

Э. М. СМЕРИНА

**О СЛОИСТОЙ СТРУКТУРЕ НЕКОТОРЫХ КОСТЕЙ  
СЕРОЙ ЖАБЫ В СВЯЗИ С ВОЗМОЖНОСТЬЮ  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОЗРАСТА**

(Институт биологии развития АН СССР)

Во многих работах по экологии животных вопрос о возрастной структуре популяции является одним из главных. Рост и сроки полового созревания, участие различных возрастных групп в размножении, продолжительность жизни, динамика численности— все эти вопросы упираются в необходимость точного определения возраста животных. В практику зоологических исследований уже вошло определение возраста млекопитающих по слоистым структурам зубов и костей. Однако до настоящего времени наиболее распространенным методом определения возраста амфибий остается метод определения его по длине тела. Методика работы обычно сводится к следующему: одновременно берут достаточно большое количество особей из одного и того же места, измеряют их и строят кривую, в которой по модам выделяют размерные группы. Каждая группа считается соответствующей определенному возрасту. Эта методика является далеко не удовлетворительной прежде всего потому, что по достижении половой зрелости темп роста животных сильно снижается и чем дальше, тем меньше увеличивается длина тела, так что последняя размерная группа наверняка является сборной. Кроме того, при такой методике могут не улавливаться индивидуальные различия в скорости роста. Известно, что даже в самом начале жизни амфибии могут различаться по темпу роста. Имеются сведения, что некоторые виды животных выделяют специфические вещества, задерживающие рост особей своего же вида. Так, С. Роус и Ф. Роус (1964) при выращивании головастиков *Rana pipiens* наблюдали, что после вылупления все головастики начинают расти с разной скоростью. Авторы, проведя ряд экспериментов, показали, что головастики с врожденной большей скоростью роста выделяют аутоингибиторы, которые подавляют рост других головастиков того же вида. Правда, опыты проводили в аквариумах, а не в естественных водоемах, где, как предполагают, количество ингибиторов может уменьшаться под влиянием большого количества инородных организмов и разрушаться под действием ультрафиолетовых лучей, но все же не исключено, что и в естественных

условиях одни головастики могут подавлять рост других. Это ведет к тому, что метаморфоз может происходить не одновременно и только что метаморфизировавшие особи могут различаться по длине тела. Этот факт и дальнейшие индивидуальные различия в скорости роста, а также растянутость сроков метаморфоза — 56—91 день (Терентьев, 1953) делают метод определения возраста по длине тела очень ненадежным.

Разбирая строение костной ткани бесхвостых амфибий, А. В. Румянцев (1958) пишет, что, закладываясь очень рано, периостальная кость развивается посредством оппозиционного роста со стороны периоста, и так как нарастание новых слоев имеет некоторый ритм во времени, то в результате образуется типичное зонарное расположение костных пластинок. Очевидно, как и у других животных, живущих в континентальном климате, период активного роста у наших амфибий чередуется с зимней задержкой роста. На шлифах и срезах костей различных животных в проходящем свете видны широкие темные зоны (на окрашенных препаратах они будут светлыми), представляющие типичную костную ткань, откладывающуюся за сезон активного роста, и узкие прозрачные полосы (темные на окрашенных препаратах), представляющие бесклеточное вещество, богатое кальцием, образующееся во время зимней задержки роста. Эти полосы называют линиями склеивания и по числу их у млекопитающих определяют количество пережитых особью зим (Клевезаль, Клейненберг, 1967). То, что слои, видимые в периостальной зоне кости млекопитающих, являются действительно годовыми, было доказано рядом работ (см. сводки Клевезаль и Клейненберг, 1967; Sergeant, 1967). О наличии слоистых структур в костях амфибий и о возможности определения возраста по ним уже упоминалось в литературе (Sepping, 1940; Клейненберг и Смирин, 1969). Исследования В. К. Сеннинга на костях американского протей (*Necturus maculosus*) и С. Е. Клейненберга и Э. М. Смириной на костях травяной лягушки (*Rana temporaria*) дало основание предположить, что количество слоев, видимых в кости, действительно соответствует числу пережитых особью лет, т. е. по ним можно вести определение возраста амфибий.

В данной работе мы постараемся рассмотреть вопрос о наличии годовых слоев и о возможности определения возраста по их числу у серых жаб (*Bufo bufo*)\*.

#### Методика работы

Слои, по которым определяют возраст, можно выявлять разными способами. В плоских костях черепа эти слои видны в проходящем свете после просветления костей в просветляющей жидкости (таким методом пользовался Сеннинг, (1940), выявляя

\* Автор выражает искреннюю благодарность Г. А. Клевезаль за руководство работой и М. С. Владимирской за помощь в оформлении статьи.

слои в парасфеноиде протея). В других костях слои могут быть видны на шлифах или на окрашенных тонких срезах кости.

Более простой способ, исследование просветленных плоских костей, мы испробовали на парасфеноиде травяной лягушки. Для этого вываривали череп, отделяли от него парасфеноид, высушивали и помещали в чистый глицерин приблизительно на сутки; потом рассматривали кость под биноклем в проходящем свете, не вынимая ее из глицерина. Слоистость костной ткани была видна на просветленном парасфеноиде, но, очевидно, вследствие того, что отложение новой костной ткани идет не только по периферии, но и в толщину, не получается полного просветления и видимая картина получается неясная. По краям, где кость тоньше, слои видны лучше, но по мере утолщения ее к центру они видны все хуже и хуже. Так, у особи, на окрашенных поперечных срезах костей которой совершенно отчетливо было видно семь линий склеивания, на просветленном парасфеноиде едва можно было различить 5—6 узких прозрачных полос. Поэтому, приступая к обработке материала по серым жабам, мы сразу пользовались уже описанной ранее (Клевезаль, Клейненберг, 1967) методикой изготовления поперечных срезов длинных костей и окраски их гематоксилином Эрлиха. Срезы делали на санном микротоме, используя замораживающий столик ТОС-11. Использование обычного санного микротоме, у которого стандартный столик заменяется на промышленный замораживающий столик ТОС-1 или ТОС-11 вместо специального замораживающего микротоме, удобно тем, что не требует баллона с углекислотой. Замораживающий столик ТОС работает от электросети и требует только охлаждения проточной водой. После окраски можно делать временные препараты, заключая срезы в глицерин.

Так как у травяных лягушек наиболее ясная картина была на срезах бедра, голени, подвздошной кости (около тазового сочленения) и уростиля, то и у серых жаб мы сначала брали те же самые кости. Но костная ткань уростиля у серой жабы гораздо более рыхлая, чем у лягушек, и слоистость там выражена очень неясно, так что эта кость оказалась для жаб совершенно неподходящей. На поперечных срезах из середины диафизов бедра и голени, где костная ткань максимальной толщины, и подвздошной кости, около тазового сочленения, слои видны довольно хорошо. Наиболее отчетливая картина была видна на поперечных срезах фаланги четвертого, самого длинного пальца задней конечности.

Работа по изготовлению окрашенных препаратов затрудняется очень малыми размерами костей у мелких особей, особенно таких костей, как фаланги пальцев. Поэтому окраску, промывку и проводку по глицеринам таких костей пришлось проводить в небольших баночках с очень тонкими отверстиями в боковых стенках, с дном, затянутым мельничным газом, или, что еще лучше, красить и проводить по глицеринам прямо на предметных стеклах, а промывать на часовом стекле.

### О возможности определения возраста серой жабы

Материалом для нашего исследования послужила серия серых жаб (80 экземпляров), любезно предоставленная нам сотрудником Мордовского заповедника Л. П. Бородиным. Жабы были пойманы с середины августа по середину сентября 1968 г. в ловчие канавки на территории Мордовского заповедника. Длина тела животных колебалась от 20 мм до 110 мм. Так как самки жаб по длине тела превосходят самцов (Терентьев, 1953; Банников и Белова, 1956), то гистограммы выборки по длине тела мы строили отдельно для самцов и для самок (рис. 1 а, б).

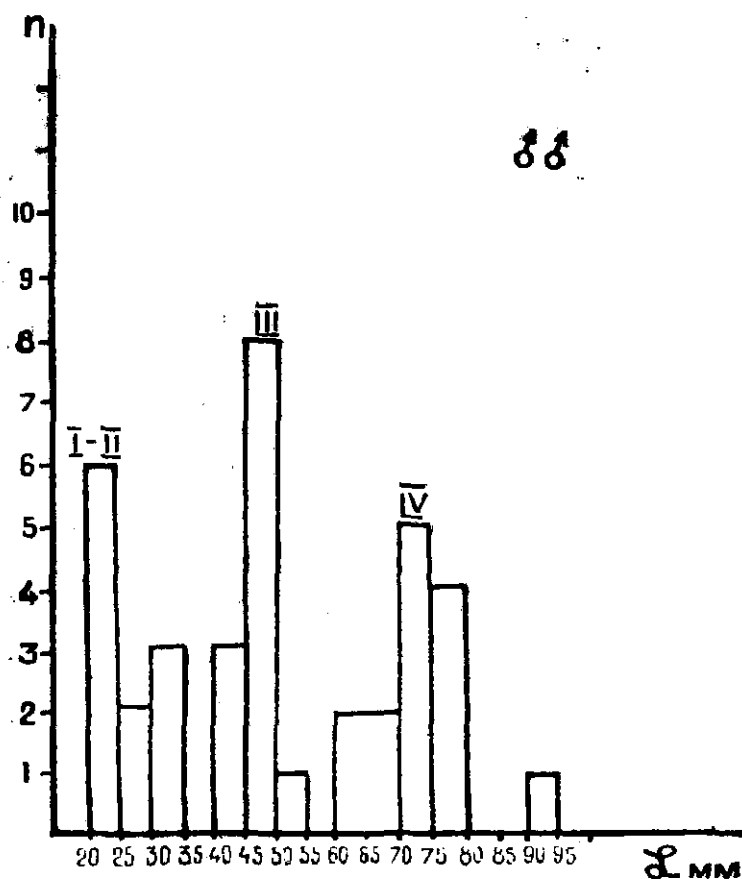


Рис. 1а. Гистограмма распределения самцов серой жабы по длине тела.  
 I—первый возрастной класс (сеголетки)  
 II—второй возрастной класс (годовики)  
 III—третий возрастной класс (двухлетки)  
 IV—четвертый возрастной класс (половозрелые жабы разного возраста)

На рис. 1а видно, что у самцов в отдельные группы выделяются жабы с длиной тела 40—45 мм и 60—80 мм. Менее четко разделяются группы 20—25 мм и 30—35 мм. Ориентировочно мы выделяем у самцов по длине тела четыре размерные группы: I—до 25 мм; II—30—35 мм; III—40—45 мм; IV—60 и более мм.

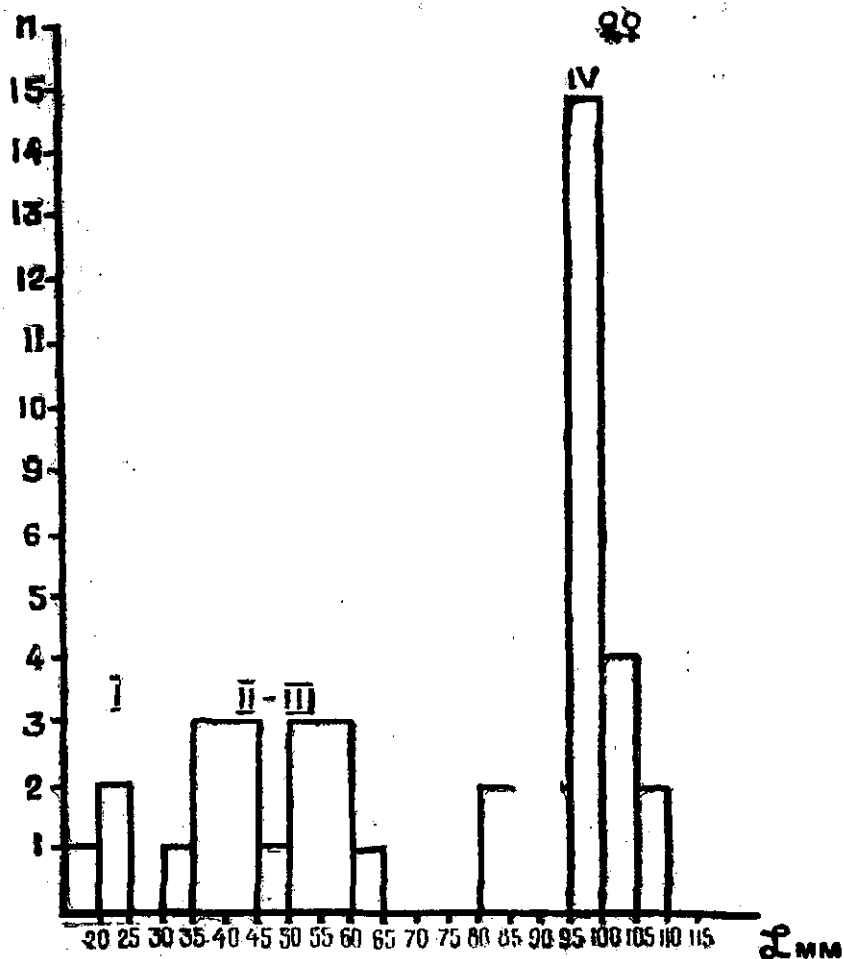


Рис. 16. Гистограмма распределения самок серой жабы по длине тела. (возрастные градации см. рис. 1а)

Первые три группы, очевидно, более или менее соответствуют первым трем возрастным классам, тогда как четвертая, вероятно, является сборной группой из нескольких возрастных классов.

На рис. 16 видно, что у самок более четко выделяются группы 30—45 мм и 50—65 мм. Таким образом, у самок тоже по длине тела можно выделить ориентировочно четыре группы: I—до

25 мм; II—30—45 мм; III—50—65 мм и IV—80—110 мм. Можно принять, что первые три группы соответствуют следующим друг за другом возрастным классам, а последняя — четвертая — включает жаб старших возрастов.

Мы не можем в данном случае четко интерпретировать картину гистограмм, так как, во-первых, количество материала не велико, а, во-вторых, животных, отловленных канавками в течение месяца, нельзя считать единовременной выборкой, рекомендуемой для построения вариационных кривых и гистограмм.

П. В. Терентьев (1953) указывает, что длина тела серых жаб после метаморфоза 8—13 мм, к первой зимовке длина тела удваивается (16—30 мм), у годовалых жаб длина тела 30—35 мм, а у двухгодовалых приблизительно 45 мм. Половозрелость, по данным П. В. Терентьева, наступает на четвертом году жизни при длине тела 50—80 мм. Но П. В. Терентьев, очевидно, рассматривал самцов и самок вместе. А. Г. Банников и З. В. Белова (1956), по материалам из Беловежской пуши, пишут, что размеры размножающихся самцов от 61 мм до 85 мм, а самок от 77 мм до 101 мм. Если предположить, что серые жабы из разных мест средней полосы Европы достигают половой зрелости примерно при сходных размерах, то в наши первые три возрастные группы входят неполовозрелые особи, а четвертая сборная группа и у самцов и у самок включает половозрелых животных.

На окрашенных срезах бедра, голени, подвздошной кости и фаланги пальцев мы видим, что в центре кости имеется внутренняя полость, а сама кость состоит из типичной периостальной костной

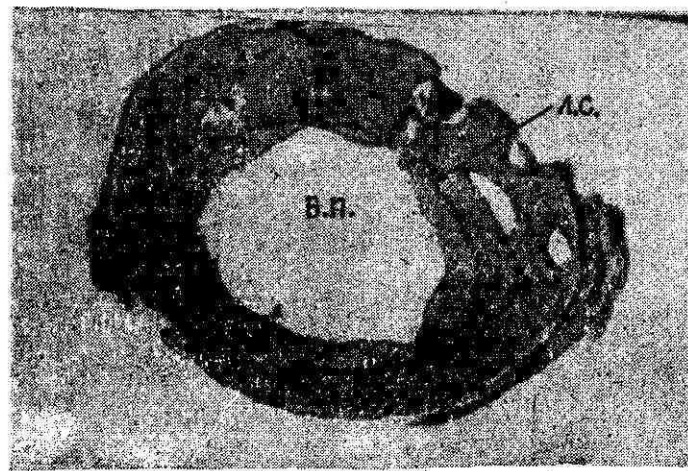


Рис. 2. Поперечный срез фаланги IV пальца серой жабы  
♀ Z-44 мм

в. п. — внутренняя полость  
л. с. — линия склеивания

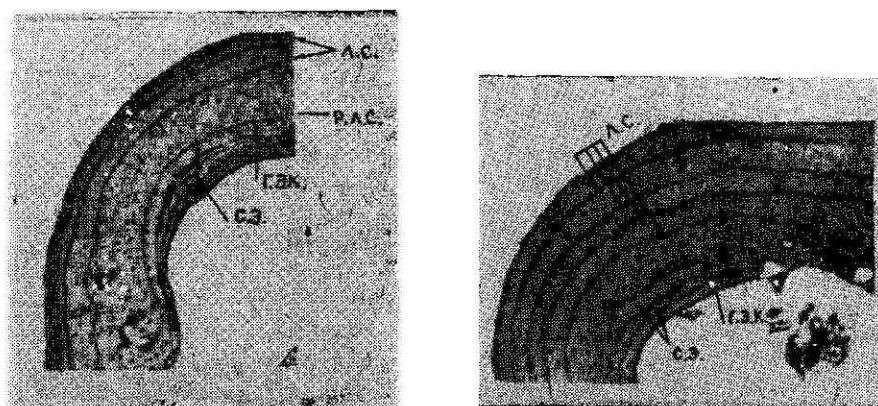


Рис. 3. Поперечные срезы костей подвздошной кости серых  
жаб, а — Z-75 мм; б — Z-76 мм  
р. л. с. — резорбирующая линия склеивания  
л. с. — линии склеивания  
г. э. к. — граница эндостальной кости  
с. э. — слои в эндостальной кости

ткани с широкими полосами, разделенными узкими темными линиями склеивания (рис. 2—4). Начиная с экземпляров из III размерной группы, со стороны внутренней полости кости начинает откладываться эндостальная кость, внутри которой также видна слоистость, правда, слои в ней не такие четкие, как в периостальной кости (рис. 3, 4).

Так же, как и у млекопитающих (Клевезаль, Клейненберг, 1967), у амфибий внутри широких зон летнего прироста видны дополнительные полоски, которые затрудняют подсчет зимних линий склеивания. Как правило, дополнительные полоски выражены слабо; они более расплывчатые и извилистые, чем основные, так что при определенном навыке работы их можно довольно легко отличать. Однако у отдельных особей количество этих дополнительных полосок может быть очень велико, а по отчетливости их невозможно отличить от основных линий склеивания. У таких экземпляров подсчет годовых слоев просто невозможен.

Обычно, как и у лягушек, на всех костях у одной особи видна одна и та же картина, но нам кажется, что на фаланге основные линии склеивания видны гораздо резче, а дополнительные менее отчетливо.

Интересно, что у самых маленьких жаб с длиной тела 20—25 мм, пойманных в конце лета, т. е. входящих в размерную группу сеголеток, на поперечных срезах кости была более или менее отчетливо видна одна линия склеивания. Иногда она видна целиком, а иногда частично резорбирована. Можно предположить, что то ли при задержке роста во время метаморфоза, то ли в

результате каких-либо других факторов в это же время у сеголеток образуется линия склеивания. Эта линия склеивания, судя по тому, что мы видим ее на некоторых препаратах очень близко к краю внутренней полости кости или даже частично резорбированной, резорбируется на первом же году жизни при расширении внутренней полости кости.

У жаб из II размерной группы тоже видна только одна линия склеивания, проходящая либо посередине среза, либо ближе к краю резорбции, либо тоже частично резорбированная (рис. 2). Очевидно, это след от первой зимовки. Так как в этом возрасте рост идет интенсивно, то и эта линия склеивания резорбируется. Действительно, В. Гамильтон (Hamilton, 1934), изучая темп роста американской жабы (*Bufo americanus*) в естественных условиях методом мечения, отрезая им пальцы аналогично тому, как это делают, метя грызунов, получил данные, что молодые жабы на втором году жизни удваивают длину тела. При таком интенсивном росте, конечно, происходит утолщение костной ткани и расширение внутренней полости трубчатых костей.

У жаб из III возрастной группы на поперечных срезах костей мы видим либо только одну линию склеивания, либо одну целиком и одну резорбирующуюся. Тут мы, к сожалению, можем только предполагать, что те экземпляры, у которых мы видим одну линию склеивания целиком и одну на стадии резорбции — это жабы на третьем году жизни, у которых след от первой зимовки находится на стадии резорбции, а след от второй зимовки виден целиком. У некоторых жаб из этой возрастной группы след от первой зимовки совсем резорбируется, а единственная видимая линия склеивания — это след от второй зимовки. Но нельзя ручаться, что в эту группу не попадают более быстрорастущие экземпляры второго года жизни, т. е. зимовавшие один раз.

В четвертую размерную группу входят взрослые половозрелые жабы. Как уже говорилось, считается, что жабы начинают размножаться на третьем-четвертом году жизни, причем самцы достигают половой зрелости раньше самок (Банников и Денисова, 1956; Терентьев, 1953). Е. К. Раңей и Е. А. Лахнер (Raney and Lachner, 1947) по результатам мечения жаб (*Bufo terrestris*) в природе отмечают резкое уменьшение темпа их роста после наступления половой зрелости. То же самое известно и для травяных лягушек, которые также достигают половой зрелости в три-четыре года (Залежский, 1938; Банников, 1940; Клейненберг и Смирнова, 1969). Так что мы, вероятно, можем считать темп роста серой жабы сходным с темпом роста травяной лягушки.

Наименьшее число линий склеивания, которое мы обнаружили у самцов жаб четвертой размерной группы, — одна целая и одна резорбирующаяся. Если считать, что, так же как и у лягушек, у жаб резорбируются следы от первых двух зимовок, то резорбирующаяся линия склеивания — это след от второй зимовки, а полный след — от третьей зимовки, т. е. это жабы на четвертом году

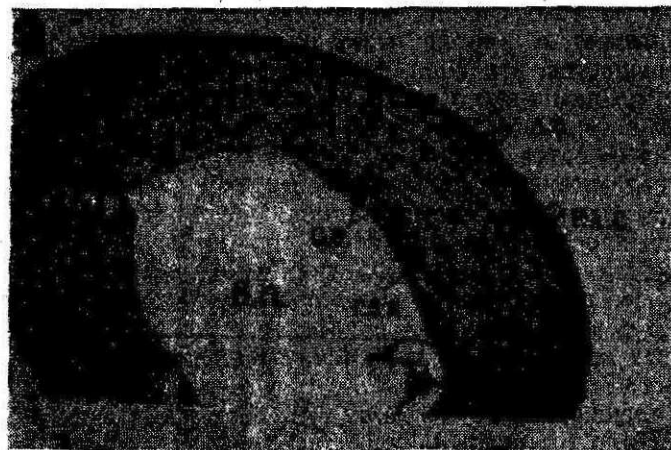
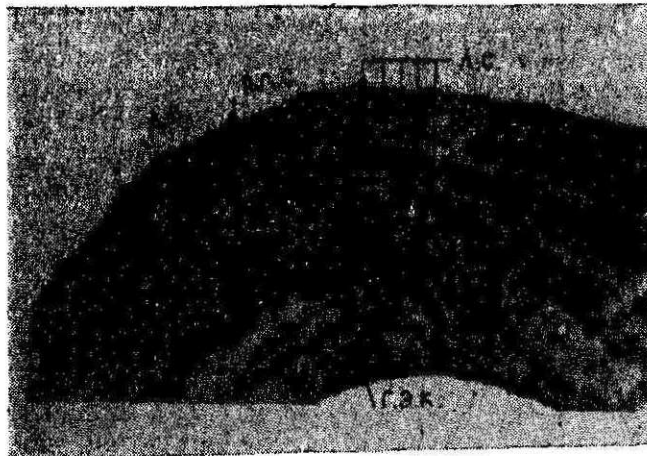


Рис. 4. Поперечные срезы «а» — подвздошной кости серой жабы ♀ Z-99 мм; «б» — фаланги IV пальца серой жабы ♀ Z-100 мм

в. п. — внутренняя полость  
р. л. с. — резорбирующиеся линии склеивания  
л. с. — линии склеивания  
г. э. к. — граница эндостальной кости  
с. э. — слои в эндостальной кости  
д. с. — дополнительный слой

жизни. У других самцов из четвертой сборной возрастной группы видны три-четыре линии склеивания (рис. 3а, б), следовательно, самому старому из пойманных самцов, если считать, что резорбируются следы только от первых двух зимовок, было полных шесть лет.

Среди самок из четвертой сборной возрастной группы не было ни одной, у которой было бы видно меньше чем три полных линии склеивания с еще одной, находящейся на стадии резорбции, т. е. среди них не было ни одной моложе шести лет. У остальных самок из этой группы количество видимых на поперечных срезах линий склеивания доходит до 6—7 (пять-шесть полных и одна резорбирующаяся), т. е. самым старым из самок было, очевидно, 8—9 лет (рис. 4а, б).

В. П. Терентьев (1953) сообщает, что в неволе жаб удавалось держать свыше 20 лет; А. Г. Банников и М. Н. Денисова (1956) предполагают, что в природе серые жабы живут 5—6 лет.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая приведенные выше данные, мы видим, что на окрашенных препаратах поперечных срезов костей бедра, голени, подвздошной кости и фаланг пальцев достаточно четко выражены слои. Судя по тому, что с увеличением длины тела количество слоев возрастает, а ширина вновь отлагающихся при этом слоев кости уменьшается, эти слои, по всей видимости, являются годовыми, т. е. по ним можно вести определение возраста серых жаб.

На всех костях одной и той же особи видна одна и та же картина, но на фаланге основные годовые слои, как правило, выражены гораздо резче, а дополнительные слои менее отчетливо.

Таким образом, мы можем говорить об определении возраста половозрелых особей (с точностью  $\pm 1$  год) по числу слоев в кости, прибавляя к видимым на срезах линиям склеивания еще две, которые, по-видимому, резорбируются в процессе расширения костно-мозговой полости при росте. Для определения возраста молодых жаб остается пока более надежным метод определения возраста по длине тела.

К сожалению, мы не могли исследовать жаб точно известного возраста. Было бы очень хорошо, если бы удалось наладить мечение земноводных в природе, это позволило бы разработать точную методику определения возраста их по слонистой структуре кости. Особенно хорошие перспективы в этом деле может оказать тот факт, что на поперечных срезах с фаланг пальцев годовые слои видны очень хорошо. Вылавливая в течение нескольких лет одни и те же особи и отрезая при этом у них пальцы, мы сможем абсолютно точно увидеть, действительно ли только одна линия склеивания прибавляется у них за год, сколько их резорбируется в течение жизни. Измеряя ширину вновь отложенных слоев, можно будет восстановить характер их роста в течение жизни и, может быть, даже выяснить причины возникновения дополнительных полос.

## ЛИТЕРАТУРА

- Банников А. Г., Белова З. В. Материалы к изучению земноводных и пресмыкающихся Беловежской пущи. Уч. зап. мос. гор. пед. ин-та имени В. П. Потемкина. 1956.
- Банников А. Г., Денисова М. Н. Очерки по биологии земноводных. М., Учпедгиз. 1956.
- Залезский Г. В. К динамике численности некоторых видов амфибий. Сб. научн. студ. работ Моск. ун-та, т. 2, 1938, стр. 3—28.
- Клевезаль Г. А., Клейненберг С. Е. Определение возраста млекопитающих. М., «Наука», 1967.
- Роус С., Роус Ф. Выделение головастиками веществ, задерживающих рост.— В кн.: Механизмы биологической конкуренции. М., «Мир», 1964.
- Клейненберг С. Е., Смирин Э. М. К методике определения возраста амфибий. Зоол. журн., т. 48, в. 7, 1969, стр. 1090—1093.
- Терентьев П. В. Гл. IV Земноводные — Amphibia.— В кн.: Животный мир СССР, т. IV. 1953.
- Hamilton W. J. The rate of growth of the toad (*Bufo americanus* Hol.) under natural conditions, *Copeia*, 2. 88—90. 1934.
- Raney E. C. and Lachner E. A. Studies on the growth of tagged toads (*Bufo terrestris americanus* Hol.), *Copeia*, 2. 113—116. 1947.
- Senning W. C. A study of age determination and growth of *Necturus maculosus* based on the parasphenoid bone, *Amer. J. Anatomy*, 66, 3. 483—494. 1940.
- Sergeant D. E. Age determination of land mammals from annuli, *J. Säugetier Kunde*, 32(5). 297—300. 1967.