

НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОЛА СЕГОЛЕТОК ЧЕСНОЧНИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PELOBATES FUSCUS*) ПО РАЗМЕРНО-ВЕСОВЫМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ

М. В. Ермохин¹, В. Г. Табачишин², Д. С. Богословский¹, 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 11.12.2011 г.

Половой диморфизм сеголеток *Pelobates fuscus* в различных локальных популяциях Саратовской области (долина р. Медведицы) составляет по длине тела от 5 до 8%, по массе – 16 – 28%. Проведенный дискриминантный анализ позволил производить неинвазивную диагностику пола у 86 – 93% сеголеток по длине и массе тела. Для корректного выполнения дискриминации пола требуется двойная стратификация выборок. Отдельные классифицирующие функции получены для конкретных локальных популяций и двух временных страт. Временная стратификация выборок необходима из-за продолжительного периода размножения и миграции сеголеток *P. fuscus* из нерестовых водоёмов. Смещение выборок из разных локальных популяций и временных страт приводило к существенному снижению качества дискриминации. Применение неинвазивной методики определения пола сеголеток *P. fuscus* по длине и массе тела позволяет снизить воздействие исследователя на численность возрастных групп в модельных популяциях при проведении многолетних исследований их структуры.

Ключевые слова: *Pelobates fuscus*, сеголетки, половой диморфизм, диагностика пола, дискриминантный анализ.

ВВЕДЕНИЕ

При исследовании структуры популяций земноводных часто возникает необходимость определения пола особей на всех стадиях развития. Наибольшие трудности представляет выявление половой структуры сеголеток большинства видов бесхвостых амфибий. Между тем практически полное отсутствие данных о соотношении полов у неполовозрелых особей ограничивает возможности понимания закономерностей формирования половой структуры популяции.

Чесночница обыкновенная (*Pelobates fuscus*) – один из наиболее многочисленных видов бесхвостых амфибий на севере Нижнего Поволжья, доминирующий в нерестовых сообществах пойменных озёр на участках долин рек с песчаными надпойменными террасами. В восточной части ареала многие локальные популяции вида характеризуются высокой численностью и их состояние не вызывает опасений (Лада, 1994; Кузьмин, 1999; Шляхтин и др., 2005; Ермохин, Табачишин, 2010, 2011 а, б), тогда как на территории Западной Европы наблюдается тенденция к деградации популяций (Hels, 2002; Eggert et al.,

2006). При многолетних мониторинговых наблюдениях частое изъятие больших выборок сеголеток может привести к изменениям численности отдельных возрастных групп амфибий в популяциях. Наиболее значительный ущерб может быть нанесен в тех частях ареала, где численность вида имеет тенденцию к снижению.

У половозрелых особей *P. fuscus*, участвующих в размножении, определение пола обычно не вызывает особых трудностей, особенно в репродуктивный период, поскольку у них наблюдается достаточно чёткий половой диморфизм. Он проявляется во вторичных половых признаках (у *P. fuscus* это мозоли на предплечьях, относительно более короткие пальцы передних конечностей, более яркая и контрастная окраска и т.д.). Кроме того, половой диморфизм хорошо выражен по размерно-весовым характеристикам как у половозрелых особей (Rot-Nikšević et al., 2001), так и у сеголеток (Ермохин, Табачишин, 2010). Однако у только что прошедших метаморфоз сеголеток *P. fuscus* большинство вторичных половых признаков не про-

являются или проявляются нечётко, поэтому при определении половой принадлежности конкретных особей обычно применяют анатомические признаки половой системы, требующие вскрытия особи (Гаранин, Панченко, 1987), что приводит к ее гибели. Надёжная неинвазивная методика определения пола сеголеток и неполовозрелых особей в настоящее время не разработана.

Кроме того, сеголетки бесхвостых амфибий широко используются в качестве модельного объекта при исследовании различных онтогенетических процессов и влияния на них экологических факторов в лабораторных и полевых условиях (Carr et al., 2003; Olmstead et al., 2009; Duarte-Guterman et al., 2012 и др.). При выполнении подобных работ также требуется определение пола на различных стадиях развития. Сохранение организмов в живом состоянии представляет новые возможности для продолжения работы с ними.

Цель настоящего исследования – разработка методики неинвазивного определения пола сеголеток *P. fuscus* в полевых условиях с применением простых в измерении признаков (длины и массы тела), которая позволит минимизировать влияние исследователя на популяции бесхвостых амфибий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В ходе исследований структуры популяций *Pelobates fuscus* на пойменных озёрах Садок (51°21'31" с.ш., 44°48'11" в.д.) и Кругленькое (51°21'55" с.ш., 44°49'58" в.д.) в долине р. Медведицы (Саратовская область, Лысогорский район, между населёнными пунктами Урицкое и Атаевка) сеголеток отлавливали методом линейных заборчиков с ловчими цилиндрами (Корн, 2003), установленными по периметру водоёма на расстоянии 1 м от уреза воды. Отлов сеголеток проводили после прохождения метаморфоза в период расселения из нерестового водоёма в июне – августе 2011 гг.

Длину тела сеголеток (*SVL*) измеряли штангенциркулем с точностью до 0.1 мм, а массу тела (*W*) определяли на электронных весах с точностью до 0.01 г. Рассчитывали средние арифметические и стандартные отклонения (*SD*) обоих показателей для каждого пола отдельно. Пол особи определяли при вскрытии по строению гонад.

Достоверность различий по длине и массе тела между самцами и самками устанавливали,

выполняя многомерный дисперсионный анализ (*MANOVA*). При наличии достоверных различий по каждому из параметров в выборках проводили сравнение средних по *t*-критерию Сатерзвайта, поскольку переменные распределены нормально, но дисперсии не равны (Орлов, 2004). Нормальность выборок проверяли с помощью критерия Колмогорова – Смирнова (для всех исследованных выборок и переменных гипотеза о нормальности распределения не отклоняется при $P > 0.47$). Половой диморфизм оценивали по индексу, предложенному Дж. Ловичем и Дж. Гиббонсом (Lovich, Gibbons, 1992).

Для диагностики пола использовали линейный дискриминантный анализ Фишера (Клекка, 1989). Качество дискриминации определяли двумя способами: по доле особей с корректно определенным полом и методом кросс-проверки. Проведению кросс-проверки предшествовало формирование ряда рандомизированных выборок с помощью процедур, реализованных в модуле Attestat (Гайдышев, 2001). Одна из полученных выборок использовалась в качестве обучающей, а остальные считали внешними (по ним оценивали качество дискриминации пола функциями, полученными на основе обучающей выборки). Объём каждой обучающей и контрольных рандомизированных выборок составил по 25 особей (последовательное увеличение объёма выборок не было оправдано, поскольку не приводило к заметному улучшению качества дискриминации).

Данные включали в дискриминантный анализ после проверки условий, необходимых для его реализации (McGarigal et al., 2000): многомерную нормальность оценивали с помощью критериев Мардии (для всех выборок $P < 0.05$) (Mardia, 1970); не обнаружено различий между матрицами ковариации обоих полов (М-критерий Бокса, для всех выборок $P > 0.11$); коэффициенты корреляции Пирсона между длиной тела и массой у каждого из полов во всех выборках были относительно низкими и не превышали 0.52, что указывает на малую коллинеарность.

Статистическая обработка материала выполнена в пакете программ Statistica 6.0, PAST (Hammer, Harper, 2006) и Exel (модуль Attestat 12.5 (Гайдышев, 2001)).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что самки *P. fuscus* в среднем крупнее самцов и статистически значимо отличаются от них как по

длине тела, так и по массе. Однако наблюдается значительная трансгрессия рядов данных как по размерным (28 – 75%), так и по весовым характеристикам (21 – 70%), что, безусловно, затрудняет непосредственную идентификацию пола по отдельно взятым показателям.

Половой диморфизм (*SDI*) сеголеток по весовым характеристикам выше в 3 – 5 раз, чем по размерным (по длине тела 5.2 – 6.7%, по массе тела – 15.8 – 27.6%) (табл. 1). Вместе с тем следует отметить, что половой диморфизм по длине тела у сеголеток из популяции оз. Садок в 2011 г. оказался несколько ниже по сравнению с таковым в предыдущие годы (в 2009 – 2010 гг. – 6 – 12%, в среднем – 8%) (Ермохин, Табачишин, 2010).

Вероятно, такие различия по уровню полового диморфизма возникают под влиянием условий, в которых происходит развитие головастиков, в частности от температуры воды в течение периода развития. Так, половой диморфизм сеголеток *P. fuscus* был более выражен в мелководных прогреваемых водоёмах (оз. Садок), чем в относительно холодноводных (оз. Кругленькое). Сходные различия наблюдаются также в различные годы в пределах одной популяции. Например, в популяции оз. Садок в годы с аномально высокой температурой в весенне-летний период (2009 и 2010 гг.) (Ермохин, Табачишин, 2010) половой диморфизм сеголеток *P. fuscus* больше, а в более прохладные годы (2011 г.) различия по длине и массе тела между самцами и самками менее значительны.

Миграция сеголеток из нерестового водоёма в наземные биотопы в районе исследований продолжается обычно более месяца, начиная с последней декады июня. Большая часть метаморфизирующих особей, особенно в засушливые годы с ранним пересыханием нерестовых водоёмов, покидает водоём в первой половине июля. Однако часть сеголеток продолжают мигрировать на сушу до конца июля, а в отдельные годы, при продолжительном гидропериоде, и до последней декады августа. В течение периода выхода сеголеток из водоёмов наблюдается тенденция к заметному снижению массы тела у обоих полов. По сравнению с особями, покинувшими водоём в начале миграции, сеголетки, проходящие метаморфоз позже, легче в среднем на 15 – 20% (*t*-критерий Саттерзвайта) (см. табл. 1). В то же время по длине тела эти группы практически не отличаются между собой (*t*-критерий Саттерзвайта, $P > 0.10$).

Выявленные особенности динамики весовых характеристик дают основание разделить общую выборку сеголеток на две совокупности (произвести временную стратификацию). Первая временная страта объединяет особей, мигрировавших из водоёма в первую неделю периода метаморфоза, а вторая – включает остальных сеголеток, покинувших озёрные котловины позднее. Для каждой из выделенных групп дискриминантный анализ проводили отдельно.

Самцы и самки сеголеток *P. fuscus* статистически значимо отличаются между собой по

Таблица 1

Морфометрическая характеристика сеголеток *Pelobates fuscus* популяций озёр Садок и Кругленькое в различные сроки выхода из нерестовых водоёмов (временные страты 1 и 2)

Популяции	Дата сбора	Пол	Показатели								
			<i>N</i> , экз	$\frac{SVL \pm SD}{min-max}$, мм	T_{SVL} , %	$\frac{t}{P}$	$\frac{SDI_{SVL}}{\%}$	$\frac{W \pm SD}{min-max}$, г	T_W , %	$\frac{t}{P}$	$\frac{SDI_W}{\%}$
Садок	1–4.07	Самцы	191	$\frac{28.6 \pm 1.4}{22.6–33.4}$	28	$\frac{9.17}{<0.001}$	6.6	$\frac{2.69 \pm 0.30}{1.55–3.90}$	21	$\frac{10.45}{<0.001}$	21.6
		Самки	59	$\frac{30.5 \pm 1.3}{28.1–36.1}$				$\frac{3.27 \pm 0.38}{2.60–5.30}$			
	7–8.07	Самцы	48	$\frac{28.5 \pm 0.6}{27.2–30.2}$	34	$\frac{12.71}{<0.001}$	6.7	$\frac{2.24 \pm 0.21}{1.65–2.75}$	45	$\frac{7.83}{<0.001}$	16.9
		Самки	52	$\frac{30.4 \pm 0.8}{28.6–32.3}$				$\frac{2.62 \pm 0.26}{1.90–3.20}$			
Кругленькое	3–6.07	Самцы	44	$\frac{34.7 \pm 0.9}{31.5–37.0}$	57	$\frac{10.88}{<0.001}$	5.2	$\frac{4.67 \pm 0.41}{2.75–5.50}$	63	$\frac{9.84}{<0.001}$	15.8
		Самки	81	$\frac{36.5 \pm 1.0}{34.4–38.6}$				$\frac{5.41 \pm 0.39}{4.60–6.50}$			
	8–11.07	Самцы	45	$\frac{34.8 \pm 2.1}{26.7–36.8}$	75	$\frac{6.20}{<0.001}$	5.7	$\frac{4.34 \pm 0.81}{1.35–5.00}$	70	$\frac{8.90}{<0.001}$	27.6
		Самки	80	$\frac{36.8 \pm 1.1}{34.8–39.7}$				$\frac{5.54 \pm 0.62}{4.90–8.80}$			

размерно-весовым параметрам в обоих временных стратах (по результатам многомерного дисперсионного анализа (*MANOVA*)). Кроме того, статистически значимо отличаются самцы ранней и поздней страт, а также самки ранней и поздней страт (табл. 2). Последняя особенность также подтверждает необходимость их отдельного анализа при дискриминации пола. Среди особей одного пола вариация по массе тела заметно выше, чем по длине.

Таблица 2

Различия между самцами и самками сеголеток *Pelobates fuscus* в популяциях озёр Садок и Кругленькое в различные сроки выхода из нерестовых водоёмов по результатам многомерного дисперсионного анализа (*MANOVA*)

Популяции и временные страты		Результаты <i>MANOVA</i>		
		Самцы и самки в пределах одной страты	сравнение разных страт	
			Самцы	Самки
Садок	1	$F_{2,247} = 72.49$ $P < 0.001$	$F_{2,236} = 66.57$ $P < 0.001$	$F_{2,108} = 67.42$ $P < 0.001$
	2	$F_{2,97} = 86.12$ $P < 0.001$		
Кругленькое	1	$F_{2,122} = 72.55$ $P < 0.001$	$F_{2,86} = 11.93$ $P < 0.001$	$F_{2,158} = 9.96$ $P < 0.001$
	2	$F_{2,110} = 41.43$ $P < 0.001$		

В результате дискриминантного анализа были получены дискриминирующие функции, коэффициенты которых показаны в табл. 3. Причем функции, полученные в результате одномерного анализа, оказались также высоко значимыми (F -критерий Фишера для всех функций значим при $P < 0.002$) (табл. 4, рисунок). Более мощным дискриминатором при одномерном анализе оказалась масса тела. Полученные по этому показателю дискриминирующие функции позволяют корректно классифицировать пол от 84 до 100% сеголеток *P. fuscus* (см. табл. 4).

Кросс-проверка также показала сопоставимые результаты: доля особей с правильно определенным полом составила в среднем 76 – 86% (см. табл. 4). Лишь для выборки особей во второй половине периода миграции в популяции оз. Садок был установлен сходный уровень качества дискриминации пола по длине и массе тела (88%), а при кросс-проверке отмечено заметно более высокое качество дискриминации пола по длине тела (91% по длине против 76% по массе). В остальных случаях, даже если качество дискриминации по длине тела было выше при анализе обучающей выборки, кросс-проверка

демонстрировала сопоставимые результаты оценок при использовании массы тела для дискриминации пола сеголеток. Однако следует отметить, что в целом двухфакторные функции, полученные с учётом длины и массы тела сеголеток, дают несколько более высокое качество дискриминации (см. табл. 4, функции $D_1 - D_4$).

Таблица 3

Коэффициенты классифицирующих функций по результатам линейного дискриминантного анализа сеголеток *Pelobates fuscus* различных популяций и временных страт

Переменные	Пол	
	Самцы	Самки
Садок		
1 временная страта (функция D_1)		
<i>SVL</i>	-0.088	23.54
<i>W</i>	-4.340	3.17
Константа	14.524	-366.97
2 временная страта (функция D_2)		
<i>SVL</i>	-1.314	82.65
<i>W</i>	-1.207	-20.26
Константа	41.593	-1185.53
Кругленькое		
1 временная страта (функция D_3)		
<i>SVL</i>	40.41	42.46
<i>W</i>	6.41	11.21
Константа	-711.66	-808.57
2 временная страта (функция D_4)		
<i>SVL</i>	38.04	38.18
<i>W</i>	-12.14	-7.59
Константа	-651.85	-659.60

Для практического использования гораздо более удобны классифицирующие функции в канонической форме, поскольку они позволяют избежать расчета апостериорных вероятностей, необходимого при использовании функций при дискриминантном анализе по Фишеру. Параметры канонических функций и значения их пороговых точек приведены в табл. 5. Значения пороговых точек, рассчитанные для канонических функций, позволяют, решая эти уравнения применительно к конкретной особи, классифицировать ее как самца, если значение функции превышает пороговое, или как самку, если значение функции ниже порогового. Пороговое значение оказалось в различной степени смещённым относительно нуля во всех уравнениях, поскольку в использованных нами рандомизированных выборках (как и в исходных популяциях) соотношение полов отличалось от 1 : 1.

Представленные дискриминантные функции позволяют уверенно определять пол сеголе-

Таблица 4

Оценка качества дискриминации одномерных и двумерных функций при определении пола сеголеток *Pelobates fuscus* двух популяций на озёрах Садок и Кругленькое методами самопроверки и кросс-проверки

Показатели и функции	Лямбда Уилкса	Качество дискриминации, %						
		F	Самопроверка			Кросс-проверка		
			Пол		Все	Пол		Все
			♂♂	♀♀		♂♂	♀♀	
Садок (1 временная страта)								
SVL	0.66	$F_{1,23}=11.86$ $P=0.002$	95	50	84	$\frac{94}{78-100}$	$\frac{41}{29-50}$	$\frac{80^1}{68-92}$
W	0.56	$F_{1,23}=17.64$ $P<0.001$	100	81	92	$\frac{89}{78-100}$	$\frac{82}{57-100}$	$\frac{86}{72-100}$
D ₁	0.47	$F_{2,22}=12.28$ $P<0.001$	100	67	92	$\frac{92}{82-100}$	$\frac{77}{50-100}$	$\frac{88}{72-96}$
Садок (2 временная страта)								
SVL	0.32	$F_{1,23}=48.40$ $P<0.001$	91	86	88	$\frac{93}{87-100}$	$\frac{91}{80-100}$	$\frac{91^2}{88-92}$
W	0.51	$F_{1,23}=22.40$ $P<0.001$	100	77	88	$\frac{69}{60-73}$	$\frac{83}{71-90}$	$\frac{76}{72-80}$
D ₂	0.31	$F_{2,22}=24.84$ $P<0.001$	100	92	96	$\frac{93}{87-100}$	$\frac{93}{86-100}$	$\frac{93}{88-96}$
Кругленькое (1 временная страта)								
SVL	0.41	$F_{1,23}=33.05$ $P<0.001$	100	88	92	$\frac{78}{67-89}$	$\frac{91}{87-100}$	$\frac{86^3}{80-96}$
W	0.44	$F_{1,23}=28.81$ $P<0.001$	78	88	84	$\frac{91}{78-100}$	$\frac{82}{97-94}$	$\frac{85}{72-96}$
D ₃	0.32	$F_{2,22}=22.50$ $P<0.001$	89	88	88	$\frac{92}{78-100}$	$\frac{88}{87-89}$	$\frac{89}{84-92}$
Кругленькое (2 временная страта)								
SVL	0.80	$F_{1,23}=5.85$ $P=0.02$	50	73	64	$\frac{75}{63-88}$	$\frac{87}{76-100}$	$\frac{83^3}{72-96}$
W	0.46	$F_{1,23}=26.84$ $P<0.001$	100	100	100	$\frac{98}{91-100}$	$\frac{80}{76-82}$	$\frac{86}{84-88}$
D ₄	0.46	$F_{2,22}=12.88$ $P<0.001$	100	100	100	$\frac{95}{88-100}$	$\frac{81}{76-88}$	$\frac{86}{84-92}$

Примечание. В числителе – средняя доля правильно классифицированных особей, в знаменателе – размах варьирования этого показателя в различных контрольных рандомизированных выборках; ¹ N = 225 экз. (9 контрольных выборок по 25 экз.); ² N = 75 экз. (3 выборки по 25 экз.); ³ N = 100 экз. (4 выборки по 25 экз.).

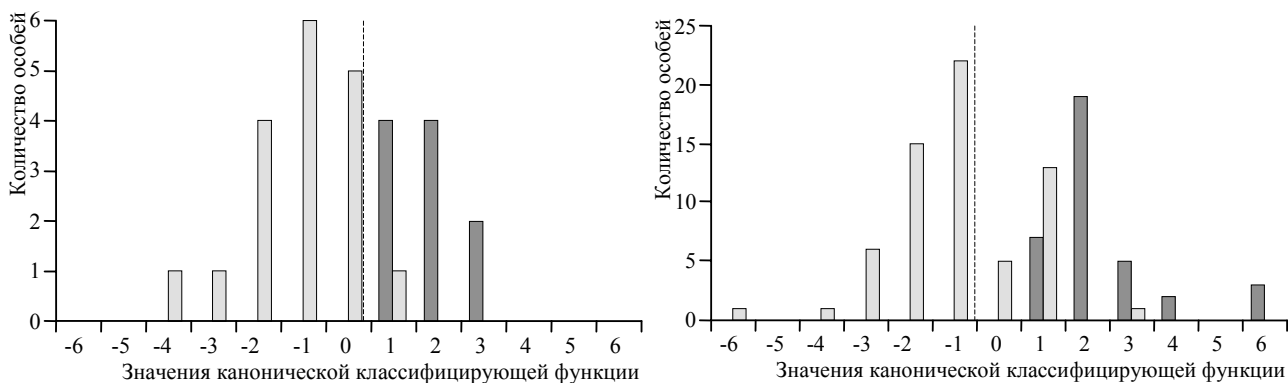
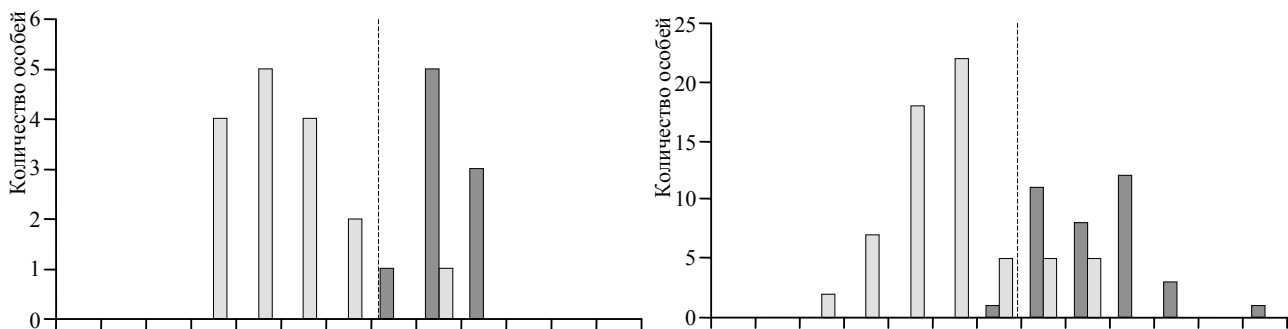
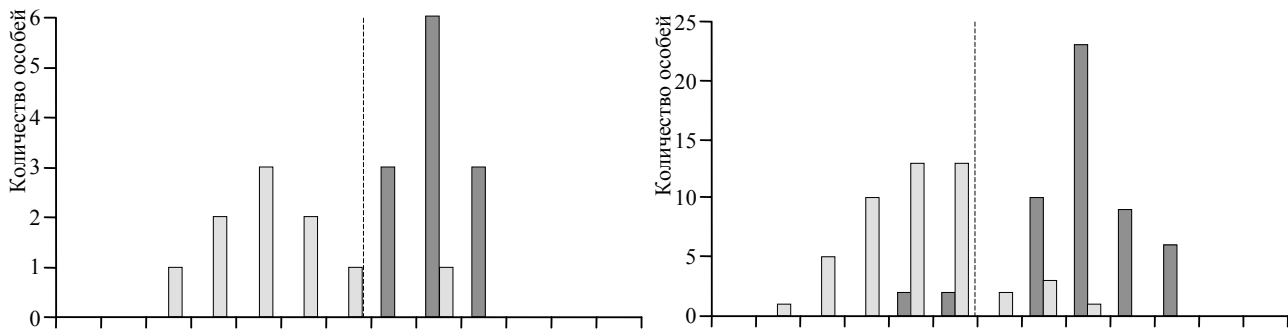
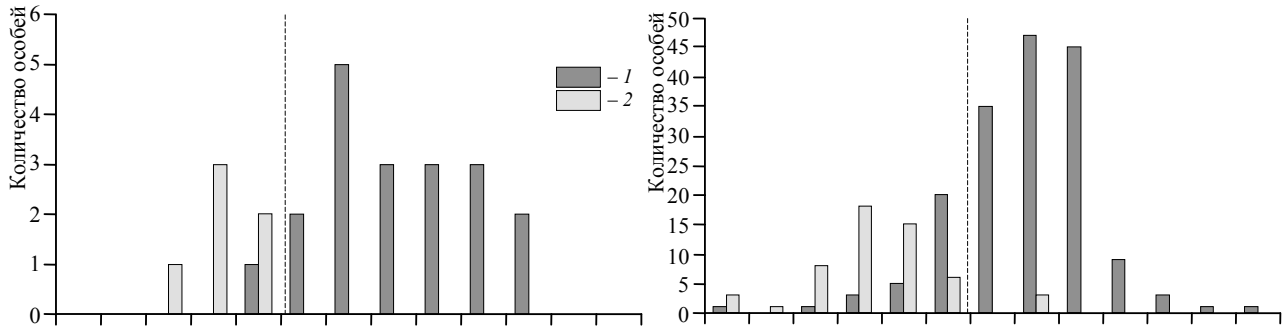
ток с использованием двух наиболее широко используемых и легко определяемых в полевых условиях параметров длины и массы тела. Они представляют собой быстрый, удобный и неинвазивный способ определения пола у сеголеток *P. fuscus*, который может быть применен в экологических исследованиях, связанных с выявлением закономерностей формирования половой структуры популяций. Использование полученных классифицирующих функций позволяет снизить изъятие особей из популяции и ущерб, наносимый численности исследуемых возрастных групп, до 7 – 14%.

Необходимо отметить, что ранее проведенное Ф. К. Дешам-Моншармо с соавторами

(Dechaume-Moncharmont et al., 2011) исследование влияния уровня полового диморфизма на качество дискриминации (долю правильно классифицированных особей) показало сопоставимые результаты: при уровне полового диморфизма 5 – 7% доля правильно классифицированных особей составила 90 – 93%.

Таким образом, при использовании неинвазивной диагностики пола сеголеток *P. fuscus* возникает необходимость учёта ряда специфических факторов, связанных с относительно большой продолжительностью периода нерестовых миграций половозрелых особей популяции и, как следствие, достаточно длительным периодом выхода сеголеток из нерестового водоёма.

НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОЛА СЕГОЛЕТОК



Классификация самцов (1) и самок (2) *Pelobates fuscus* из различных локальных популяций и временных страт: слева – обучающие выборки, справа – выборки для кросс-проверки. Пунктирной линией показаны пороговые значения классифицирующих функций

Таблица 5

Параметры канонических классифицирующих функций сеголеток *Pelobates fuscus* из различных популяций и временных страт

Популяции и временные страты		Каноническая классифицирующая функция	<i>R</i>	$\frac{\chi^2}{P}$	Пороговая точка
Садок	1	$D_1 = 14.524 - 0.088 SVL - 4.430 W$	0.83	$\frac{16.49}{< 0.001}$	-0.57
	2	$D_2 = 41.593 - 1.314 SVL - 1.207 W$	0.83	$\frac{25.98}{< 0.001}$	0.06
Кругленькое	1	$D_3 = 34.509 - 0.718 SVL - 1.623 W$	0.82	$\frac{24.50}{< 0.001}$	0.40
	2	$D_4 = 13.503 - 0.065 SVL - 2.148 W$	0.73	$\frac{17.05}{< 0.001}$	0.21

Сеголетки, покидающие водоём, в первой половине периода миграций развивались при относительно меньшей температуре воды, чем особи из кладок, отложенных во второй половине нерестового периода. Поэтому при отсутствии у особей одного пола существенных различий по длине тела более поздние мигранты отличаются несколько меньшей массой тела. Это может быть связано с большими энергетическими тратами на обмен у головастика, развивавшихся в условиях более высокой температуры воды. Данные особенности определяют необходимость стратификации выборки до начала дискриминантного анализа и отдельного рассмотрения сеголеток, мигрировавших в различные сроки.

Кроме того, размерно-весовые характеристики сеголеток в значительной мере определяются особенностями конкретного нерестового водоёма (глубина, температурный режим и характер питания водоёма в период развития головастика). Сеголетки одного пола, развивавшиеся в холодноводном водоёме, могут быть крупнее сеголеток из сильно прогреваемого водоёма в несколько раз (Ермохин, Табачишин, 2010). Даже сеголетки, развивавшиеся в одном водоёме в различные годы, могут сильно отличаться по размерно-весовым характеристикам.

Сходная дихотомия в размерных характеристиках сеголеток обнаружена и у других видов бесхвостых амфибий с длительным периодом размножения и существенными различиями температурного режима водоёмов в период развития головастика одной популяции, развивающихся из кладок, отложенных в различные сроки (Okochi, 1978; Khonsue et al., 2001). Кроме прямого воздействия температурного режима водоёма в период развития на размеры сеголеток, известен также сопряженный эффект влия-

ния плотности населения головастика в нерестовом водоёме. При уменьшении объёма водной массы (например, при пересыхании водоёма), наряду с повышением температуры воды, увеличивается также плотность популяции головастика, ускоряется их развитие, снижаются длина и масса тела при метаморфозе (Crump, 1981; Morey, 1994, 1998; Loman, 1999; Altwegg, 2003; Loman, Claesson, 2003; Marangoni, Tejedo, 2008; Tejedo et al., 2010).

Выявленные особенности репродуктивной биологии *P. fuscus* ограничивают применение полученных дискриминантных функций. По существу, они могут быть использованы только для сеголеток с диапазоном длины и веса тела, характерными для обучающей выборки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований представляется очевидным следующий алгоритм проведения исследования динамики половой структуры сеголеток *P. fuscus*, включающий несколько этапов. На первом этапе из популяции берётся небольшая выборка (25 – 30 сеголеток), которая выступает в качестве обучающей. Пол этих особей определяется на основании анализа структуры гонад при вскрытии.

Затем на основе длины и массы тела особей из обучающей выборки рассчитываются параметры дискриминирующих функций для самцов и самок. Данные функции могут быть использованы для диагностики пола последующих выборок сеголеток, отловленных в течение следующей недели. У сеголеток из этих выборок пол определяют, решая данные уравнения, подстановкой в них значений длины и массы тела конкретных особей. Пол сеголеток устанавливается по величине апостериорной вероятности

(необходимые процедуры расчета по известным параметрам классифицирующих функций реализованы в пакете MS Excel (модуль Attestat) (Гайдышев, 2001)). В редких случаях при уровне апостериорной вероятности ниже 0.65 надежное неинвазивное определение пола данной особи не представляется возможным, поэтому для таких экземпляров требуются вскрытие и анализ структуры гонад (необходимость применения анатомических методов при данном подходе возникает только для 7 – 14 особей из 100).

По истечении недели с начала миграции сеголеток *P. fuscus* из нерестового водоёма необходима повторная выборка, характеризующая вторую временную страту, для которой рассчитываются параметры отдельных классифицирующих функций. С учётом высокой межгодовой и межпопуляционной вариабельности размерно-весовых характеристик сеголеток *P. fuscus* может быть рекомендовано только интерполяционное использование полученных ранее классифицирующих функций (относительно диапазона длины и массы тела сеголеток).

Использование дискриминантного анализа для неинвазивной диагностики пола сеголеток *P. fuscus* имеет определенные перспективы. Очевидные преимущества, возникающие при реализации этого методического подхода, особенно важны при проведении многолетних мониторинговых исследований на конкретных популяциях и позволяют снизить искажающее воздействие изъятия больших выборок на численность модельных популяций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гайдышев И. П. 2001. Анализ и обработка данных. СПб. : Питер. 752 с.
- Гаранин В. И., Панченко И. М. 1987. Методы изучения амфибий в заповедниках // Амфибии и рептилии заповедных территорий / ЦНИЛ Главохоты РСФСР. М. С. 8 – 26.
- Ермохин М. В., Табачишин В. Г. 2010. Динамика размерной и половой структуры сеголеток чесночницы обыкновенной – *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) в пойме р. Медведицы // Совр. герпетология. Т. 10, № 3/4. С. 101 – 108.
- Ермохин М. В., Табачишин В. Г. 2011 а. Сходимость результатов учета численности мигрирующих сеголеток чесночницы обыкновенной, *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768), при полном и частичном огораживании нерестового водоёма заборчиками с ловчими цилиндрами // Совр. герпетология. Т. 11, № 3/4. С. 121 – 131.
- Ермохин М. В., Табачишин В. Г. 2011 б. Зависимость репродуктивных показателей самок *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) от размерных и весовых характеристик // Совр. герпетология. Т. 11, вып. 1/2. С. 28 – 39.
- Клекка У. Р. 1989. Дискриминантный анализ // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М. : Финансы и статистика. С. 78 – 138.
- 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.
- Орлов А. И. 2004. Прикладная статистика. М. : Экзамен. 656 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 Саратов. ун-та. 116 с.
- Altwegg R. 2003. Multistage density dependence in an amphibian // Oecologia. Vol. 136, № 1. P. 46 – 50.
- Carr J. A., Gentles A., Smith E. E., Goleman W. L., Urquidí L. J., Thuett K., Kendall R. J., Giesy J. P., Gross T. S., Solomon K. R., Kraak G. V. D. 2003. Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology // Environ. Toxicol. and Chem. Vol. 22, № 2. P. 396 – 405.
- Crumph M. L. 1981. Energy accumulation and amphibian metamorphosis // Oecologia. Vol. 49, № 2. P. 167 – 169.
- Dechaume-Moncharmont F.-X., Monceau K., Cezilly F. 2011. Sexing birds using discriminant function analysis : a critical appraisal // Auk. Vol. 128, № 1. P. 78 – 86.
- Duarte-Guterman P., Ryan M. J., Trudeau V. L. 2012. Developmental expression of sex steroid- and thyroid hormone-related genes and their regulation by triiodothyronine in the gonad-mesonephros of a Neotropical frog, *Physalaemus pustulosus* // Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 177, № 1. P. 195 – 204.
- Eggert C., Cogălniceanu D., Veith M., Džukić G. V., Taberlet P. 2006. The declining spadefoot toad, *Pelobates fuscus* (Pelobatidae) : paleo and recent environmental changes as a major influence on current population structure and status // Conservation Genetics. Vol. 7, № 2. P. 185 – 195.
- Hammer O., Harper D. A. T. 2006. Paleontological data analysis. Malden ; Carlton ; Oxford : Blackwell Publ. 368 p.
- Hels T. 2002. Population dynamics in a Danish metapopulation of spadefoot toads *Pelobates fuscus* // Ecography. Vol. 25, № 3. P. 303 – 313.
- Khonsue W., Matsui M., Hirai T., Misawa Y. 2001. Age determination of wrinkled frog, *Rana rugosa* with special reference to high variation in postmetamorphic body size (Amphibia: Ranidae) // Zoological Science. Vol. 18. P. 605 – 612.

- Loman J. 1999. Early metamorphosis in common frog *Rana temporaria* tadpoles at risk of drying : an experimental demonstration // *Amphibia-Reptilia*. Vol. 20, № 4. P. 421 – 430.
- Loman J., Claesson D. 2003. Plastic response to pond drying in tadpoles *Rana temporaria* : tests of cost models // *Evolutionary Ecology Research*. Vol. 5, № 2. P. 179 – 194.
- Lovich J. E., Gibbons J. W. 1992. A review of techniques for quantifying sexual size dimorphism // *Growth, Development and Aging*. Vol. 56, № 4. P. 269 – 281.
- Marangoni F., Tejedo M. 2008. Variation in body size and metamorphic traits of Iberian spadefoot toads over a short geographic distance // *J. of Zoology*. Vol. 275, № 2. P. 97 – 105.
- Mardia K. V. 1970. Measures of multivariate skewness and kurtosis with applications // *Biometrika*. Vol. 57. P. 519 – 530.
- McGarigal K., Cushman S., Stafford S. 2000. Multivariate statistics for wildlife and ecology research. New York : Springer. 283 p.
- Morey S. R. 1994. Age and size at metamorphosis in spadefoot toads : a comparative study of adaptation to uncertain environments : doctoral dissertation / University of California. Riverside. 235 p.
- Morey S. R. 1998. Pool duration influences age and body mass at metamorphosis in the western spadefoot toad : implications for vernal pool conservation // *Ecology, conservation, and management of vernal pool ecosystems : proc. from a 1996 conference / California Native Plant Soc. Sacramento*. P. 86 – 91.
- Okochi I. 1978. Ecological study on *Rana rugosa* – comparisons of populations from forest and paddy fields : master dissertation / University of Tokyo. Tokyo. 84 p.
- Olmstead A. W., Kosian P. A., Korte J. J., Holcombe G. W., Woodis K. K., Degitz S. J. 2009. Sex reversal of the amphibian, *Xenopus tropicalis*, following larval exposure to an aromatase inhibitor // *Aquatic toxicology*. Vol. 91, № 2. P. 143 – 150.
- Rot-Nikčević I., Sidorovsca V., Džukić G. V., Kalezić M. L. 2001. Sexual size dimorphism and life history traits of two european spadefoot toads (*Pelobates fuscus* and *P. syriacus*) in allopatry and sympatry // *Annales Ser. hist. nat.* Vol. 11, № 1. P. 107 – 120.
- Tejedo M., Marangoni F., Pertoldi C., Richter-Boix A., Laurila A., Orizaola G., Nicleza A. G., Alvarez D., Gomez-Mestre I. 2010. Contrasting effects of environmental factors during larval stage on morphological plasticity in post-metamorphic frogs // *Climate Research*. Vol. 43, № 1. P. 31 – 39.

NONINVASIVE SEX DETERMINATION OF SPADEFOOT TOAD (*PELOBATES FUSCUS*) TOADLETS BY MORPHOMETRIC AND WEIGH CHARACTERISTICS

M. V. Yermokhin ¹, V. G. Tabachishin ², D. S. Bogoslovsky ¹, and G. A. Ivanov ¹

¹ Chernyshevsky 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 sexual dimorphism of *Pelobates fuscus* toadlets in various local populations of the Saratov region (the Medveditsa river valley) is 5 – 8% by body length and 16 – 28% by weight. Our discriminant analysis allows conducting noninvasive sex diagnostics in 86 – 93% of the toadlets by body length and weight. Double sample stratification is needed for correct sex discrimination. Separate classification functions were obtained for specific local populations and two temporal strata. Temporal sample stratification is necessary because of the long period of reproduction and migration of *P. fuscus* toadlets from their spawning water bodies. Mixing samples from various local populations and temporal strata led to an essential decrease in the quality of discrimination. Application of our noninvasive sex determination technique for *P. fuscus* toadlets by body length and weight allows reducing the influence of the observer on the quantity of concrete age group in model populations at carrying out a long-term survey of their structure.

Key words: *Pelobates fuscus*, toadlets, sexual size dimorphism, sex determination, discriminant analysis.