

СХОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛОДОВИТОСТИ *PELOBATES FUSCUS* (LAURENTI, 1768) МЕТОДАМИ ПОЛНОГО И ЧАСТИЧНОГО ПОДСЧЁТА ЯИЦ

М. В. Ермохин¹, В. Г. Табачишин², Г. А. Иванов¹

¹ Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского
Россия, 410012, Саратов, Астраханская, 83
E-mail: ecoton@rambler.ru

² Саратовский филиал Института проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
Россия, 410028, Саратов, Рабочая, 24
E-mail: tabachishinvg@sevin.ru

Поступила в редакцию 02.05.2014 г.

Оценено качество результатов определения плодовитости самок *Pelobates fuscus* методом частичного подсчёта яиц в яйчниках. Обнаружен высокий уровень сходимости выборочных результатов с контрольными, полученными при полном поштучном подсчёте яиц. Отклонение этих результатов от контрольных составляют в среднем не более 1.6 – 2.59%. Достижение такого уровня сходимости возможно при использовании сухого веса половых продуктов. Достаточный объем пробы яиц из яйчников самок – от 25 до 250 шт. Предлагаемая методика позволяет существенно снизить исследовательское усилие при сохранении приемлемого для экологических исследований уровня точности результатов. Данная методика применима только для бесхвостых амфибий с компактным по времени нерестовым периодом (explosive breeders), откладывающих кладку целиком. В то же время она не может быть использована для определения плодовитости видов амфибий с порционным нерестом.

Ключевые слова: бесхвостые амфибии, *Pelobates fuscus*, плодовитость, точность результатов.

ВВЕДЕНИЕ

Плодовитость самок бесхвостых амфибий – один из ключевых параметров, позволяющих прогнозировать состояние и перспективы их популяций. Общепринятый методический подход к её определению основан на полном подсчете числа яиц в кладке, уже отложенной в нерестовом водоёме. Такой метод считается наиболее щадящим с точки зрения сохранения популяции и, пожалуй, именно он применим к редким или исчезающим видам бесхвостых амфибий, или к видам с низкой или нестабильной численностью популяций в конкретном регионе. В то же время такой подход делает неизбежным существенное снижение качества получаемой информации об этом параметре, поскольку отложенная в водоёме кладка подвергается влиянию ряда внешних и внутренних факторов, приводящих к искажению ее количественных характеристик. Например, в условиях природной экосистемы практически невозможно исключить влияние хищников, питающихся икрой амфибий (рыбы, личинки насекомых и т.д.). Кроме того, трудно обеспечить определение истинного времени откладки и оплодотворения и, как следствие, стандартизацию получаемых результатов

из-за быстрого начала дробления оплодотворенных яиц и определенных затрат питательных веществ на процессы эмбриогенеза. Перечисленные факторы, очевидно, могут быть дополнительным и трудно учитываемым источником дисперсии исходных данных.

Второй широко применяемый метод определения плодовитости основан на полном подсчете числа яиц, готовых к откладке, непосредственно у самок, мигрирующих в нерестовые водоёмы. Он применим только к массовым видам, у которых изъятие небольшой выборки не влияет на общую численность популяции, что особенно важно при проведении многолетних исследований. Оба этих методических подхода требуют больших исследовательских усилий и временных затрат.

В последнее время ряд исследователей применяют так называемый объемный метод (Ляпков и др., 2001, 2002; Корзинов, Ручин, 2013 и др.), основанный на подсчете числа яиц во фрагменте кладки бесхвостых амфибий стандартного объема с последующим пропорциональным расчетом числа яиц во всей кладке. Однако данный метод подвергается обоснованной критике (Ishchenko, 2003), поскольку

полученные параметры не имеют значимой корреляции с сухим весом тела, а следовательно, не могут быть применены для оценки репродуктивного усилия. Очевидно, что введение любого выборочного метода, на основе применения которого будут сформулированы суждения о числе яиц в кладке бесхвостых амфибий в целом (генеральной совокупности), должно сопровождаться детальным анализом отклонения расчетных параметров от контрольных, т.е. оценкой их сходимости.

Цель данной работы – количественно оценить уровень точности определения плодовитости самок бесхвостых амфибий методом подсчета выборки яиц на примере чесночницы обыкновенной (*Pelobates fuscus*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Самки *P. fuscus*, использованные для определения плодовитости, были отловлены в период нерестовых миграций в апреле 2014 г. Отлов производили методом линейных заборчиков с ловчими цилиндрами (Корн, 2003; Ермохин, Табачишин, 2011 а; Gibbons, Semlitsch, 1981), установленными вокруг трёх нерестовых водоёмов в долине р. Медведица (между населёнными пунктами Урицкое и Атаевка, Лысогорский район, Саратовская обл.): озёра «Садок» (51°21'31" с.ш., 44°48'11" в.д.), «Кругленькое» (51°21'55" с.ш., 44°49'58" в.д.) и «Черепашье» (51°21'50" с. ш., 44°49'03" в. д.). Самок для исследования ($N = 32$ экз.) отбирали из выборки большего размера рандомизированно с использованием генератора случайных чисел (алгоритм ANSI, реализованный в пакете программ Attestat 12.5). Полученная таким способом исследуемая выборка включала половозрелых самок различных размерно-весовых категорий, характерных для рассматриваемых популяций. Соблюдение данного требования к свойствам выборки обусловлено установленной ранее зависимостью плодовитости самок *P. fuscus* от их размерно-весовых параметров (Ермохин, Табачишин, 2011 б).

Для определения плодовитости извлекали яичники, в которых полностью подсчитывали количество яиц. Данный показатель принимали за контрольное значение (N_k , шт.), а затем сопоставляли с расчетным значением, полученным на основании значений среднего сухого веса яиц в пробах определенного объема, извлеченных из яичников ($N_{расч}$, шт.). Пробы для получения расчетных значений числа яиц в кладке отбирали, последовательно разделяя массу яиц на фраг-

менты, увеличивающиеся по числу яиц: 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 и 450 яиц (до полного исчерпания). Отдельно подсчитывали число яиц в остатке, не укладывающемся в данную схему.

Полученные пробы высушивали до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 90 °С. Взвешивание производили на электронных весах с точностью до 0.01 мг. Средний сухой вес одного яйца устанавливали как отношение веса пробы к числу яиц в ней, а число яиц в кладке – как отношение сухого веса всей массы яиц в яичниках к сухому весу одного яйца.

В качестве меры сходимости $N_{расч}$ и N_k использовали относительную погрешность расчета (δ_N , %), которую определяли по формуле:

$$\delta_n = \frac{N_{расч} - N_k}{N_k} \cdot 100,$$

где $N_{расч}$ – расчетное значение числа яиц в кладке; N_k – число яиц в кладке, полученное путем их полного подсчета (контрольное).

Для каждого варианта объема выборки отдельно определяли среднюю относительную погрешность (значения параметра брали без учёта знака), а также – ее минимальное (δ_{min}) и максимальное (δ_{max}) значение (с учётом знака). Нормальность распределения оценивали по критерию Колмогорова – Смирнова (во всех выборках гипотеза о нормальности не отклоняется), равенство дисперсий – по F -критерию Фишера (дисперсии не равны). Исходя из этих свойств выборочных совокупностей, различия между средними арифметическими оценивали по t -критерию Саттерзвайта (Орлов, 2004). Различия считали значимыми при $P < 0.05$. Статистическую обработку материала производили в пакетах программ PAST 2.17 (Hammer et al., 2001) и Attestat 12.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проанализированная выборка самок *P. fuscus* включает весь диапазон размерно-возрастных групп половозрелых особей, принимающих участие в размножении. Средняя длина тела исследованных особей (SVL) составляет 45.7 ± 4.1 мм ($37.8 - 55.1$ мм), а живой вес – 12.2 ± 3.0 г ($7.4 - 19.2$ г). Данные показатели и размах их варьирования не имеют существенных отличий от таковых в исследованных популяциях. Число яиц в яичниках самок (N_k) варьировало от 400 до 1989 шт. (в среднем 1051 ± 369 шт.).

В результате проведенного исследования установлено, что в целом сухой вес яйца состав-

ляет в среднем 0.96 мг; этот показатель варьирует в диапазоне от 0.95 до 0.99 мг при увеличении объема выборки яиц (таблица). Наименьшая от-

шем объеме пробы (около 1.5%) (см. таблицу), максимальное (около 2.5%) – при наибольшем объеме проб. Вероятной причиной отклонения

Характеристика сходимости результатов расчётного и контрольного сухого веса яйца и числа яиц в яичниках (плодовитости) самок *P. fuscus*

Объем пробы яиц, шт.	Число самок, N , экз.	Сухой вес яйца			Отклонение расчётного числа яиц в кладке от контрольного	
		В пробе, мг	Отклонение расчётного значения от контрольного			
				абсолютное, мг	относительное, %	абсолютное, шт.
25	32	$\frac{0.95 \pm 0.15^*}{0.70 - 1.32}$	$\frac{0.02 \pm 0.01^{**}}{-0.03 - 0.04}$	$\frac{1.46 \pm 1.14^{**}}{-2.66 - 4.76}$	$\frac{15 \pm 12^{**}}{-52 - 33}$	$\frac{1.55 \pm 1.11^{**}}{-4.54 - 2.74}$
50	32	$\frac{0.96 \pm 0.16}{0.67 - 1.31}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.04 - 0.04}$	$\frac{1.89 \pm 1.05}{-3.99 - 3.71}$	$\frac{20 \pm 15}{-45 - 66}$	$\frac{1.84 \pm 1.07}{-3.58 - 4.16}$
75	32	$\frac{0.96 \pm 0.16}{0.64 - 1.31}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.03 - 0.04}$	$\frac{1.80 \pm 1.11}{-3.60 - 3.78}$	$\frac{20 \pm 16}{-45 - 74}$	$\frac{1.84 \pm 1.08}{-3.76 - 3.74}$
100	32	$\frac{0.96 \pm 0.16}{0.68 - 1.30}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.03 - 0.04}$	$\frac{1.79 \pm 1.11}{-3.18 - 4.18}$	$\frac{20 \pm 15}{-58 - 38}$	$\frac{1.98 \pm 1.13}{-4.08 - 2.93}$
150	31	$\frac{0.95 \pm 0.15}{0.66 - 1.29}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.04 - 0.03}$	$\frac{1.69 \pm 1.15}{-4.36 - 3.44}$	$\frac{20 \pm 18}{-39 - 78}$	$\frac{1.74 \pm 1.11}{-3.32 - 4.56}$
200	29	$\frac{0.96 \pm 0.16}{0.65 - 1.29}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.04 - 0.04}$	$\frac{1.82 \pm 1.24}{-4.14 - 3.54}$	$\frac{21 \pm 19}{-42 - 71}$	$\frac{1.80 \pm 1.29}{-3.42 - 4.32}$
250	21	$\frac{0.96 \pm 0.12}{0.73 - 1.16}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.04 - 0.04}$	$\frac{1.96 \pm 1.34}{-3.56 - 3.78}$	$\frac{25 \pm 17}{-44 - 52}$	$\frac{1.87 \pm 1.14}{-3.64 - 3.62}$
300	16	$\frac{0.99 \pm 0.14}{0.73 - 1.32}$	$\frac{0.02 \pm 0.01}{-0.03 - 0.04}$	$\frac{2.44 \pm 1.19}{-3.46 - 4.16}$	$\frac{33 \pm 19}{-66 - 52}$	$\frac{2.54 \pm 1.26}{-4.57 - 3.58}$
350	5	$\frac{0.97 \pm 0.08}{0.84 - 1.06}$	$\frac{0.03 \pm 0.02}{-0.03 - 0.05}$	$\frac{2.69 \pm 1.56}{-2.95 - 4.79}$	$\frac{41 \pm 21}{-61 - 42}$	$\frac{2.59 \pm 1.71}{-2.61 - 2.77}$

Примечание. * – в числителе средняя арифметическая, в знаменателе – размах варьирования; ** – в числителе средняя арифметическая, рассчитанная без учёта знака, в знаменателе – размах варьирования с учётом знака (отрицательные значения – отклонение расчётных значений от контрольных в меньшую сторону, положительные – в большую).

носительная погрешность расчета наблюдается при объеме пробы 25 шт. Этот показатель значимо, но слабо коррелирует с объемом пробы (коэффициент корреляции Пирсона: $r = 0.17$, $P = 0.009$). Уровень погрешности устойчив в диапазоне объема проб от 25 до 250 яиц ($F = 0.69$, $df = 6$, $P = 0.66$), а затем несколько возрастает до величины более 2% ($F = 9.43$, $df = 1$, $P = 0.004$). Объемы проб 300 и 350 яиц оказалось возможным оценить только у крупных самок с наибольшей плодовитостью, для которых, кроме того, характерен несколько больший вес яиц. В то же время такие различия относительно невелики и статистически не значимы (t -критерий Саттервайта, $P > 0.35$).

Сходная, но более отчетливо выраженная закономерность наблюдается при расчете числа яиц в яичниках по относительно небольшой пробе и сравнении его с контрольными результатами полного подсчета. Минимальное относительное отклонение расчетных значений от контрольного результата обнаружено при наимень-

расчетных результатов от известного контрольного значения можно считать влияние на весовые характеристики массы оболочек яичников, сухой вес которых незначителен (не превышает 2 – 3% от такового половых продуктов). Причем это влияние возрастает при увеличении объема пробы до 300 – 350 яиц.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ качества результатов реализации расчетного метода определения плодовитости *P. fuscus* показал достаточно высокий уровень их сходимости с контрольными значениями, полученными при полном подсчете числа яиц в яичниках. При всех вариантах объема пробы уровень сходимости оказался заметно выше 95% (отклонение от контрольных значений в среднем составляет от 1.55 до 2.59%). Подобный уровень точности расчетных результатов вполне приемлем для большинства экологических исследований.

Однако необходимо отметить, что его применимость возможна только при использовании сухого веса. Любые попытки выражения весовых показателей для амфибий в иной форме делают невозможным стандартизацию измерений и могут привести к существенному снижению качества результатов. К числу факторов, которые могут вносить заметный вклад в общую дисперсию фактических данных, очевидно, относятся погодные условия (прежде всего, температура и относительная влажность воздуха) в течение суток отлова конкретных особей бесхвостых амфибий, различия в дистанции их миграции от мест зимовки к нерестовому водоёму, продолжительности нахождения в ловчих цилиндрах, наличии или отсутствии воды в них после прохождения осадков, степени затенения и т.п. Поэтому для полного исключения искажающего влияния этих факторов на содержание воды в теле амфибий (в том числе и в половых продуктах), необходимо фиксировать весовые параметры только после высушивания образцов до постоянного веса.

По этой же причине нецелесообразно определение весовых показателей для кладки уже отложенной в нерестовом водоёме. На содержание воды в ней также оказывают заметное влияние целый ряд трудно учитываемых и не поддающихся стандартизации факторов. Примером подобных факторов могут быть гидрохимические параметры конкретного участка нерестового водоёма, которые, с одной стороны, определяют степень разбухания оболочек яиц, а с другой – весьма лабильны в мелководных водоёмах.

Существенным ограничением в применимости данного метода следует считать особенности типа нереста конкретного вида. У видов с порционным нерестом (*Bombina bombina*, *Rana ridibunda* и другие виды зелёных лягушек), который может продолжаться у конкретных особей более месяца, самки, прибывшие в нерестовый водоём, имеют в яичниках ооциты, находящиеся на различных стадиях созревания (Банников, Денисова, 1956; Гаранин, 1983; Кузьмин, 1999; Шляхтин и др., 2005). Причем созревание и откладка яиц продолжаются в течение длительного периода времени. Поэтому общее количество яиц, отложенных за период размножения (плодовитость), значительно превышает число ооцитов, находящихся в яичниках самки в момент прибытия в нерестовый водоём (Jørgensen, 1992; Cogălniceanu, Miaud, 2004). Так, формирование ооцитов у *B. bombina*, очевидно, продолжается в

течение всего времени активного питания и в период пребывания самки в водоёме, возможно, вплоть до начала миграции в наземные биотопы к будущим местам зимовки. Поскольку число яиц в яичниках самок *B. bombina* и зелёных лягушек в момент прибытия в нерестовый водоём совершенно не эквивалентно «плодовитости», применение предлагаемого метода расчета этого параметра к подобным видам может привести к значительно искаженным (заниженным) результатам и поэтому нецелесообразно.

В наибольшей степени данный расчетный метод применим к видам, откладывающим яйца в виде одной кладки, т.е. к так называемым видам с «взрывным» типом размножения (в англоязычных исследованиях – explosive breeders). Подобный тип нереста характерен для наземных видов, обладающих относительно компактным по времени нерестовым периодом и покидающих водоёмы сразу же по окончании нереста (*Rana arvalis*, *R. temporaria*, *Bufo bufo*, *B. viridis*, *P. fuscus* и др.) (Банников, Денисова, 1956; Гаранин, 1983; Лада, 1994; Кузьмин, 1999; Шляхтин и др., 2005; Ермохин и др., 2013 и др.). У таких видов в момент окончания зимовки и прибытия в водоём на нерест ооциты находятся на одной стадии формирования и готовы к овуляции. Таким образом, число яиц, находящихся в яичниках самок данных видов, соответствует числу яиц, откладываемых в период нереста, т.е. эквивалентно плодовитости, и может быть определено предлагаемым методом с приемлемым в экологических исследованиях уровнем точности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Банников А. Г., Денисова М. Н. 1956. Очерки по биологии земноводных. М. : Гос. учеб.-пед. изд-во Мин-ва просвещения РСФСР. 168 с.
- Гаранин В. И. 1983. Земноводные и пресмыкающиеся Волжско-Камского края. М. : Наука. 176 с.
- Ермохин М. В., Табачишин В. Г. 2011 а. Зависимость репродуктивных показателей самок *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) от размерных и весовых характеристик // Современная герпетология. Т. 11, вып. 1/2. С. 28 – 39.
- Ермохин М. В., Табачишин В. Г. 2011 б. Сходимость результатов учета численности мигрирующих сеголеток чесночницы обыкновенной *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) при полном и частичном огораживании нерестового водоёма заборчиками с ловчими цилиндрами // Современная герпетология. Т. 11, вып. 3/4. С. 121 – 131.
- Ермохин М. В., Иванов Г. А., Табачишин В. Г. 2013. Фенология нерестовых миграций бесхвостых ам-

- фибий в долине р. Медведица (Саратовская область) // Современная герпетология. Т. 13, вып. 3/4. С. 101 – 111.
- Корзинов В. А., Ручин А. Б. 2013. Зависимость плодовитости травяной лягушки – *Rana temporaria* Linnaeus, 1768 (Amphibia : Anura) от размерно-возрастной структуры // Современная герпетология. Т. 13, вып. 1/2. С. 71 – 73.
- Корн П. С. 2003. Прямолинейные заборчики с ловушками // Измерение и мониторинг биологического разнообразия : стандартные методы для земноводных. М. : Т-во науч. изд. КМК. С. 117 – 127.
- Кузьмин С. Л. 1999. Земноводные бывшего СССР. М. : Т-во науч. изд. КМК. 298 с.
- Лада Г. А. 1994. К биологии обыкновенной чесночницы *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) в Центральном Черноземье России // Флора и фауна Черноземья. Тамбов : Изд-во Тамбов. гос. пед. ин-та. С. 74 – 83.
- Ляпков С. М., Черданцев В. Г., Черданцева Е. М. 2001. Структура взаимодействия компонент приспособленности в жизненном цикле остромордой лягушки (*Rana arvalis*). I. Динамика репродуктивного усилия и его компонент // Зоол. журн. Т. 80, вып. 4. С. 438 – 446.
- Ляпков С. М., Корнилова М. Б., Северцов А. С. 2002. Структура изменчивости репродуктивных характеристики травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) и их взаимосвязь с размерами и возрастом // Зоол. журн. Т. 81, вып. 6. С. 719 – 733.
- Орлов А. И. 2004. Прикладная статистика. М. : Экзамен. 686 с.
- Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Завьялов Е. В., Табачишина И. Е. 2005. Животный мир Саратовской области : в 4 кн. Кн. 4. Амфибии и рептилии. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та. 116 с.
- Ishchenko V. G. 2003. The Measurement of Reproductive Effort in Amphibians // Russ. J. of Herpetology. Vol. 10, № 3. P. 207 – 212.
- Gibbons J. W., Semlitsch R. D. 1981. Terrestrial drift fences with pitfall traps : an effective technique for quantitative sampling of animal populations // Brimleyana. Vol. 7. P. 1 – 16.
- Jørgensen C. B. 1992. Growth and reproduction // Environmental Physiology of the Amphibians. Chicago : University of Chicago Press. P. 439 – 466.
- Cogălniceanu D., Măiaud C. 2004. Variation in life history traits in *Bombina orientalis* from the lower Danube floodplain // Amphibia – Reptilia. Vol. 25, № 1. P. 115 – 119.
- Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. 2001. PAST : Paleontological Statistics software package for education and data analysis // Paleontologia Electronica. Vol. 4, № 1. P. 1 – 9.

RESULTS CONVERGENCE OF FECUNDITY DETERMINATION OF *PELOBATES FUSCUS* (LAURENTI, 1768) BY FULL AND PARTIAL EGGS COUNTING METHODS

M. V. Yermokhin¹, V. G. Tabachishin², and G. A. Ivanov¹

¹ *Saratov State University
33 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia
E-mail: ecoton@rambler.ru*

² *Saratov branch of A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences
24 Rabochaya Str., Saratov 410028, Russia
E-mail: tabachishinvg@sevin.ru*

The quality of the results of determination of the female fertility of *Pelobates fuscus* was assessed by the method of partial egg counting in the ovaries. A high level of convergence of our sample results with the reference ones obtained with full single-piece egg counting was found. The deviation of these results from the reference is no more than 1.60 – 2.59% on average. Achieving such a level of convergence is possible by using the dry weight of sexual products. From 25 to 250 eggs is a sufficient sample volume of eggs from the ovaries of females. The proposed technique can significantly reduce the research effort while maintaining an acceptable level of environmental studies for the accuracy of results. This method is only applicable to anuran amphibians with a time-compact spawning period («explosive breeders») which lay clutch at once. At the same time, it cannot be used to estimate the fertility of amphibian species with portion spawning.

Key words: anuran amphibians, *Pelobates fuscus*, fertility, accuracy of results.