

УДК 597.8:591.5

## ВЛИЯНИЕ ПОВТОРНОСТИ ОПЫТА НА ПОВЕДЕНИЕ ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ (*RANA RIDIBUNDA*) В ПОЛЕВЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРИЕНТАЦИИ

© 2012 г. В. В. Шахпаронов

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,  
Москва 119992, Россия  
e-mail: Wshakh@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.12.2011 г.

Изучали влияние повторности опыта на поведение озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в полевых экспериментах по пространственной ориентации при поиске водоема. Опыты проводили в 2006, 2007, 2011 гг. рядом со Звенигородской биостанцией МГУ (запад Московской обл.). Всего проведено 16 опытов с 60 лягушками (5 опытных групп). Во время опытов лягушек отлавливали в водоеме и выпускали на разном расстоянии от него; перемещение лягушек контролировали, используя метод “тропления по нити”. В опытах лягушки не достигали водоема, рядом с которым их выпускали. При повторных выпусках на одном и том же месте лягушки во втором выпуске шли не к своему, а к ближайшему водоему. Начиная с третьего опыта, лягушки затаивались на месте выпуска, что похоже на явление выученной беспомощности, описанное для других позвоночных. Эти опыты показывают, что лягушки способны запоминать элементы местности. При выпуске лягушек каждый раз в новом месте, направление их движения не отличалось от направления, выбираемого особями, не участвовавшими ранее в экспериментах. С третьего выпуска маршрут лягушек становился более прямолинейным.

**Ключевые слова:** *Rana ridibunda*, пространственная ориентация, повторные опыты, выученная беспомощность.

Пространственная ориентация животных является одной из фундаментальных проблем биологии. Поскольку наиболее архаичной группой среди современных наземных позвоночных являются амфибии, изучение механизмов их ориентации может стать ключом к пониманию этого явления и у более высокоорганизованных животных. Для разных видов амфибий показана привязанность к своему нерестовому водоему или летнему участку и возможность их возвращения к нему с больших расстояний (Grant et al., 1968; Sinsch, 1987, 1987a, 1992). Установлено, что амфибии способны использовать широкий спектр ориентиров (Sinsch, 1992).

Во время изучения поведения, включая пространственную ориентацию, довольно часто случается ситуация, когда в серии опытов используют одних и тех же животных. Это применяют для подтверждения не случайности выбора стимула в лабораторных опытах (Хмелевская, Деулина, 1972; Бастаков, 1991), изучения развития поведения (Shakhparonov, Ogurtsov, 2005) и демонстрации способности амфибий к обучению при решении пространственных задач (Adler, 1980; Landreth, Ferguson, 1968; Landreth, Christensen, 1971). Это бывает, в полевых опытах по пространствен-

ной ориентации, когда экспериментатор ограничен небольшой группой животных из-за их малой численности или трудоемкости производимой над этими животными операции (Dole, 1972, 1972a; Rathbun, Schneider, 2001; Шахпаронов, Огурцов, 2008). Во всех случаях на результат эксперимента будет влиять неоднократное использование тех же животных. Обучение, полученное в предыдущем эксперименте, и/или беспокойство, связанное с часто повторяющейся процедурой проведения опытов, может сказаться на ориентационных способностях животных и их мотивации. И если в лабораторных опытах влияние этих факторов изучено довольно хорошо и может быть учтено или снижено в условиях контролируемой среды (например, сменой расположения предлагаемых ориентиров в опыте), то в полевых условиях контролировать их эффект сложно. Данный вопрос имеет важное фундаментальное и методическое значение, поскольку позволяет раскрыть процесс обучения у амфибий и дает возможность понять, можно ли адекватно использовать данные, полученные от животных, ранее участвовавших в других опытах. Цель данной работы изучить влияние повторности проведения опыта на поведение бесхвостых амфибий в полевых экспе-

риментах по пространственной ориентации. Планировали изучить изменение поведения лягушек при повторных выпусках на одном и том же месте и выпуске животных каждый раз в новом месте и различия в поведении лягушек, участвующих в опыте впервые и участвовавших ранее в других экспериментах. В качестве объекта выбрана озерная лягушка (*Rana ridibunda* Pall), которая благодаря своим крупным размерам и широкому распространению является удобным модельным видом.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проведены в 2006, 2007 и 2011 г. в окрестностях Звенигородской биостанции им. С.Н. Скадовского (Одинцовский р-н Московской обл.). Лягушек отлавливали в очистных прудах дома отдыха “Мирный” (координаты прудов: 55°42'3.7" с.ш., 36°42'7.8" в.д.). Это четыре близкорасположенных водоема общей площадью 50 × 82 м<sup>2</sup>, находящиеся на правом берегу р. Москва в 50–60 м от ее русла. Кроме того, часть лягушек отловлена в пруду, расположенном недалеко от г. Коломна (юго-восток Московской обл., в 150.9 км от Звенигородских прудов, координаты водоема: 55°00'41.2" с.ш., 38°45'13" в.д.). Лягушки коломенской популяции были использованы как контрольные, незнакомые с местностью и водоемами животные. Всего проведено 16 опытов с 60 лягушками (5 опытных групп).

Определение видовой принадлежности лягушек, проводили по 5 морфологическим индексам (Lada et al., 1995). Для подтверждения правильности идентификации пары особей каждой популяции исследованы методом проточной ДНК цитометрии в Институте цитологии РАН.

### Схема опыта и обработка данных

Для проведения опытов лягушек отлавливали в водоеме, измеряли длину и массу тела, определяли пол и выпускали на определенном расстоянии от водоема. Лягушек переносили в непрозрачном закрытом кане, который периодически вращали, чтобы нарушить кинестетическую память лягушек. Траектории движения лягушек изучали методом “тропления по нити”. Для этого на спине лягушки при помощи пояска закрепляли контейнер, где была шпулька с нитью. В начале эксперимента свободный конец нити привязывали к колышку. При движении лягушки нить разматывалась и фиксировала пройденный путь. Данное устройство было разработано для черепах американской исследовательницей Рут Бредер (Breder, 1927) и адаптировано Джимом Доулом (Dole, 1965) для бесхвостых амфибий. Мы использовали его усовершенствованный вариант (Шахпаронов, Огурцов, 2008). Вес устройства 4 г,

длина нити 60–70 м. Масса озерных лягушек, взятых для опытов, в среднем 70 г (64–80 г) для самцов и 90 г (68–100.5 г) для самок; таким образом, вес устройства составлял 6% от массы самой легкой из лягушек. Лягушек выпускали в 22–23 ч, т.к. ночью влажность выше, чем днем, и лягушки чувствуют себя более комфортно. В 9–10 ч по размотанной нити находили лягушку и картировали ее маршрут. Определяли азимут от начальной точки движения лягушек на конечную, перемещение ( $|S|$ ) (расстояние от начальной до конечной точки маршрута по прямой) и длину пройденного пути ( $L$ ) (длина размотанной нити). Кроме того, вычисляли показатель прямолинейности маршрута ( $K$ ),  $K = |S|/L$ . Значения  $K$  лежат в интервале от 0 до 1; чем прямолинейнее двигалась лягушка, тем ближе значение  $K$  к единице.

Кроме того, маршрут подразделяли на две части: “начальный отрезок” и “конечный отрезок”. Начальный отрезок маршрута – это наиболее искривленная часть траектории движения лягушки, на которой она, по всей видимости, определяет нужное направление, после чего ее движение становится целенаправленным и более прямолинейным. Конечный отрезок – часть маршрута, где лягушка движется целенаправленно и практически прямолинейно (Шахпаронов, Огурцов, 2008). Так как начальный отрезок отражает процесс ориентации лягушки на местности и показывает, сколько она проходит прежде чем выбирает окончательное направление движения, определение его размеров представляет большой интерес.

Размер начального отрезка маршрута рассчитывали по изменению показателя прямолинейности маршрута  $K$  на протяжении всего пройденного лягушкой пути. Для этого маршрут лягушки разбивали на равные трехметровые отрезки, затем вычисляли перемещение и величину  $K$  для первого (трехметрового) отрезка маршрута, затем – шестиметрового, девятиметрового и так далее. В итоге получали серию значений показателя прямолинейности маршрута  $K$ , соответствующую последовательному приращению траектории на выбранный длину шага в 3 м. Конец начального отрезка маршрута устанавливали по наименьшему значению  $K$  (Шахпаронов, Огурцов, 2008).

Однако значение «начального отрезка» маршрута определяется таким способом достаточно грубо (с точностью до 3 м), поэтому в данной работе уточняли длину начального отрезка. Для этого мы исследовали изменения значения  $K$  на трехметровых отрезках, находящихся до и после точки, определенной предыдущим алгоритмом. При этом эти трехметровые отрезки разбивали на более мелкие длиной 0.5 м. Полученное уточненное значение начального отрезка умножали на поправку спрямления маршрута и получали окончательную длину начального отрезка маршрута. Последняя процедура (поправка спрямле-

ния маршрута) вызвана тем, что, картируемые маршруты лягушек описываются ломаными линиями. В итоге сумма отдельных отрезков всегда немного меньше (в среднем на 5%) истинной длины маршрута лягушек (измеренной по длине размотанной нити). Вычисленная по ломаной линии длина начального отрезка меньше истинной. Поправка спрямления маршрута равна отношению длины маршрута к длине ломаной линии, которой его описали.

Длина конечного отрезка равна длине маршрута с вычтенной длиной начального отрезка; показатель прямолинейности ( $K$ ) вычисляли для обеих частей маршрута.

Для построения и анализа траекторий движения лягушек использовали программу GPS Tracker 13.7 (Geo Studio Technology).

Для оценки статистической значимости отличия распределения азимутов движения лягушек от равномерного распределения применяли критерий Рейли (Rayleigh test) (Lehner, 1996). Для сравнения результатов двух опытов использовали  $F$ -критерий Уотсона (Watson-Williams  $F$ -test) (Lehner, 1996) и критерий Уотсона  $U^2$  (Watson's  $U^2$  Test). Вычисления проводили, используя программу Oriana 2.0 (Kovach Computer Services). Для оценки статистической значимости различий между направлением на водоем (ожидаемое направление) и направлением движения лягушек использовали метод сравнения ожидаемого направления с 95% доверительным интервалом среднего вектора направлений движения лягушек (Lehner, 1996). В остальных случаях для анализа линейных параметров маршрута применяли непараметрические критерии: критерий Манна-Уитни и Краскела-Уоллеса (для попарного и множественного сравнения независимых выборок, соответственно); критерий Вилкоксона для сопряженных пар и критерий Фридмана (для попарного и множественного сравнения выборок, содержащих одних и тех же животных). Для расчета этих критериев использована программа Statistica 6.0 (StatSoft Inc.). При проверке всех статистических гипотез величину уровня статистической значимости приняли равной 0.05.

## ЭКСПЕРИМЕНТЫ

### Повторные выпуски одних и тех же особей в одном и том же месте

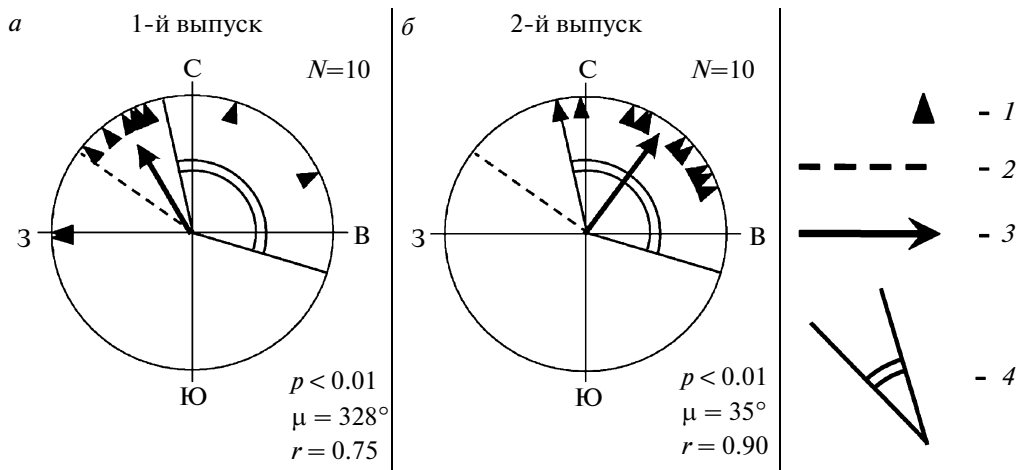
Две серии таких экспериментов проведены с лягушками звенигородской популяции. Первая серия экспериментов (2 опыта) проведена в начале июня (период нереста) на заброшенном футбольном поле на юго-востоке от очистных прудов. В первом опыте группу из 10 лягушек (9 самцов и 1 самка) выпустили на расстоянии 150–180 м от прудов и 90–100 м к юго-западу от р. Москва.

Во втором опыте, проведенном через сутки, тех же особей выпустили повторно. Причем, каждую лягушку выпускали на том же самом месте, что и в предыдущий раз. Каждый из опытов длился 11–12 ч. В промежутке между ними лягушек уносили в лабораторию ЗБС МГУ в контейнере, который вращали вокруг своей оси для нарушения кинестетической памяти. Погода в период проведения опытов была одинакова: средняя температура воздуха 11.1 и 12.8°C (минимальная 8.1 и 8°C), средняя относительная влажность воздуха 63 и 75% (минимальная 43 и 55%), соответственно.

Вторая серия экспериментов (5 опытов) проведена в конце августа–начале сентября и приходилась на второй пик брачной активности. В первом опыте, проведенном 28 августа 10 лягушек (5 самцов и 5 самок), были выпущены на поле у дер. Аниково в 350 м к северо-западу от прудов и 120 м к юго-западу от р. Москва. Вторым и третьим опыты были проведены там же 29 и 30 августа соответственно. В четвертом опыте (1 сентября) лягушек перенесли на новое место, расположенное на поле в 4000 м к востоку от прудов и 950 м к югу от р. Москва. Пятый опыт был проведен снова на поле в 350 м от прудов 5 сентября, т.е. там же, где лягушек выпускали в 1, 2 и 3-й раз. Во время опытов средняя температура воздуха колебалась незначительно: от 7.8 до 11.1°C (минимальные температуры от 5 до 8°C), средняя относительная влажность воздуха колебалась от 77 до 91% (минимальная 52–75%).

### Выпуск одних и тех же особей в разных местах

Ранее нами были получены данные о поведении лягушек, которых выпускали последовательно в 150, 350, 15–20, 4000, 2000 м от прудов в период ухода на зимовку (Шахпаронов, Огурцов, 2008). В этих опытах лягушки выбирали северное или северо-восточное направление движения, соответствующее направлению ухода на зимовку, даже вблизи от нерестовых прудов, где они были отловлены до проведения опытов, и в открытом поле вдали от всех водоемов. Не исключено, что данное направление лягушки могли выучить во время первых двух опытов, проведенных в 150 и 350 м от прудов, где они, вполне возможно, шли к ближайшему водоему (реке) и поэтому после выбирали такое же направление в остальных опытах. Мы провели 2 опыта, в которых 14 лягушек (9 самцов и 5 самок) было отловлено и выпущено в 15–20 м от очистных прудов и 30–70 м от р. Москва (их зимовочного водоема), а 10 лягушек (5 самцов и 5 самок) отловлены и выпущены в 4000 м от очистных прудов и 950 м от р. Москва. Выбор этих мест выпуска обусловлен тем, что они являются ключевыми в изучении поведения озерной лягушки, т.к. в 15–20 м от прудов зимовочный водоем, куда должны идти лягушки, нахо-



**Рис. 1.** Направления движения лягушек звенигородской популяции в повторных опыта, проведенных в 150–180 м от прудов и 80–95 м от р. Москва: *a* – первый опыт *б* – второй опыт.

*1* – направление движения особи; *2* – направление на пруды; *3* – средний вектор направления движения лягушек (длина стрелки отражает степень дисперсии направлений); *4* – сектор направлений на р. Москва;

*N* – число особей, *p* – вероятность распределения направлений движения лягушек (критерий Рейли);  $\mu$  – средний вектор; *r* – длина среднего вектора.

дится на вдвое большем расстоянии, чем бывшие нерестовые пруды, где лягушки были отловлены для опыта. В проведенном ранее опыте в 4000 м от прудов лягушки направлялись к зимовочному водоему (Шахпаронов, Огурцов, 2008). Важно было проверить, действительно ли во время ухода на зимовку лягушки в отсутствие ориентиров начинают выбирать компасное направление или это результат их обучения. Во время опытов средняя температура воздуха была 7.9–9.2°C (минимальная 7.1–7.7°C), а средняя относительная влажность воздуха 84–91% (минимальная 67–89%). Кроме того, для исследования влияния фактора повторности проведения опыта проведен ряд экспериментов с 16 лягушками (9 самцов и 7 самок), отловленными вблизи г. Коломна. Животных выпускали последовательно в 150, 350, 15–20, 4000 и 2000 м от прудов, как и лягушек звенигородской популяции. В отличие от последних они не были знакомы с местностью и окружающими водоемами. Средняя температура воздуха во время опытов колебалась в пределах от 4 до 13.1°C (минимальная температура 1.6–12.4°C), средняя относительная влажность воздуха колебалась от 81 до 95% (минимальная 61–79%).

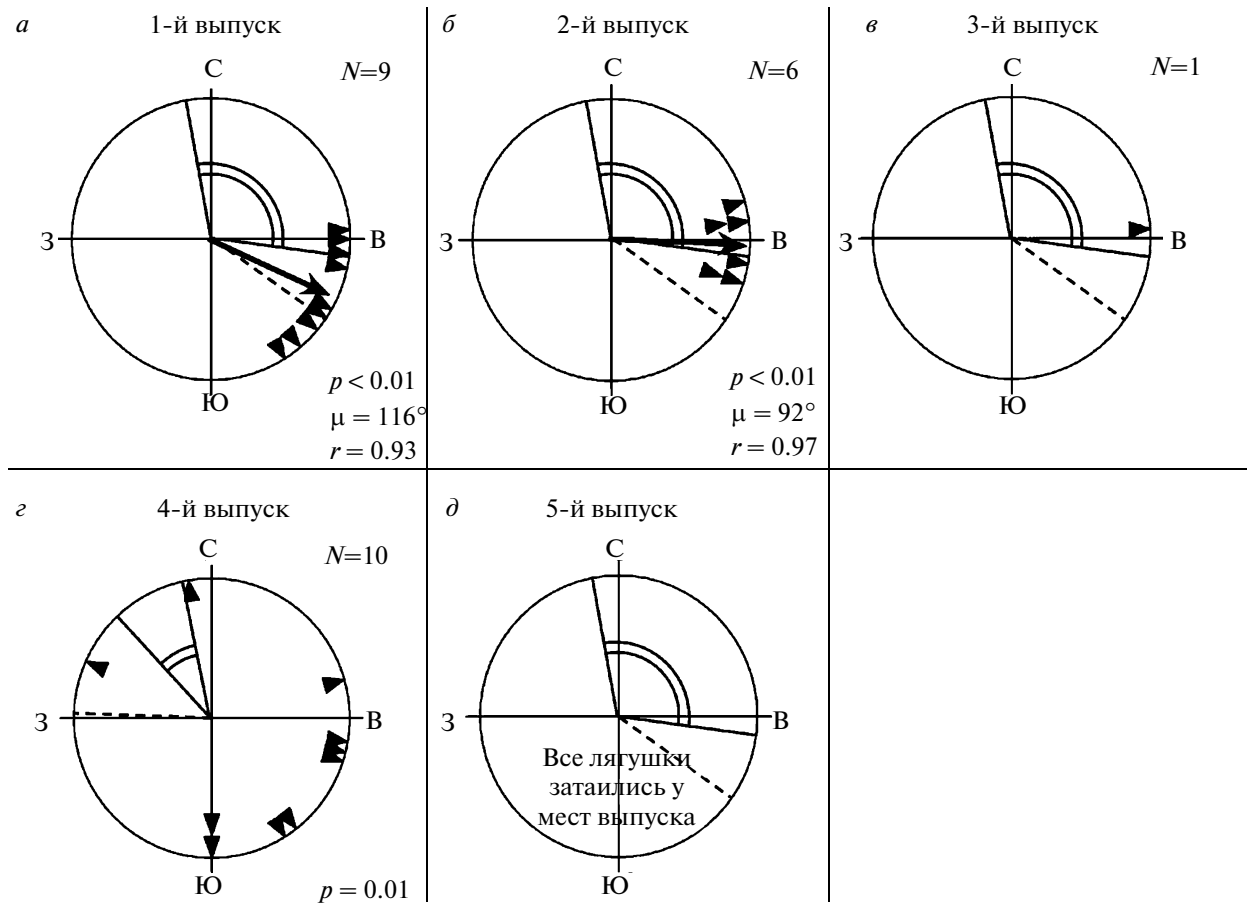
## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Повторные выпуски одних и тех же особей в одном и том же месте

В обоих случаях – и на футбольном поле (150–180 м от прудов), и на поле у д. Аниково (350 м от прудов) – лягушки во втором опыте при повторном выпуске на старом месте изменили направление своего движения: если в первом опыте боль-

шая часть лягушек шла к прудам, то во втором – все шли в сторону реки (различия в направлении движения статистически значимы: 350 м от прудов  $F = 15.215$ ,  $p < 0.01$  и 150–180 м от прудов  $F = 4.768$ ,  $p = 0.048$  согласно F-критерию Уотсона) (рис. 1; рис 2*a*, 2*б*). При этом в обоих случаях произошло уменьшение разброса направлений движения лягушек. Активность лягушек была довольно высокой: только 3 особи (из 20) затаились на месте выпуска во втором опыте, проведенном в 350 м от очистных прудов.

В третьем выпуске лягушек на том же месте (3 опыт в 350 м от прудов) только одна лягушка из 10 прошла 23 м к реке (рис. 2*в*). Остальные остались на своих местах или прошли 1–2 м и затаились. Данное поведение нельзя интерпретировать как следствие погоды, т.к. она все эти дни была примерно одинаковой. Возможно, затаивание могло быть следствием утомления от ношения рюкзака или беспокойства от повторных манипуляций с лягушками во время выпуска. Однако в ранее проведенных опытах, когда лягушек каждый раз выпускали на новом месте, такого массового затаивания не было (Шахпаронов, Огурцов, 2008). Для проверки ранее полученных данных в четвертый раз лягушек выпустили на поле в 4 км от прудов и 950 м от реки. Все лягушки прошли значительное расстояние, и их подвижность была такой же, как и в первом выпуске ( $p = 0.68$ , согласно критерию Вилкоксона). Общего направления движения у них не было (рис. 2*г*), что вполне характерно для лягушек, которых выпустили вдали от всех водоемов в период брачной активности (Шахпаронов, Огурцов, 2008). Когда в пятом опыте лягушек вернули на поле у д. Аниково в 350



**Рис. 2.** Направления движения лягушек звенигородской популяции в повторных выпусках: *а, б, в, д* на поле у д. Аниково в 350 м от прудов и в 120 м от реки; *г* на поле в 4000 м от прудов и в 950 м от реки. *N* – число активных, не затаившихся рядом с местом выпуска, лягушек (из 10 участвовавших); остальные обозначения как на рис. 1.

м от прудов, все они снова затаились рядом с местом выпуска.

Для анализа изменений линейных параметров маршрута лягушек (длина, прямолинейность маршрута и длина начального отрезка маршрута) в повторных выпусках на одном и том же месте использовали данные только первых двух опытов, где было достаточное число активных особей. Для анализа изменений исследуемых параметров в опытах использовали критерий Вилкоксона для сопряженных пар. В связи с тем, что такой фактор как место выпуска в пределах одной пары сравниваемых значений не изменяется, мы вправе объединить для анализа опыты, проведенные в 150–180 м 350 м от прудов, в одну выборку. Анализ не выявил статистически значимых различий в длине пройденного лягушками пути ( $p = 0.19$ ), прямолинейности маршрута ( $p = 0.26$ ) и длине начального отрезка маршрута ( $p = 0.99$ ) между первым и вторым выпуском на одном и том же месте.

Таким образом, в проведенных опытах с лягушками звенигородской популяции при повторном выпуске на том же месте лягушки меняют на-

правление движения в сторону своего водоема на направление к ближе расположенной р. Москва. Изменений в линейных параметрах маршрута не обнаружено.

### Выпуски одних и тех же лягушек в разных местах

#### Активность лягушек

Ранее отмечалось, что при повторных выпусках одних и тех же лягушек на одном и том же месте они начинают затаиваться уже с третьего выпуска. При выпусках лягушек в разных местах такого явления не отмечено (таблица). Можно предположить, что при каждом последующем выпуске двигательная активность лягушек будет уменьшаться (стресс от ношения рюкзака или самой процедуры выпуска). Для проверки этого предположения осенние данные, полученные при исследовании звенигородских и коломенских лягушек, были объединены, т.к. в обоих случаях мы располагаем пятью последовательными выпусками одних и тех же животных в разных местах, а разница в месте отлова лягушек не сказывается на их дви-

Число затаившихся лягушек в экспериментах с одними и теми же особями

Лягушек выпускали		Последовательность выпусков				
		1	2	3	4	5
Каждый раз в том же месте*	<i>N</i> общее	10	10	10	10	9
	<i>N</i> зат 1	0 (0%)	3 (30%)	9 (90%)	10 (100%)	7 (78%)
	<i>N</i> зат 2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (22%)
	<i>N</i> зак.	1 (10%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Каждый раз в новом месте**	<i>N</i> общее	31	29	29	27	26
	<i>N</i> зат 1	0 (0%)	2 (6.9%)	1 (3.4%)	0 (0%)	3 (11.5%)
	<i>N</i> зат 2	3 (9.7%)	2 (6.9%)	3 (10.3%)	1 (3.7%)	3 (11.5%)
	<i>N</i> зак.	1 (3.2%)	0 (0%)	1 (3.4%)	1 (3.7%)	0 (0%)

Примечание: *N* – количество особей; зат 1 – лягушки, затаившиеся сразу у места выпуска; зат 2 – лягушки, прошедшие небольшое расстояние (от 5 до 13 м) и затаившиеся; зак – заклинивание катушки в рюкзачке, что не позволяет лягушке сдвинуться с места.

\* Опыты, проведенные в 2007 г. с конца августа по начало сентября. Лягушек выпускали на поле у д. Аниково в 350 м от прудов. Показаны только выпуски, проведенные на этом поле.

\*\* Опыты, проведенные в 2004 и 2006 гг. с середины по конец сентября со звенигородскими и коломенскими лягушками. Выпуски проводили на расстоянии 150, 350, 15–20, 4000, 2000 м от прудов.

Жирным шрифтом в скобках указана доля активных особей от общего числа выпущенных.

гательной активности (статистически значимых различий в длине пути, пройденном звенигородскими и коломенскими лягушками в первом опыте нет:  $p = 0.1$ , по критерию Манна-Уитни). При анализе исключали только те случаи, когда прекращение движения лягушки было связано с неисправностью рюкзачка, а “затаивание” рассматривали как снижение активности в результате повторных опытов.

Анализ, проведенный при помощи критерия Фридмана, показывает отсутствие значимых различий в длине пути лягушек в разных выпусках ( $N = 23$ ,  $df = 4$ ,  $H = 3.459$ ,  $p = 0.48$ ) (рис. 3). Во всех опытах участвовали только 23 особи. Таким образом, лягушки, выпускаемые каждый раз в новом месте, не затаиваются, и их двигательная активность не снижается.

#### Выбор направления и линейные параметры маршрута

В 15–20 м от прудов лягушки, участвовавшие и не участвовавшие ранее в опытах, имели одинаковое поведение: животные в обеих группах двигались к р. Москва (рис. 4) (статистически значимых различий в направлении движения и разбросе выбираемых направлений, нет:  $F = 0.954$ ,  $p = 0.33$ , по *F*-критерию Уотсона и  $U^2 = 0.058$ ,  $p = 0.5$ , по критерию Уотсона  $U^2$  соответственно). В 4000 м от прудов все лягушки (участвовавшие и не участвовавшие ранее в опытах) двигались в северо-восточном направлении (рис. 4) (статистически значимых различий в направлении движения и в разбросе выбираемых направлений нет:  $F =$

$= 0.117$ ,  $p = 0.74$  и  $U^2 = 0.027$ ,  $p = 0.5$ , соответственно). Таким образом, повторность выпуска не влияла на выбор направления движения лягушек, если их каждый раз выпускали в новом месте. Однако отмечено, что лягушки, которых ранее использовали в других опытах, передвигались более прямолинейно, чем только что пойманные. Так, в выпусках в 15–20 м от прудов эти различия статистически значимы, а в выпусках в 4000 м от прудов близки к статистически значимым (рис.

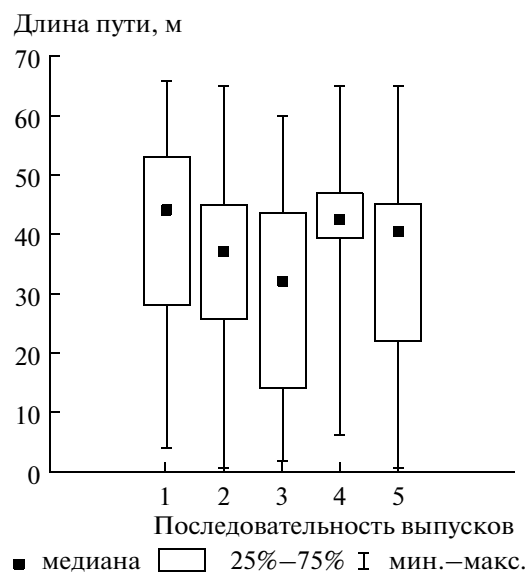
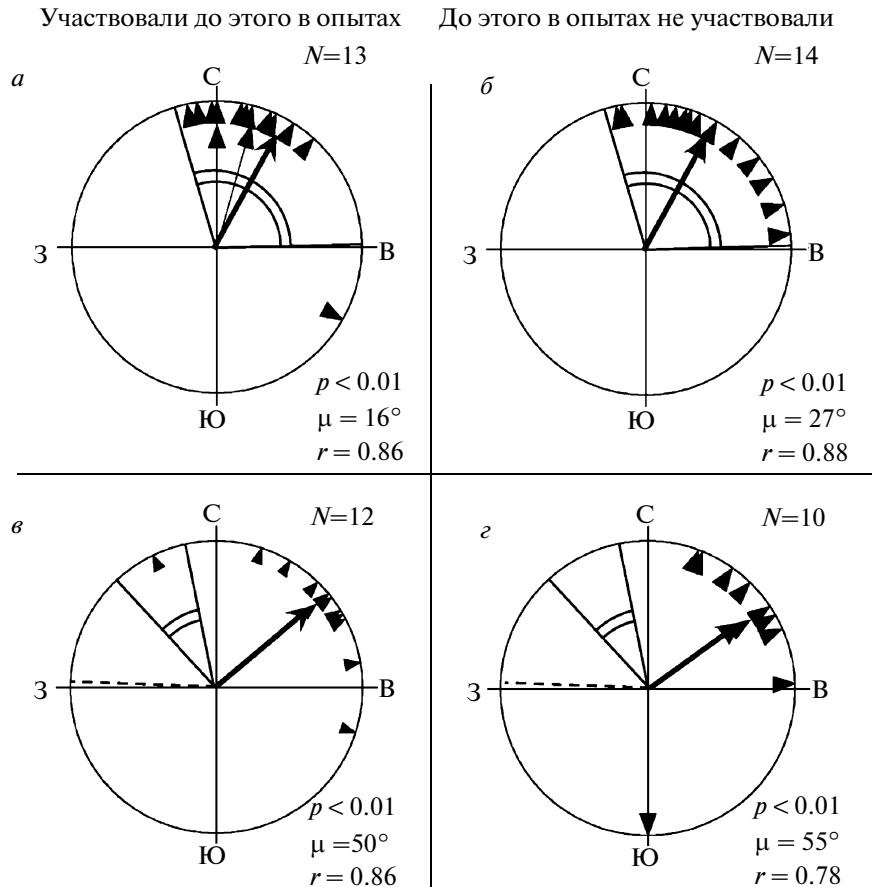


Рис. 3. Длина пути лягушек ( $N = 31$ ) в повторных экспериментах (сентябрь, объединенные данные по звенигородским и коломенским популяциям).



**Рис. 4.** Направление движения лягушек, ранее участвовавших и не участвовавших в других опытах: *a, б* – опыты, проведенные в 15–20 м от прудов и 30–70 м от р. Москва; *в, з* – опыты, проведенные в 4000 м от прудов и 950 м от р. Москва; остальные обозначения как на рис. 1.

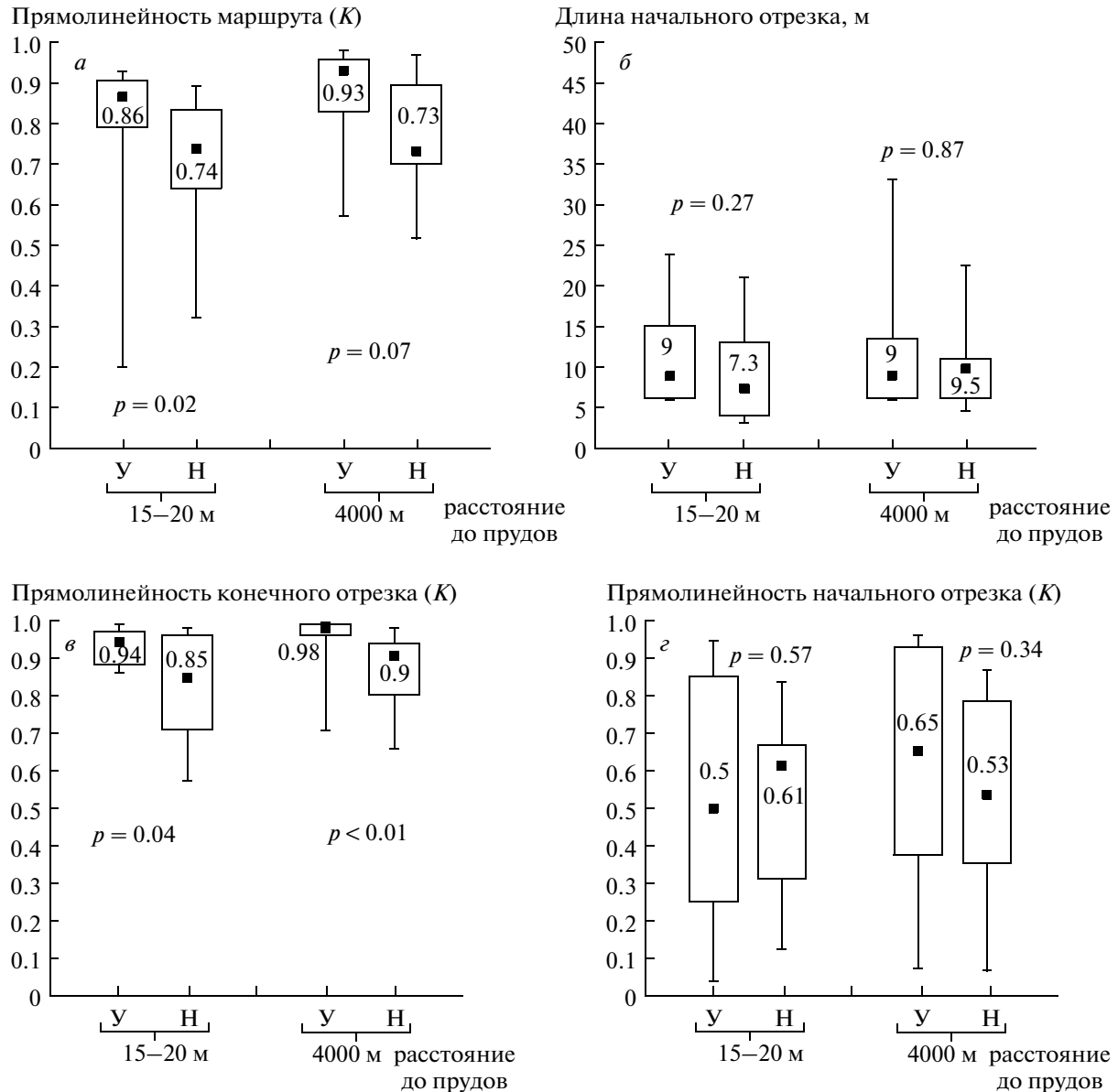
5а). Длина начального отрезка маршрута в опытах не различалась (рис. 5б).

При детальном анализе маршрута лягушек установлено, что прямолинейность начального отрезка маршрута у только что пойманных лягушек и лягушек, уже участвовавших в других экспериментах, статистически значимо не различается (рис. 5з). Таким образом, начальные отрезки у этих двух групп животных не различались по обоим параметрам. Остальная часть маршрута (конечный отрезок) была статистически значимо более прямолинейна у особей, участвовавших ранее в экспериментах (рис. 5в).

Таким образом, в период ухода на зимовку, начиная с третьего выпуска, лягушки, участвующие в повторных опытах, двигаются более прямолинейно, чем впервые участвующие в опыте (рис. 6). Сходное изменение наблюдали в опытах с лягушками, привезенными из Коломны и не знакомыми с водоемами и местностью в местах выпуска (рис. 6). Поэтому для статистической обработки данные, полученные от звенигородской и коломенской популяции, могут быть объединены.

Анализ, проведенный с использованием критерия Фридмана, показывает, что при увеличении числа опытов лягушки начинают двигаться более прямолинейно ( $N = 15$ ,  $df = 4$ ,  $H = 12.053$ ,  $p < 0.016$ ). Меньшее число особей обусловлено тем, что во всех выпусках приняли участие и были достаточно активны только 15 особей из 31.

Определяли, становится ли маршрут лягушек более прямолинейным уже при втором выпуске. Контрольный опыт не применяли, считая его не обязательным. На основании имеющихся в нашем распоряжении данных определяли, изменяется ли прямолинейность маршрута в период ухода на зимовку в зависимости от расстояния до водоемов. Использованы полученные в ходе этой работы данные о поведении лягушек, выпущенных в 15–20 м от прудов и 30–70 м от реки, и лягушек, выпущенных в 4000 м от прудов и 950 м от реки, а также ранее опубликованные данные о поведении лягушек, выпущенных в 150 м от прудов и 80–95 м от реки (Шахпаронов, Огурцов, 2008). Анализ полученных данных показал, что в этих трех опытах лягушки не имеют статистически значимых различий по прямолинейности



**Рис. 5.** Различия в маршрутах лягушек, участвующих в эксперименте впервые, и лягушек, выпущенных ранее в другом месте (15–20 и 4000 м от прудов, сентябрь): а – общая прямолинейность маршрута, б – длина начального отрезка, в – прямолинейность конечного отрезка, з – прямолинейность начального отрезка маршрута лягушек; У – лягушки, ранее участвовавшие в других экспериментах; Н – лягушки, ранее в других экспериментах не участвовавшие;  $p$  – вероятность отсутствия различий между группами (критерий Манна-Уитни); остальные обозначения как на рис. 3.

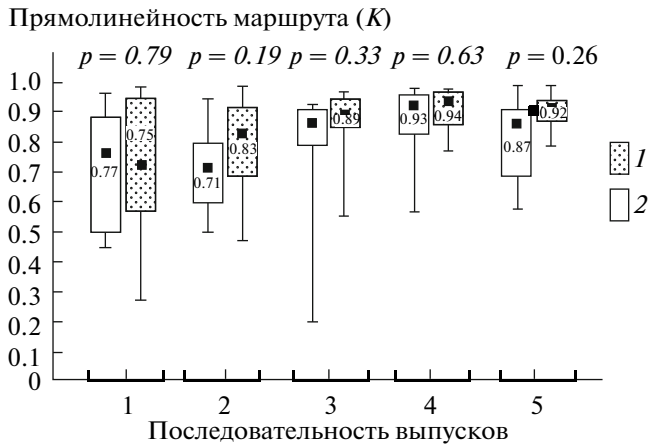
маршрута (согласно критерию Краскела-Уоллеса  $N = 39$ ,  $df = 2$ ,  $H = 0.399$ ,  $p = 0.74$ ). Следовательно, осенью прямолинейность маршрута лягушек не зависит от расстояния до водоемов и места выпуска. Для того чтобы выяснить, происходит ли спрямление маршрута во втором опыте, мы сравнили второй опыт с первым, проведенным с этими же лягушками, не учитывая место выпуска и расстояние до водоемов. Для увеличения выборки опыты, проведенные с лягушками звенигородской и коломенской популяций, объединены. Во втором выпуске прямолинейность маршрута ля-

гушек по сравнению с первым выпуском не изменяется ( $p = 0.82$ , согласно критерию Уилкоксона для сопряженных пар).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные опыты показывают, что повторность опыта может оказывать влияние на поведение озерной лягушки. При повторном выпуске лягушек на том же самом месте наблюдается смена мотивации.





**Рис. 6.** Прямолинейность маршрутов лягушек звенигородской (1,  $N = 15$ ) и коломенской (2,  $N = 16$ ) популяций в повторных выпусках:  $p$  – вероятность отсутствия различий между группами (критерий Манна-Уитни).

Данные опыты проведены в Звенигороде в периоды первого и второго пиков брачной активности, когда лягушки мотивированы возвращаться в свои нерестовые пруды. При повторном выпуске на том же месте животные выбирали направление в сторону ближайшего водоема, а при третьем и последующем выпусках в том же месте теряли мотивацию к поиску водоема и затаивались. По нашему мнению, такое изменение поведения связано с отсутствием подкрепления действий лягушки в опытах. Можно представить это следующим образом. В случае, когда лягушку возвращают на прежнее место (обстановка опыта – элементы местности – не меняется), лягушка предпринимает новую попытку, но теперь она стремится быстрее попасть к воде (как к укрытию или источнику влаги). Если поблизости находится водоем, она устремляется в него, как мы и наблюдали в проведенных опытах со звенигородскими лягушками. Если обнаружить ближе расположенный водоем не удается, лягушка может повторить попытку, предпринимая ей в предыдущем эксперименте (пойти к тому же самому водоему). Вероятно, именно такой случай был отмечен нами ранее в опытах с лягушками из южной популяции в Досанге (Шахпаронов, 2011). Если вторая попытка безуспешна, то лягушка прекращает дальнейшие попытки и затаивается. Однако в опытах, когда лягушек выпускали каждый раз на новом месте, подобного изменения мотивации не было, хотя они и в этом случае не достигали водоема. По-видимому, главным подкреплением действий лягушки является не достижение водоема, а продвижение в пространстве, которое она оценивает по смене окружающей обстановки. Это подтверждает тот факт, что лягушки, которые уже начали

затаиваться после третьего выпуска при смене места проведения опыта, снова стали активными.

Реакция затаивания у лягушек, связанная с тем, что предпринимаемые действия не приносят результата, похожа на состояние выученной беспомощности, известное у разных представителей млекопитающих и рыб (Maier, Seligman, 1976; Chourbaji et al., 2005). При изучении этого феномена животных помещали в закрытую камеру, где они испытывали постоянный стресс под воздействием разрядов электрического тока. При повторном помещении в такую камеру животные не предпринимали попыток выбраться из нее, даже если им давали такую возможность, или выбирались из камеры значительно позже, чем контрольные животные, не подвергавшиеся стрессу. Таким образом, полученные результаты показывают на возможность существования состояния выученной беспомощности у амфибий и делают перспективным его изучение.

Поведение, описанное выше, свидетельствует о том, что лягушки способны запоминать место выпуска и ассоциировать с этой точкой пространства происходившие с ними события. Такое запоминание, по-видимому, происходит очень быстро. Смена мотивации (переключение с поиска своего водоема на поиск ближайшего) отмечена во втором запуске; а если считать завершенным обучением “затаивание”, оно начинается с третьего опыта. Память о неблагоприятной обстановке, из которой животное не могло выбраться, сохранялась, по крайней мере, 7 дней и была достаточно устойчивой: если животных перемещали на новое место выпуска, где они вели себя активно, при возвращении на первое место выпуска они снова затаивались.

В литературе о поведении амфибий отмечено, что они могут обучаться “некоторым вещам” очень быстро. Например, лягушки, в том числе озерная, обучаются не есть неприятные на вкус объекты после однократного схватывания (Мантейфель, 1977), что указывает на хорошее обучение бесхвостых амфибий, запоминать и зрительно распознавать несъедобные объекты. Кроме того, быстрое обучение было отмечено некоторыми исследователями и в опытах по ориентации. Так, американские чесночницы *Scaphiopus bombifrons* запоминают компасное направление к укрытию (коробочка с влажной землей) в линейном лабиринте уже с третьего раза и могут правильно выбрать это направление потом в круглой арене, ориентируясь по солнцу (Landreth, Christensen, 1971), а жабы *Bufo woodhousei fowleri* запоминают такое направление с девятого раза (Landreth, Ferguson, 1968). Сверчковые квакши (*Acris gryllus*) способны выучивать новое направление Y-оси (ось, перпендикулярная береговой линии, показывающая направление с глубоких частей водоема на берег) всего за 3 ч (Ferguson et al., 1965). Ля-

гушки *Rana clamitans* в течение дня запоминали положение убежища относительно других ориентиров (Adler, 1980), а древолазам (*Colostethus palmatus*) необходимо всего 8 дней для того, чтобы найти подходящее убежище и выучить его расположение относительно похожих, но не совсем подходящих убежищ (Lüddecke, 2003). Таким образом, наши данные не противоречат уже имеющимся и существенно их дополняют, поскольку показывают, что бесхвостые амфибии способны запоминать как местность, так и ситуацию, связанную с их предыдущим пребыванием на этой местности. По каким конкретно параметрам происходит запоминание местности, пока сказать сложно, но полученная модель дает хорошие перспективы для изучения этого вопроса.

При постоянной смене места выпуска лягушки ориентируются (выбирают направление) в целом так же, как и участвующие в эксперименте однократно. И в этом случае отмечен элемент обучения: лягушки начинают лучше поддерживать выбранное направление движения, двигаясь более прямолинейно. Это проявляется уже при третьем выпуске. Поведение на начальном этапе ориентации, связанное с выбором окончательного направления движения, у лягушек, участвовавших ранее в других экспериментах, в целом не отличается от поведения лягушек, впервые участвующих в опыте. Другими словами, участие в экспериментах, по-видимому, не повышает способности лягушек к выбору направления, а улучшает их способность поддерживать выбранное направление вероятнее всего за счет тренировки вестибулярного аппарата. Если бы в этом процессе были задействованы глобальные ориентиры, их использование значительно сокращало бы начальный отрезок у «тренированных лягушек» в опытах, проведенных вдали от всех водоемов, когда животные вынуждены полагаться только на глобальные системы ориентации, такие как солнечный и магнитный компасы. Возможность использования кинестетической памяти для поддержания траектории была показана Крейгом Адлером на *Rana clamitans* (Adler, 1980).

Поскольку в случаях, когда выпускали одних и тех же лягушек каждый раз в новом месте не было замечено их массового затаивания и уменьшения двигательной активности от первого опыта к последнему, можно заключить, что стресс, связанный с процедурой опыта, незначителен и не вызывает ухудшения состояния лягушек.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные опыты, показывают, что при нескольких повторных выпусках на одном и том же месте лягушки во втором выпуске изменяют направление своего движения к другому водоему, а начиная с третьего опыта, они затаиваются на ме-

сте выпуска, что напоминает явление выученной беспомощности, описанное для других животных. Это показывает, что лягушки способны запоминать как местность, так и ситуацию, связанную с их предыдущим пребыванием в этой обстановке. Данная память образуется очень быстро при одном–двух повторях опытной ситуации и сохраняется у лягушек минимум в течение недели.

При выпуске лягушек каждый раз на новом месте (например, в период ухода на зимовку), по выбору направления движения они не отличаются от лягушек, ранее не участвовавших в других опытах. Начиная с третьего выпуска, маршрут лягушек становится более прямолинейным за счет того, что они начинают лучше поддерживать выбранное направление движения. Результаты второго опыта можно использовать без ограничений и поправок.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит директора Звенигородской биологической станции им. С.Н. Скадовского, В.М. Гаврилова за предоставленную возможность работать на станции и А. П. Жмылёву за предоставление метеорологических данных для района исследования. Отдельную благодарность автор выражает С.Н. Литвинчуку (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург) за помощь в идентификации видовой принадлежности лягушек методом проточной цитометрии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бастаков В.А., 1991. Хемосенсорная ориентация бесхвостых амфибий на местности // Проблемы химической коммуникации животных. М.: Наука. С. 256–263.
- Мантейфель Ю.Б., 1977. Зрительная система и поведение бесхвостых амфибий. М.: Наука. 266 с.
- Хмелевская Н.В., Деулина Т.О., 1972. О роли обоняния в жизни бесхвостых амфибий // Зоол. журн. Т. 51. Вып. 5. С. 764–767.
- Шахпаронов В.В., 2011. Особенности ориентационного поведения при поиске водоема у озерной лягушки (*Rana ridibunda* Pall.) из южных популяций // Известия РАН. Сер. биол. № 5. С. 614–618.
- Шахпаронов В.В., Огурцов С.В., 2008. Сезонная и географическая изменчивость ориентационного поведения озерной лягушки, *Rana ridibunda* Pallas, при поиске своего водоема // Зоол. журн. Т. 87. № 9. С. 1062–1076.
- Adler K., 1980. Individuality in the use of orientation cues by green frogs // Animal Behaviour. V. 28. P. 413–425.
- Breder R.B., 1927. Turtle trailing: a new technique for studying the life habits of certain Testudinata // Zoologica. V. 9. № 4. P. 231–243.
- Chourbaji S., Zacher C., Sanchis-Segura C., Dormann C., Vollmayr B., Gass P., 2005. Learned helplessness: Valid-

- ity and reliability of depressive-like states in mice // Brain Research Protocols. V. 16. P. 70–78.
- Dole J.W., 1965. Summer movements of adult leopard frog, *Rana pipiens* Schreber, in Northern Michigan // Ecology. V. 46. № 3. P. 236–255. — 1972. Homing and Orientation of Displaced Toads, *Bufo americanus*, to Their Home Sites // Copeia. V. 1972. № 1. P. 151–158. — 1972a. The role of olfaction and audition in the orientation of leopard frog, *Rana pipiens* // Herpetologica. V. 28. № 3. P. 258–260.
- Ferguson D.E., Landreth H.F., Turnipseed M.R., 1965. Astronomical Orientation of the Southern Cricket Frog, *Acris gryllus* // Copeia. V. 1965. № 1. P. 58–66.
- Grant D., Anderson O., Twitty V., 1968 Homing orientation by olfactory in newts (*Taricha rivularis*) // Science. V. 160. № 3834. P. 1354–1355.
- Lada G.A., Borkin L.J., Vinogradov A.E., 1995. Distribution, population systems and reproductive behavior of green frogs (hybridogenetic *Rana esculenta* complex) in the Central Chernozem Territory of Russia // Rus. J. Herpetol. V. 2. № 1. P. 46–57.
- Landreth H.F., Christensen M.T., 1971. Orientation of the plains spadefoot toad *Scaphiopus bombifrons*, to solar cues // Herpetologica. V. 27. № 4. P. 454–461.
- Landreth H.F., Ferguson D.E., 1968. The sun compass of fowler's toad, *Bufo woodhousei fowleri* // Behaviour. V. 30. P. 27–43.
- Lehner P.N., 1996. Handbook of ethological methods. Cambridge: Cambridge University Press. 672 p.
- Lüddecke H. 2003. Space use, cave choice, and spatial learning in the dendrobatid frog *Colostethus palmatus* // Amphibia-Reptilia. V. 24. P. 37–46.
- Maier S.F., Seligman M.E.P., 1976. Learned helplessness: theory and evidence // J. Exp. Psychol. Gen. V. 105. № 1. P. 3–46.
- Rathbun G.B., Schneider J., 2001. Translocation of California Red-Legged Frogs (*Rana aurora draytonii*) // Wildlife Society Bul. V. 29. № 4. P. 1300–1303.
- Shakhparonov V.V., Ogurtsov, S.V., 2005. Role of the native pond odour in the orientation of the green toad (*Bufo viridis* Laur.) young of the year // Herpetologia Petropolitana. P. 209–212.
- Sinsch U., 1987. Migratory behavior of the toad *Bufo bufo* within its home range and after displacement // Proc. 4th O.G.M. Societas Europea Herpetologica. Nijmegen. P. 361–364. — 1987a. Orientation behaviour of toads (*Bufo bufo*) displaced from the breeding site // J. Comp. Physiol. A. № 161. P. 715–727. — 1992. Amphibians // Animal Homing. L.: Chapman and Hall. P. 213–233.

## THE INFLUENCE OF REPEATED EXPERIMENTS ON THE BEHAVIOR OF THE MARSH FROG (*RANA RIDIBUNDA*) IN FIELD EXPERIMENTS OF SPATIAL ORIENTATION

V. V. Shakhparonov

Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119992, Russia  
e-mail: Wshakh@yandex.ru

The influence of repeated experiments on the behavior of the marsh frog (*Rana ridibunda* Pall.) was studied in field study of spatial orientation. The experiments were conducted near the Zvenigorod Biological Station of the Moscow State University (western Moscow region) in 2006, 2007, and 2011 (a total of 16 tests with 60 frogs (5 test groups)). Frogs were displaced at different distances from their ponds and tracked their movements using a “spool and line” tracking device (60 m of thread). In all the experiments, frogs did not reach the home pond or another water body. In the repeated experiments, in the second release on the same spot, frogs changed the direction of their movement towards another water body. From the third repeated test, frogs began to stop on the very spot of release during the whole experiment. This behavior resembles the phenomenon of “learned helplessness”, as described for other animals. These experiments show that frogs are able to memorize local cues of the vicinity. If the frogs were released every time in a new location, a freezing behavior was not recorded; the frogs did not differ in the choice of the direction of movement from individuals that were not previously involved into other experiments. Since the third test, the track of frogs became straighter, probably, due to the fact that they kept better the chosen direction.