концентрациях содержались металлы: хром, марганец, медь, цинк, алюминий. Высокие значения КБП в крови озёрных лягушек установлены для железа, алюминия, цинка, меди; в мышцах – для железа, цинка и алюминия. Динамика накопления меди, стронция (рис. 2), цинка органами и тканями озёрных лягушек в целом была схожей с прудовыми лягушками.

3.52 мг/кг, интерквартильный размах 12.26 мг/кг) ($\chi^2 = 6.69, p = 0.009; H = 4.94, p = 0.02$). Зависимости между уровнем аккумуляции хрома в организме и его содержанием в водной среде не обнаружено, поскольку концентрация хрома в водных объектах была сопоставимой (0.005 – 0.007 мг/л) и не превышала значение ПДК_{рыб-хоз.} Выявленное различие в количестве хрома

НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ТКАНЯМИ И ОРГАНАМИ *PELOPHYLAX*

в организме биотопически различающихся близкородственных видов может быть объяснено разной интенсивностью обменных процессов и характером питания. В отношении валового содержания других тяжелых металлов в организмах прудовых и озерных лягушек значимых различий между видами не выявлено. Отметим, что в водоеме повышенного загрязнения (оз. Вторчермет) у прудовых лягушек отмечено уменьшение значения коэффициентов накопления (K_n), рассчитанных по валовому содержанию концентрации металлов в организме, относительно приоритетных загрязнителей водной среды: марганца, меди, железа, стронция. Это свидетельствует о способности бесхвостых амфибий не допускать чрезмерного накопления микроэлементов в организме, что является адаптацией к существованию в экстремальных гидрохимических условиях среды.

Выраженные различия между прудовыми и озерными лягушками установлены в распределении тяжелых металлов в тканях и органах. В организме прудовых лягушек распределение металлов по органам и тканям было неравномерным. Количество значимо различающихся сравниваемых пар органов внутри выборки прудовых (17 пар) было существенно больше (табл. 1), чем у озерных (6 пар) лягушек (табл. 2). Совпадающих между видами пар было три: марганец (мышцы – кости); медь (печень – мышцы); стронций (печень – кости), подтверждающие высокое накопление в организме бесхвостых амфибий в костной ткани – Mn и Sr, в печени – Cu.

Таблица 1. Результаты сравнения содержания тяжелых металлов в органах и тканях прудовых лягушек

Table 1. Results of comparison of heavy metal content in the organs and tissues of *P. lessonae*

Металл	Сравниваемые пары органов	Критерий Данна, D	Уровень значимости, p
Марганец	Кровь – кости	3.83	0.01
	Мышцы – кости	4.23	0.0027
	Сердце – мышцы	3.88	0.01
Медь	Кости – сердце	4.26	0.002
	Кости – печень	3.83	0.01
	Сердце – мышцы	4.63	0.0004
	Печень – мышцы	4.21	0.003
Цинк	Кожа – кровь	4.24	0.002
	Кости – кровь	4.23	0.0027
	Сердце – кожа	4.11	0.004
	Сердце – кости	4.11	0.004
Стронций	Кости – гонады	4.01	0.007
	Печень – кожа	3.87	0.012
	Печень – кости	5.17	<0.001
	Мышцы – кожа	3.87	0.012
	Мышцы – кости	5.17	<0.001
Алюминий	Селезенка – кровь	3.71	0.025
Железо	Печень – кости	3.59	0.03
	Печень – сердце	4.61	0.0004
	Селезенка – сердце	4.45	0.0008
	Мышцы – печень	4.19	0.003
	Мышцы – селезенка	4.04	0.005

Таблица 2. Результаты сравнения содержания тяжелых металлов в органах и тканях озёрных лягушек

Table 2. Results of comparison of heavy metal content in the organs and tissues of *P. ridibundus*

Металл	Сравниваемые пары органов	Критерий Данна, <i>D</i>	Уровень значимости, <i>p</i>
Марганец	Мышцы – кости	3.74	0.02
Медь	Кожа – печень	3.67	0.02
	Печень – мышцы	3.95	0.009
Хром	Мышцы – селезенка	3.63	0.03
Цинк	Мышцы – кости	4.14	0.004
Стронций	Печень – кости	3.94	0.009
	Мышцы – кости	3.59	0.039

Количественное содержание марганца в костной ткани значительно превышало его концентрацию в мышцах у обоих видов амфибий. Содержание тяжелых металлов в организме бесхвостых амфибий можно представить в виде ранжированных рядов.

Видовые особенности установлены по содержанию марганца, меди, цинка и стронция в органах и тканях бесхвостых амфибий (табл. 3).

Таблица 3. Результаты сравнения содержания тяжелых металлов в органах и тканях разных видов лягушек

Table 3. Results of comparing the heavy metal contents in the organs and tissues between different from species

Металл	Сравниваемые органы		Критерий Данна, <i>D</i>	Уровень значимости, <i>p</i>
	<i>P. lessonae</i>	<i>P. ridibundus</i>		
Марганец	Мышцы	Кости	3.62	0.03
	Кости	Мышцы	4.27	0.002
	Сердце	Мышцы	3.96	0.009
Медь	Сердце	Кожа	3.69	0.02
	Кости	Печень	4.15	0.003
	Сердце	Мышцы	4.00	0.007
	Печень	Мышцы	3.61	0.03
	Мышцы	Печень	4.49	0.0008
Цинк	Кровь	Кости	3.60	0.037
	Кожа	Мышцы	4.75	0.0002
	Кости	Мышцы	4.75	0.0002
Стронций	Кости	Печень	4.40	0.001
	Печень	Кости	4.46	0.0009
	Кости	Мышцы	4.06	0.005
	Мышцы	Кости	4.46	0.0009
Железо	Печень	Мышцы	4.38	0.001
	Селезенка	Мышцы	4.24	0.002

Прудовые лягушки. Для Mn: сердце, кости > кожа, гонады > печень > кровь, селезенка, мышцы. Для Cu: сердце, печень > селезенка > гонады, кровь, кожа > > мышцы, кости. Для Zn: кости, кожа > печень, селезенка > мышцы, гонады, кровь,

сердце. Для Sr: кости > кожа, сердце, селезенка > кровь > печень, мышцы, гонады. Для Fe: печень, селезенка > кровь > кожа, кости, мышцы, гонады.

Озёрные лягушки. Для Mn: селезенка, кости > кожа > печень > кровь, сердце, гонады, мышцы. Для Cu: печень > кровь > сердце, селезенка, гонады > кожа, кости, мышцы. Для Zn: кости > кожа, селезенка, гонады, сердце > печень > > кровь > мышцы. Для Sr: кости > кожа, сердце, селезенка > кровь > печень, мышцы, гонады. Для Fe: кровь, печень > сердце, кости > гонады, кожа, мышцы.

Кумулятивные свойства тяжелых металлов были определены по установленным коэффициентам накопления (K_n). Видовые закономерности накопления тяжелых металлов из воды представлены по убыванию в виде следующих рядов: прудовые лягушки: Zn, Cr > Al > Cu, Fe > Sr, Mn (рис. 4); озерные лягушки: Fe, Zn > Mn, Cu, Cr, Al > Sr (рис. 5).

Высокую степень накопления в организме прудовых лягушек имели цинк и хром. Алюминий характеризовался высокой степенью накопления, медь и железо умеренной; стронций и марганец – слабой степенью кумуляции. Для озерных лягушек выявлена высокая степень накопления в организме железа и цинка. Марганец, медь, хром и алюминий характеризовались высокой степенью накопления, стронций – слабой степенью кумуляции. Высокие коэффициенты накопления обусловлены, по всей видимости, содержанием в исследованных водных объектах в биодоступной форме цинка, железа, меди (гидрокарбонатные формы, гидроксокомплексы), хрома (хромат анионы), марганца (серно-кислые, хлористые и азотно-кислые соли). Выявленные межвидовые различия могут быть связаны с особенностями сред обитания близкородственных видов, с присутствием в их рационе пи-

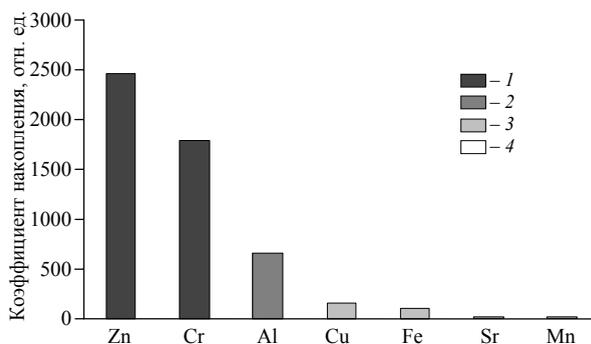


Рис. 4. Аккумуляция тяжелых металлов в организме прудовых лягушек: 1 – сверхвысокая, 2 – высокая, 3 – умеренная, 4 – слабая

Fig. 4. Heavy metal accumulation in the body of *P. lessonae*: 1 – ultrahigh, 2 – high, 3 – moderate, 4 – weak

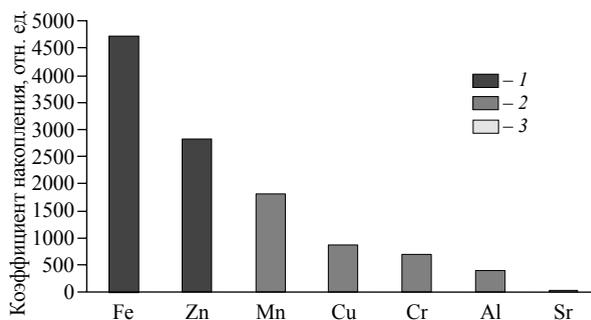


Рис. 5. Аккумуляция тяжелых металлов в организме озерных лягушек: 1 – сверхвысокая, 2 – высокая, 3 – слабая

Fig. 5. Heavy metal accumulation in the body of *P. ridibundus*: 1 – ultrahigh, 2 – high, 3 – weak

тания наземных объектов (Файзулин и др., 2013), с разной интенсивностью метаболизма.

Из литературы известно, что, попадая в организм, металлы практически не подвергаются каким-либо существенным превращениям, включаются в биохимический цикл и крайне медленно покидают его (Лобанова, 2008; Моисеенко, 2008; Kaszog-Kami et al., 2020). Находясь в тканях и органах в виде комплекса с белками, аминокислотами и другими биологически активными соединениями, металлы способны вызывать нарушение функций, отравление или гибель организма. Степень токсического воздействия зависит от природы металла, концентрации и комплексобразующей способности. Концентрированные растворы солей металлов, обладая вяжуще-прижигающим действием, нарушают функции органов дыхания. В слабых разведениях, проникая в организм, они нарушают проницаемость биологических мембран, снижают содержание растворимых протеинов, связываются с сульфгидрильными и аминогруппами белков и вызывают тем самым угнетение активности ферментов.

В ряде работ показан высокий уровень адаптации озерных лягушек к техногенному загрязнению, обусловленному поступлением в водные объекты тяжелых металлов с отходами предприятий металлургической, машиностроительной, горнодобывающей и уранодобывающей промышленности (Мисюра и др., 2004, 2007, 2008). Анализ реакций метаболизма показал, что выживанию амфибий в этих условиях способствует изменение уровня белково-липидного и углеводного обмена. В органах и тканях озерных лягушек установлено увеличение количества белков и отдельных фракций липидов (фосфолипидов и холестерина), увеличение содержания в печени ферментов микросомальной фракции (в том числе цитохрома P₄₅₀), обеспечивающих функции детоксикации организма в условиях загрязнения (Ковалев, Сергеев, 1972; Мисюра и др., 2004). Изменения метаболизма сопровождались и увеличением индекса органов (печени, селезенки, почек, легких и сердца), что свидетельствовало об интенсификации их деятельности при воздействии различного типа токсикантов (Марченковская, 2005).

С учетом разных путей поступления тяжелых металлов в организм бесхвостых амфибий представлялось интересным проследить взаимосвязь между накоплением тяжелых металлов в органах от их содержания в других тканях. Методом регрессионного анализа установлена зависимость накопления тяжелых металлов в мышцах от органов, контактирующих с водной внешней средой (кожей) и пищеварительной системой (печенью) (табл. 4).

Приоритетное поступление хрома, марганца, алюминия и стронция происходило из водной среды через кожу (перкутанный путь). Активное накопление цинка происходило преимущественно через желудочно-кишечный тракт (энтеральный путь), что подтверждалось высокими значениями КБП цинка для печени прудовых (КБП = 2724.4) и озерных (КБП = 2268.18) лягушек. Уравнение регрессии для стронция показывает, что чем больше металла поступает через кожу, тем выше его концентрация в печени. Установленные у бесхвостых амфибий невысокие значения КБП стронция печенью свидетельствуют о его активном выведении из организма. По всей видимости, тяжелые металлы, содержащиеся в белковых объектах

НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ТКАНЯМИ И ОРГАНАМИ *PELOPHYLAX*

питания и водной среде бесхвостых амфибий, накапливались в печени, и за счет активности ферментов детоксикации микросом печени осуществлялось общее снижение содержания металлов в организме, их перераспределение между тканями и органами или выведение.

Таблица 4. Зависимость накопления тяжелых металлов в коже амфибий от других органов
Table 4. Dependence of heavy metal accumulation in the amphibian skin on those in other organs

Металл	Уравнение регрессии	ρ	R^2	p
Хром	$y = 0.6096 + 0.6513x$ (кожа – мышцы)	0.87	0.75	0.0025
Марганец	$y = 10.44 + 3.1352x$ (кожа – кости)	0.85	0.73	0.0007
Цинк	$y = 24.94 + 0.3952x$ (мышцы – печень)	0.61	0.37	0.034
Алюминий	$y = 0.722 + 0.9136x$ (кожа – мышцы)	0.71	0.50	0.0096
Стронций	$y = 0.0049 + 0.0333x$ (кожа – печень)	0.71	0.50	0.014

Примечание. ρ – коэффициент корреляции; R^2 – коэффициент детерминации; p – достигнутый уровень значимости.

Note. ρ is the correlation coefficient; R^2 is the coefficient of determination; p is the achieved level of significance.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поступая в водоемы, тяжелые металлы включаются в круговорот веществ и подвергаются различным превращениям. В зависимости от условий среды (рН, окислительно-восстановительного потенциала, наличия лигандов) ионы металлов существуют в разных степенях окисления, входят в состав разнообразных неорганических соединений, образуют металлорганические комплексы, адсорбируются донными осадками. Токсическое действие большинства тяжелых металлов на организм обусловлено их ионами. Тяжелые металлы обладают способностью к кумуляции, которая проявляется или в постепенном накоплении в организме ионов металлов (прямая или материальная кумуляция) и передаче в возрастающих количествах по трофической цепи, или в суммировании их вредного влияния (функциональная кумуляция).

Полученные данные дополняют известные сведения о влиянии абиотических факторов на содержание тяжелых металлов в организме классических зооиндикаторов и существенно расширяют представления о приоритетных путях поступления, распределения и аккумуляции металлов органами бесхвостых амфибий. Важнейшей адаптацией бесхвостых амфибий к существованию в условиях высокого загрязнения является их способность не допускать чрезмерного накопления тяжелых металлов в организме. Результаты исследования вносят вклад в изучение путей миграции тяжелых металлов в экосистемах и могут быть использованы при проведении биоиндикационных исследований экологического мониторинга окружающей среды.

Выражаем искреннюю благодарность директору Научно-исследовательского института химии при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н. И. Лобачевского доктору химических наук, профессору Евгению Владимировичу Сулейманову за благоприятную рабочую обстановку.

ку, поддержку и возможность выполнения работы с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ЦКП «НМИРТ»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Банников А. Г., Даревский И. С., Ищенко В. Г., Рустамов А. К., Щербак Н. Н. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР. М. : Просвещение, 1977. 414 с.

Врончинский К. К., Маковский В. Н. Применение пестицидов и охрана окружающей среды. Киев : Вища школа, 1979. 208 с.

Гелашивили Д. Б., Охапкин А. Г., Доронина А. И. Экологическое состояние водных объектов Нижнего Новгорода / под ред. Д. Б. Гелашивили. Н. Новгород : Изд-во Нижегород. гос. ун-та, 2008. 414 с.

Гелашивили Д. Б., Безель В. С., Романова Е. Б., Безруков М. Е., Силкин А. А., Нижегородцев А. А. Принципы и методы экологической токсикологии / под ред. Д. Б. Гелашивили. Н. Новгород : Изд-во Нижегород. гос. ун-та, 2016. 702 с.

Зарилова Ф. Ф., Файзулин А. И., Юмагулова Г. Р. Содержание тяжелых металлов в печени озерной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 Башкирского Зауралья // Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2009. № 6. С. 145 – 146.

Ковалев И. Е., Сергеев П. В. Введение в иммунофармакологию. Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1972. 143 с.

Комов В. Т., Иванова Е. С., Гремячих В. А., Лапкина Л. Н., Козлова Л. В., Желток Е. Н., Киркина А. М., Кудряшова Д. Э., Щедрова Е. В., Селезнев Д. Г. Содержание ртути в организме амфибий и пиявок водоемов Вологодской и Ярославской областей и экспериментальное подтверждение вызываемых ею биологических последствий // Тр. Ин-та биологии внутренних вод РАН. 2017. Вып. 77. С. 57 – 76.

Лобанова Т. М. Особенности накопления тяжелых металлов промысловыми видами рыб // Вестн. Костром. гос. ун-та им. Н. А. Некрасова. 2008. Т. 14, № 1. С. 18 – 21.

Марченковская А. А. Влияние урбанизации на морфофизиологические показатели некоторых видов земноводных // Экология фундаментальная и прикладная. Проблемы урбанизации : материалы междунар. науч.-практ. конф. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2005. С. 215 – 217.

Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (утв. приказом № 695 Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г.) / Федеральное агентство по рыболовству. М., 2009. 158 с.

Мисюра А. Н., Марченковская А. А., Сподарец Д. А. Сравнительная характеристика содержания биогенных элементов в органах и тканях озерной лягушки из водоемов в местах поступления отходов уранодобывающей промышленности и Днепропетровско-Орельского заповедника // Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2004. № 4. С. 62 – 63.

Мисюра А. Н., Сподарец Д. А., Марченковская А. А. Оценка механизмов устойчивости отдельных видов земноводных к дестабилизирующим факторам среды обитания // Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем : материалы VIII междунар. науч. экол. конф. Белгород : ИПЦ Политерра, 2004. С. 132 – 133.

Мисюра А. Н., Чернышенко С. В., Марченковская А. А., Залуха И. Н. Использование бесхвостых амфибий в системе биомониторинга для оценки влияния отходов предприятий по переработке урановой руды на зооценоз // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. 2007. Т. 15, № 1. С. 102 – 106.

Мисюра А. Н., Марченковская О. О., Чернышенко С. В. Характеристика показателей накопления микроэлементов в организме амфибий из биотопов, находящихся под влиянием

НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ТКАНЯМИ И ОРГАНАМИ *PELOPHYLAX*

отходов предприятий разных видов промышленности // Праці Українського герпетологічного товариства. 2008. № 1. С. 47 – 54.

Моисеенко Т. И. Водная токсикология : теоретические принципы и практическое предложение // Водные ресурсы. 2008. Т. 35, № 5. С. 554 – 565.

Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (утв. приказом № 20 Федерального агентства по рыболовству от 18 января 2010 г.) / Федеральное агентство по рыболовству. М., 2010. 217 с.

Перельман В. И. Краткий справочник химика / под ред. Б. В. Некрасова. М. : Машиностроение, 1982. 384 с.

Северцова Е. А., Никифорова А. И., Агильон Гутьеррес Д. Р. Спектрохимический и гистохимический анализ тканей головастика травяной лягушки и серой жабы, развивающихся в условиях имитации загрязнения свинцом и железом // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2013. № 4. С. 27 – 32.

Файзулин А. И., Чихляев И. В., Кузовенко А. Е. Амфибии Самарской области. Тольятти : Кассандра, 2013. 140 с.

Banks M. S., Crocker J., Connery B., Amirbahman A. Mercury Bioaccumulation In Green Frog (*Rana clamitans*) and Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Tadpoles from Acadia National Park, Maine, USA // Environmental Toxicology and Chemistry. 2007. Vol. 26, iss. 1. P. 118 – 125.

Barni S., Bertone V., Fraschini A., Bernini F., Fenoglio C. Mechanisms of Changes to the Liver Pigmentary Component During the Annual Cycle (Activity and Hibernation) of *Rana esculenta* L. // J. Anatomy. 2002. Vol. 200, iss. 2. P. 185 – 194.

Berzins D. W., Bundy K. J. Bioaccumulation of Lead in *Xenopus laevis* Tadpoles from Water and Sediment // Environment International. 2002. Vol. 28, № 1 – 2. P. 69 – 77.

Blaustein A. R., Romanic J. M., Kiesecker J. M., Yatch A. C. Ultraviolet Radiation, Toxic Chemicals and Amphibian Population Declines // Diversity and Distributions. 2003. Vol. 9, № 2. P. 123 – 140.

Blaustein A. R., Kiesecker J. M. Complexity in Conservation : Lessons from the Global Decline of Amphibian Populations // Ecology Letters. 2002. Vol. 5, iss. 4. P. 597 – 608.

Crawshaw G. Anurans (Anura, Salienta): Frogs, Toads // Zoo and Wild Animal Medicine / eds. M. E. Fowler, R. E. Miller. Saint Louis : Saunders, 2003. 782 p.

Jayawardena U. A., Angunawela P., Wickramasinghe D. D., Ratnasooriya W. D., Udagama P. V. Heavy Metal-induced Toxicity in the Indian Green Frog : Biochemical and Histopathological Alterations // Environmental Toxicology and Chemistry. 2017 Vol. 36, iss. 10. P. 2855 – 2867.

Jepson L. Medicina de Animal Exóticos. Philadelphia : Elsevier, 2011. 592 p.

Kaczor-Kami M., Sura P., Wrobel M. Multidirectional Changes in Parameters Related to Sulfur Metabolism in Frog Tissues Exposed to Heavy Metal-Related Stress // Biomolecules. 2020. Vol. 10, iss. 4. P. 574.

Lanctot C., Bennett W., Wilson S., Fabbro L., Leusch F. D. L., Melvin S. D. Behaviour, Development and Metal Accumulation in Striped Marsh Frog Tadpoles (*Limnodynastes peronii*) Exposed to Coal Mine Wastewater // Aquatic Toxicology. 2016. Vol. 173. P. 218 – 227.

Rowe C. L., Kinney O. M., Nagle R. D., Congdon J. D. Elevated Maintenance Costs in an Anuran (*Rana catesbeiana*) Exposed to a Mixture of Trace Elements During the Embryonic and Early Larval Periods // Physiological Zoology. 1998. Vol. 71, № 3. P. 27 – 35.

Rowe C. L., Hopkins W. A., Coffman V. R. Failed Recruitment of Southern Toads (*Bufo terrestris*) in a Trace Element-Contaminated Breeding Habitat : Direct and Indirect Effects that may Lead to a Local Population Sink // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2001. Vol. 40, iss. 3. P. 399 – 405.

Е. Б. Романова, Е. С. Рябина, А. В. Боряков

Sparling D. W., Krest S., Ortiz-Santaliestra M. Effects of Lead-Contaminated Sediment on *Rana sphenocephala* Tadpoles // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2006. Vol. 51, iss. 3. P. 458 – 466.

Wright K. M., Valls Badia X. Anfibios // Atlas de Medicina, Terapéutica y Patología de Animals Exóticos / eds. R. Aguilar, S. M. Hernandez-Divers, S. J. Hernandez-Divers. Buenos Aires : Intermedica, 2005. 480 p.

**Heavy Metal Accumulation in the Tissues and Organs
of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) and *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882)
(Amphibia: Ranidae) Living in the Waterbodies of Nizhniy Novgorod**

Elena B. Romanova, <https://orcid.org/0000-0002-1925-7864>; romanova@ibbm.unn.ru

Elena S. Ryabinina, <https://orcid.org/0000-0001-5544-2912>; ryabinina.e.s@yandex.ru

Aleksey V. Boryakov, <https://orcid.org/0000-0002-8674-531>; albrv@mail.ru

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod
23 Gagarin Avenue, Nizhni Novgorod 603950, Russia

Received 15 March 2020, revised 19 May 2020, accepted 14 June 2020

Romanova E. B., Ryabinina E. S., Boryakov A. V. Heavy Metal Accumulation in the Tissues and Organs of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) and *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) (Amphibia: Ranidae) Living in the Waterbodies of Nizhniy Novgorod. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2020, no. 3, pp. 336–352 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2020-3-336-352>

A comprehensive atomic-emission study and comparative assessment were done of the content and distribution of heavy metals (Mn, Cu, Cr, Al, Fe, Zn, and Sr) in the organs and tissues (muscles, skin, bones, gonads, liver, heart, spleen, and blood) of marsh and pool frogs collected in the lakes of a big industrial city (Nizhni Novgorod). High concentrations of heavy metals were found in the spleen (Cr), bones (Zn and Sr), liver (Cu) of lake frogs. High coefficients of the biological absorption of Mn, Sr, Zn (bone tissue), Fe (liver, spleen), and Cu (heart) were found in pool frogs. The cumulative properties of heavy metals were estimated from the accumulation coefficient established. Species regularities of heavy metal accumulation from water are presented in descending order as the following series: Zn > Cr > Al > Cu > Fe > Sr > Mn for pool frogs; and Fe > Zn > Mn > Cu > Cr > Al > Sr for marsh frogs. The priority intake of chromium, manganese, aluminum and strontium from the aqueous medium into the body occurred through the skin. Active zinc accumulation occurred mainly through food, which was confirmed by high values of the biological absorption coefficient of zinc for the liver of *Pelophylax ridibundus* and *Pelophylax lessonae*. The dependence of the heavy metal accumulation in the muscles from the organs in contact with the external environment (skin) and the digestive system (liver) was established by regression analysis. The most important adaptation of tailless amphibians is their ability to prevent excessive accumulation of heavy metals in their body, while living in the conditions of increased environmental pollution. Our results obtained speak for the high accumulation of heavy metals in the body of tailless amphibians, determined by the conditions of the aquatic environment and the bioavailability of these metals.

Keywords: *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax lessonae*, bioindication, heavy metals.

DOI: <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2020-3-336-352>

REFERENCES

- Bannikov A. G., Darevsky I. S., Ishchenko V. G., Rustamov A. K., Szczerbak N. N. *Opredelitel zemnovodnykh i presmykayushchikhsya fauny SSSR* [A Guide of Amphibians and Reptiles of Fauna of USSR]. Moscow, Prosveshchenie Publ., 1977. 414 p. (in Russian).
- Vronchinsky K. K., Makovsky V. N. *Primenenie pesticidov i okhrana okruzhaiushchei sredy* [Application of Pesticides and Environmental Protection]. Kiev, Vishcha shkola Publ., 1979. 208 p. (in Russian).
- Gelashvili D. B., Okhapkin A. G., Doronina A. I. *Ekologicheskoe sostoianie vodnykh ob'ektov Nizhnego Novgoroda* / pod red. D. B. Gelashvili [D. B. Gelashvili, ed. The Environmental Status of Water Bodies in Nizhny Novgorod]. Nizhni Novgorod, Izdatel'stvo Nizhegorodskogo gosudarstvennogo universiteta, 2008. 414 p. (in Russian).
- Gelashvili D. B., Bezel V. S., Romanova E. B., Bezrukov M. E., Silkin A. A., Nizhegorodtsev A. A. *Printsipy i metody ekologicheskoi toksikologii* [D. B. Gelashvili, ed. Principles and Methods of Ecological Toxicology]. Nizhni Novgorod, Izdatel'stvo Nizhegorodskogo gosudarstvennogo universiteta, 2016. 702 p. (in Russian).
- Zaripova F. F., Faizulin A. I., Yumagulova G. R. The Content of Heavy Metals in the Liver of the Marsh Frog *Rana ridibunda* Pallas, 1771 of the Bashkir Trans-Urals. *Vestnik of the Orenburg State University*, 2009, no. 6, pp. 145–146 (in Russian).
- Kovalev I. E., Sergeev P. V. *Vvedenie v immunofarmakologiiu* [Introduction to Immunopharmacology]. Kazan, Izdatel'stvo Kazanskogo universiteta, 1972. 143 p. (in Russian).
- Komov V. T., Ivanova E. S., Gremyachikh V. A., Lapkina L. N., Kozlova L. V., Zheletok E. N., Kirkina A. M., Kudryashova D. E., Schedrova E. V., Seleznev D. G. The Mercury Content in the Organism of Amphibians and Leeches from Waterbodies of Vologda and Yaroslavl Oblasts and Experimental Verification of Its Biological Consequences. *Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS*, 2017, iss. 77, pp. 57–76 (in Russian).
- Lobanova T. M. Features of the Accumulation of Heavy Metals by Commercial Fish Species. *Vestnik Kostromskogo gosudarstvennogo universiteta im. N. A. Nekrasova*, 2008, vol. 14, no. 1, pp. 18–21 (in Russian).
- Marchenkovskaya A. A. The Influence of Urbanization on the Morphophysiological Parameters of Some Types of Terrestrial Water. In: *Ekologiya fundamental'naya i prikladnaya. Problemy urbanizatsii: materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii* [Fundamental and Applied Ecology. The Problems of Urbanization: Materials of the International Scientific-Practical Conference]. Ekaterinburg, Izdatel'stvo Ural'skogo universiteta, 2005, pp. 215–217 (in Russian).
- Metodicheskie ukazaniia po razrabotke normativov kachestva vody vodnykh ob'ektov rybokhoziaistvennogo znachenii, v tom chisle normativov predel'no dopustimyykh kontsentratsii vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh ob'ektov rybokhoziaistvennogo znachenii (utv. prikazom № 695 Federal'nogo agentstva po rybolovstvu ot 4 avgusta 2009 g.)* [Guidelines for the Development of Water Quality Standards for Water Bodies of Fishery Importance, Including Standards for Maximum Permissible Concentrations of Harmful Substances]. Moscow, Federal'noe agentstvo po rybolovstvu Publ., 2009. 158 p. (in Russian).
- Misyura A. N., Marchenkovskaya A. A., Spodarets D. A. Comparative Characteristics of the Content of Biogenic Elements in the Organs and Tissues of the Marsh Frog from Water Bodies in the Places Where Wastes from the Uranium Mining Industry and the Dnepropetrovsk Reserve are Received. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2004, no. 4, pp. 62–63 (in Russian).
- Misyura A. N., Spodarec D. A., Marchenkovskaya A. A. Assessment of the Mechanisms of Resistance of Certain Amphibian Species to Destabilizing Factors of the Environment. *Aktual'nye problemy sohraneniya ustojchivosti zhivyyh sistem: materialy VIII mezhdunarodnoj nauchnoj ekologicheskoy konferencii* [The Problems of Actual of Maintaining the Stability of Living Systems:

Materials of the VIII International Scientific Environmental Conference]. Belgorod, IPTs Politerra Publ., 2004, pp. 132–133 (in Russian).

Misyura A. N., Chernyshenko S.V., Marchenkovskaya A. A., Zalipukha I. N. The Use of Tailless Amphibians in the Biomonitoring System to Assess the Impact of Waste from Uranium ore Processing Enterprises on the Zoocenosis. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology. Ecology*, 2007, vol. 15, no. 1, pp. 102–106 (in Russian).

Misyura A. N., Marchenkovskaya O. O., Chernyshenko S. V. Characteristics of Indicators of Accumulation of Microelements in the Body of Amphibians from Biotopes Under the Influence of Wastes from Enterprises of Various Types of Industry. *Proceeding of the Ukrainian Herpetological Society*, 2008, no. 1, pp. 47–54 (in Russian).

Moiseenko T. I. Aquatic Ecotoxicology: Theoretical Principles and Practical Application. *Water Resources*, 2008, vol. 35, no. 5, pp. 530–541.

Normativy kachestva vody vodnykh ob'ektov rybnokhoziaistvennogo znachenii, v tom chisle normativy predel'no dopustimyykh kontsentratsii vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh ob'ektov rybnokhoziaistvennogo znachenii (utv. prikazom № 20 Federal'nogo agentstva po rybolovstvu ot 18 ianvaria 2010 g.) [Water Quality Standards for Fishery Water Bodies, Including Maximum Permissible Concentrations of Harmful Substances in Fishery Water Bodies (Approved by Order of the Federal Agency for Fisheries of January 18, 2010 No. 20)]. Moscow, Federal'noe agentstvo po rybolovstvu Publ., 2010. 217 p. (in Russian).

Perelman V. I. *Kratkii spravochnik khimika*. Pod red. B. V. Nekrasova [B. V. Nekrasov, ed. Short Reference Chemist]. Moscow, Mashinostroenie Publ., 1982. 384 p. (in Russian).

Severtsova E. A., Nikiforova A. I., Aguillon Gutierrez D. R. Spectrochemical and Histochemical Analysis of Tadpole Grass Frog and Gray Toad Tissues Developing Under Conditions of Imitation of Lead and Iron Pollution. *Vestnik Moskovskogo universiteta, Biology*, 2013, no. 4, pp. 27–32 (in Russian).

Fayzulin A. I., Chikhlyayev I. V., Kuzovenko A. E. *Amfibii Samarskoi oblasti* [Amphibians of the Samara Region]. Togliatti, Cassandra Publ., 2013. 140 p. (in Russian).

Banks M. S., Crocker J., Connery B., Amirbahman A. Mercury Bioaccumulation In Green Frog (*Rana clamitans*) and Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Tadpoles from Acadia National Park, Maine, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2007, vol. 26, iss. 1, pp. 118–125.

Barni S., Bertone V., Fraschini A., Bernini F., Fenoglio C. Mechanisms of Changes to the Liver Pigmentary Component During the Annual Cycle (Activity and Hibernation) of *Rana esculenta* L. *J. Anatomy*, 2002, vol. 200, iss. 2, pp. 185–194.

Berzins D. W., Bundy K. J. Bioaccumulation of Lead in *Xenopus laevis* Tadpoles from Water and Sediment. *Environment International*, 2002, vol. 28, no. 1–2, pp. 69–77.

Blaustein A. R., Romanic J. M., Kiesecker J. M., Yatch A. C. Ultraviolet Radiation, Toxic Chemicals and Amphibian Population Declines. *Diversity and Distributions*, 2003, vol. 9, no. 2, pp. 123–140.

Blaustein A. R., Kiesecker J. M. Complexity in Conservation: Lessons from the Global Decline of Amphibian Populations. *Ecology Letters*, 2002, vol. 5, iss. 4, pp. 597–608.

Crawshaw G. Anurans (Anura, Salientia): Frogs, Toads. In: M. E. Fowler, R. E. Miller, eds. *Zoo and Wild Animal Medicine*. Saint Louis, Saunders, 2003. 782 p.

Jayawardena U. A., Angunawela P., Wickramasinghe D. D., Ratnasooriya W. D., Udagama P. V. Heavy Metal-induced Toxicity in the Indian Green Frog: Biochemical and Histopathological Alterations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2017, vol. 36, iss. 10, pp. 2855–2867.

Jepson L. *Medicina de Animal Exóticos*. Philadelphia, Elsevier, 2011. 592 p.

Kaczor-Kami M., Sura P., Wrobel M. Multidirectional Changes in Parameters Related to Sulfur Metabolism in Frog Tissues Exposed to Heavy Metal-Related Stress. *Biomolecules*, 2020, vol. 10, iss. 4, pp. 574.

Lanctot C., Bennett W., Wilson S., Fabbro L., Leusch F. D. L., Melvin S. D. Behaviour, Development and Metal Accumulation in Striped Marsh Frog Tadpoles (*Limnodynastes peronii*) Exposed to Coal Mine Wastewater. *Aquatic Toxicology*, 2016, vol. 173, pp. 218–227.

Rowe C. L., Kinney O. M., Nagle R. D., Congdon J. D. Elevated Maintenance Costs in an Anuran (*Rana catesbeiana*) Exposed to a Mixture of Trace Elements During the Embryonic and Early Larval Periods. *Physiological Zoology*, 1998, vol. 71, no. 3, pp. 27–35.

Rowe C. L., Hopkins W. A., Coffman V. R. Failed Recruitment of Southern Toads (*Bufo terrestris*) in a Trace Element-Contaminated Breeding habitat: Direct and Indirect Effects that may Lead to a Local Population Sink. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2001, vol. 40, iss. 3, pp. 399–405.

Sparling D. W., Krest S., Ortiz-Santaliestra M. Effects of Lead-Contaminated Sediment on *Rana sphenocephala* Tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2006, vol. 51, iss. 3, pp. 458–466.

Wright K. M., Valls Badia X. Anfíbios. In: R. Aguilar, S. M. Hernandez-Divers, S. J. Hernandez-Divers, eds. *Atlas de Medicina, Terapéutica y Patología de Animales Exóticos*. Buenos Aires, Intermedica, 2005. 480 p.