

SŪNU KĀRPVARŽU VAIROŠANĀS ĪPATNĪBAS RĪGAS ZOOLOĢISKAJĀ DĀRZĀ



Ilze Duncce
MSc.biol. zoologs

Rīgas Zooloģiskais dārzs ir pasaulē otrā kolekcija, kur vairojas sūnu kārpvārdes (*Theloderma corticale*). No 1998. līdz 2001. gadam RNZD metamorfozi beidza 245 sūnu kārpvārdes, taču saskārāmies ar negaidītu problēmu - gandrīz visas izaugušās vārdes bija tēviņi (to vidū - tikai viena mātīte). Bija jāizaudzē arī mātītes, lai sugu uzturētu RNZD kolekcijā, tātad jānoskaidro, kas izsaucis tēviņu pārprodukciju. Vēl jo interesantāk, ka pēc vispārpieņemtā uzskata abiniekiem dzimums ir noteikts vienīgi ģenētiski, un literatūrā nav datu, ka kādai no abinieku sugām to noteiktu vides apstākļi. Sākām eksperimentēt ar dažādiem sūnu kārpvāržu ikru un kurkuļu attīstības apstākļiem. 2002. gadā 41 pēcnācēja vidū beidzot izauga piecas mātītes.

SŪNU KĀRPVARDES SAVVAĻĀ UN NEBRĪVĒ

Sūnu kārpvārde kā suga aprakstīta 1903. gadā, taču līdz pat 1995. gadam informācija par šo abinieku, tā izplatību, biotopu un dzīvesveidu bijusi visai trūcīga. Sūnu kārpvārdes sastopamas grūti pieejamos un mazizpētītos rajonos Dienvidaustrumāzijas kalnu rajonu tropu mežos, kur mitinās karsta alās, strautu krastos un tamlīdzīgās vietās (Ryboltovsky 1999). Sūnu kārpvārde ir aktīva naktīs, turklāt tās ķermeņa tumšzaļais krāsojums un vardēm neraksturīgi grumbuļainā āda to padara tik līdzīgu sūnu kušķim uz akmens, ka lieliski pasargā kā no dabiskajiem ienaidniekiem, tā pētītgrībētājiem.

Jādomā, ka šī interesantā abinieka nākotni apdraud tā dabisko dzīvesvietu tropu mežu iznīcināšana (J. Ribaltovskis, mutisks ziņojums). Tādēļ būtu vēlams radīt stabilu nebrīves populāciju, sugas saglabāšanā iesaistoties iespējami lielākam skaitam zooloģisko dārzu.

1996. gadā viens sūnu kārpvāržu pāris nonāca Vsevoložskas Zooloģiskā dārza Herpetoloģijas laboratorijā (Krievija), un pirmoreiz radās iespēja pētīt sugu nebrīves apstākļos, kā arī notika pirmā vairošanās nebrīvē. 1998. gadā RNZD saņēma septiņus šī pāra pēcnācējus, un jau pēc dažiem mēnešiem tie sāka nārstot. Līdz 2001. gadam suga vairojās tikai Vsevoložskā un RNZD, bet kopš 2002. gada - arī Detroitas Abinieku saglabāšanas centrā (ASV).

RNZD pirmajā vairošanas sezonā izauga 68 jaunās vārdes, un vairākas grupas nodevām citiem zooloģiskajiem dārziem. Sākums šķita cerīgs, taču, kad Rīgas jaunās vārdes pieauga, atklājās, ka visas ir tēviņi. Tai pašā laikā Vsevoložskā jaunajā paaudzē tēviņu un mātīšu skaits bija aptuveni vienāds (J. Ribaltovskis, mutisks ziņojums). Tas lika domāt, ka Rīgā tēviņu pārprodukciju varētu būt noteikuši audzēšanas apstākļi.

DZIMUMA DETERMINĀCIJAS MEHĀNISMI

Mugurkaulnieku klasē pazīstami divi jauno dzīvnieku dzimuma determinācijas mehānismi:

1. Siltasiņu dzīvniekiem, kā arī daļai aukstasiņu dzīvnieku jauno īpatņu dzimums ir noteikts ģenētiski, t.i., tiek "ieprogrammēts" olšūnas apaugļošanās brīdī. Šīm sugām parasti ir īpašas dzimumhromosomas, un tēviņu un mātīšu attiecība jaunajā paaudzē ir tuva 1:1 (Flores et al. 1994).
2. Tomēr zivju un rāpuļu klasēs ir ne mazums sugu, kurām jauno īpatņu dzimumu nosaka vides apstākļi, visbiežāk - temperatūra, kādā attīstās embriji. Tas raksturīgi visiem krokodiliem, daudzām bruņurupuču un ķirzaku sugām, kā arī vairākām zivju sugām. Tām nav konstatētas īpašas dzimumhromosomas (Wibbels et al. 1994).

Vēl pirms 35 gadiem gēni tika uzskatīti par vienīgo dzimumu noteicošo faktoru visiem augstākajiem mugurkaulniekiem. Temperatūras loma dzimuma determinācijā rāpuļiem tika atklāta tikai 1966. gadā (Crews et al. 1994).

Visiem pētītajiem abiniekiem līdz šim konstatēts ģenētiskais dzimuma determinācijas mehānisms. Atsevišķos eksperimentos gan izdevies panākt ģenētiskā dzimuma maiņu kurkuļu attīstības laikā, bet vienīgi ar hormonu vai sugas attīstībai netipiski augstas vai zemas temperatūras palīdzību (Wallace et al. 1999).

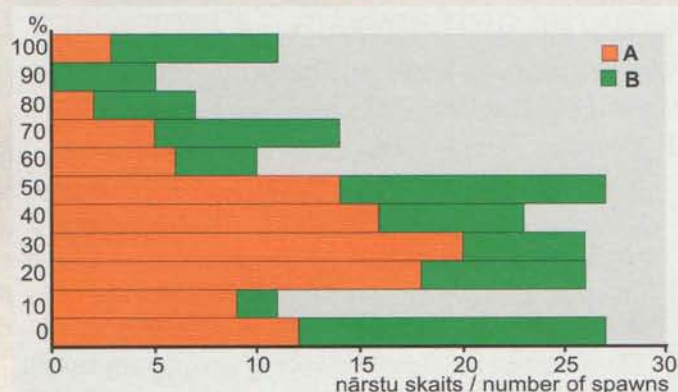
RNZD no 1998. līdz 2001. gadam metamorfozi beidza 245 sūnu kārpvārdes, no kurām izauga tikai viena mātīte. Visos gadījumos ikru un kurkuļu attīstības laikā uzturējām sugas prasībām atbilstošu temperatūru, turklāt nārsta stimulācijai neizmantojām hormonu preparātus. Pēcnācējus bijām ieguvuši no trim sūnu kārpvāržu mātītēm, kuru vecāki nāca no vienas savvaļas populācijas, un arī to vairošanā Vsevoložskā nebija izmantoti hormoni

(J. Ribaltovskis, mutisks ziņojums). Tādējādi iespējams, ka tēviņu pārprodukciju varēja būt noteikuši kādi apstākļi jauno varžu attīstības laikā.

VAIROŠANAS METODES

Meklējot nevienādās dzimumu proporcijas cēloņus, eksperimentējām ar dažādiem vides faktoriem gan ikru, gan kurkuļu attīstības laikā. Atšķirīgos eksperimentālajos apstākļos dažādu nārstu rezultāti atšķīrās, variējot no 0 līdz 100 % (1. att.).

Līdzšinējo 107 nārstu ikru un kurkuļu attīstības rezultāti neļauj domāt, ka visas mātītes pastāvīgi kādu iemeslu dēļ ietu bojā ikru vai kurkuļu stadijās. (Ja sugai dzimumu noteiktu dzimumhromosomas, aptuveni puse ikru katrā nārstā potenciāli būtu mātītes.)



1. attēls. Sūnu kārpvaržu audzēšanas rezultāti Rīgas Zooloģiskajā dārzā. Grafikā visi nārsti (n=107) sadalīti grupās pēc A - ikru attīstības sekmēm (sekmīgi attīstījušies ikri, % no visu ikru skaita katrā nārstā) - un B - kurkuļu attīstības sekmēm (metamorfozi sekmīgi izgājušie kurkuļi, % no visu kurkuļu skaita katrā nārstā).

Figure 1. The results of breeding Tonkin bug-eyed frogs in Riga Zoo. All the spawns (n=107) are divided into clusters depending on success (%) of A - egg development and B - tadpole development per each spawn.

Apstākļi ikru attīstības laikā

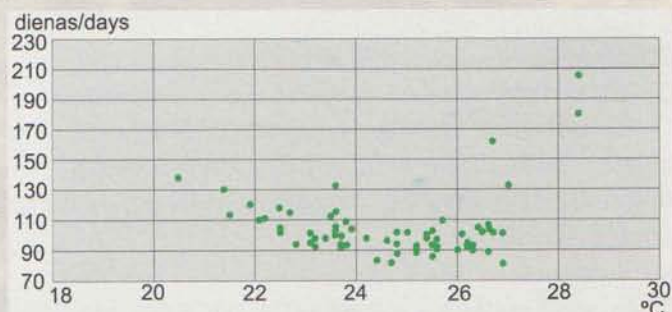
Temperatūra. Tā kā daudzām rūpuļu sugām jauno īpatņu dzimumu nosaka temperatūra, kādā attīstās olas, šo faktoru pārbaudījām pirmo. Atsevišķu nārstu ikrus sadalījām vairākās grupās, kuras turējām dažādās temperatūrās, tā izslēdzot iespēju, ka dažādu pāru nārstiem ir dažādi rezultāti. Līdzšinējo 107 nārstu dati liecina - ja temperatūra ir no 18°C līdz 30°C, izšķīlušos kurkuļu skaits ietekmējas maz vai nemaz. Zemākā temperatūrā ikri attīstās lēnāk - ja 23-27°C temperatūrā visi kurkuļi izšķīļas 11-13 dienās, tad 19-22°C temperatūrā pēdējie kurkuļi izšķīļas pat pēc 26 dienām. Par 30°C augstākā temperatūrā embriji iet bojā.

Mitrumi. Temperatūra nav vienīgais faktors, kas ietekmē ikru attīstības ilgumu. Sūnu kārpvārdes ikrus pa vienam vai nelielās porcijās piestiprina pie akmeņiem vai siekstām virs ūdens līmeņa. Parasti

ikrus tālākai attīstībai no terārija pārvietojam uz mitrām sfagnu sūnām vai sūkļa. Ikri, kuri atradās mitrākā vietā vai saskārās ar ūdens virsmu, izšķīlās ātrāk nekā tie, kas atradās sausākā vietā. Savukārt ātrāk izšķīlušies kurkuļi bija sīkaki un biežāk gāja bojā dzīves pirmajās dienās. Šie rezultāti saskan ar J. Ribaltovska (1999) aprakstījumiem, un, lai arī ļāva optimizēt ikru attīstības apstākļus un palielināt izšķīlušos kurkuļu skaitu, tomēr neatrisināja galveno problēmu, jo visas izaudzētās vārdes joprojām bija tēviņi.

Apstākļi kurkuļu attīstības laikā

Temperatūra. Kā Rīgā, tā Vsevoložskā iegūtie rezultāti liecina, ka 20-28°C ir kurkuļu attīstībai piemērotākā temperatūra - tie metamorfozi iziet 80-100 dienās, turklāt vairākiem nārstiem izdevies izaudzēt visus izšķīlušos kurkuļus (100%). Augstākā vai zemākā temperatūrā laiks līdz metamorfozei ievērojami pagarinājās, t. sk. pat līdz 200 dienām (2. att.). Ja ūdens temperatūra ir zemāka par 18°C vai augstāka par 32°C, kurkuļi metamorfozi neiziet - pārāk aukstā ūdenī kurkuļi pārtrauc baroties un iet bojā, bet pārāk siltā tie izaug, taču pārvēršas par "mūžīgajiem kurkuļiem", un, lai to attīstība noslēgtos, ūdens temperatūra jāpazemina. Tomēr pat ekstremālās temperatūrās visi izaudzētie kurkuļi bija tēviņi. Līdz ar to noskaidrojās, ka temperatūrai nav izšķiroša nozīme jauno varžu dzimuma veidošanā.



2. attēls. Sūnu kārpvaržu kurkuļu attīstības ilgums Rīgas Zooloģiskajā dārzā (vidēji nārstā) līdz metamorfozes beigām atkarībā no ūdens temperatūras.

Figure 2. The duration of development of tadpoles of Tonkin bug-eyed frogs until full metamorphosis depending on water temperature (average in days in each spawn), Riga Zoo.

Ūdens sastāvs. Pirmo 40 nārstu kurkuļi tika audzēti ūdensvada ūdenī, kas pirms lietošanas nostādināts vismaz vienu diennakti. Gan kurkuļi, gan vārdes šādā ūdenī jutās labi. Turpmāk daļai ikru un kurkuļu izmantojam filtrētu ūdeni (*Akvaftor*). Tomēr arī šo eksperimentu vienīgais rezultāts bija sūnu varžu tēviņu pulka pieaugums.

Kurkuļu barība. Vēlreiz pārskatot piezīmes par dažādu nārstu kurkuļu audzēšanu, konstatējam, ka bijušas pārmaiņas kurkuļu barībā. Tā kā par sūnu kārpvaržu kurkuļu barošanu savvaļā datu nav,

RNZD kurkuļus barojām tāpat kā citu abinieku sugu kurkuļus - ar sauso zivju barību, parasti *Sera Vipān* vai *Novo Bel*, kā arī gaļu. Dažu nārstu kurkuļu barošanai bija izmantota cita sausā barība - *Sera San*, bet tikai viena nārsta kurkuļi šo barību saņēma visu attīstības laiku, un tieši no šī nārsta izauga vienīgā mātīte!

Noskaidrojām, ka Vsevoložskā sūnu kārpvaržu kurkuļi tiek baroti ar sauso barību *Sera Raffy P*, kā arī gaļu, zivīm un vārītām nātrēm. Ievēriību pelna arī fakts, ka 2002. gadā Vsevoložskā kurkuļi kādu laiku tika baroti vienīgi ar sauso barību *Sera Raffy P*, un tieši šo nārstu kurkuļi visi izauguši par tēviņiem (J. Ribaltovskis, mutisks ziņojums). Spriežot pēc ražotāju datiem, visas sausās barības izgatavotas no līdzīgiem produktiem un maz atšķiras arī vitamīnu sastāvs (1. tabula).

1. tabula. Rīgas Zooloģiskā dārza sūnu kārpvaržu kurkuļu audzēšanā izmantoto sauso barību sastāvs (pēc ražotāju datiem).
Table 1. The composition of foods used in Riga Zoo for the feeding of tadpoles of Tonkin bug-eyed frogs - producers' data.

Sastāvs / Ingredients	Novo Bel	Sera Vipān	Sera San	Sera Raffy P
Zivju produkti / Fish products	+	+	+	+
Graudu produkti / Wheat meal	+	+		+
Raugis / Yeast	+			
Dārzeņi / Vegetables	+			+
Aļģes / Algae	+	+	+	
Vēžveidīgie / Crustaceans	+	+		+
Gliemji / Molluscs		+	+	+
Piens / Milk			+	+
Zaļie augi / Green plants		+	+	+
Vitamīni / Vitamins				
A, SV/kg	25 000	38 200	35 000	30 000
D3, SV/kg	3000	2000	2000	1500
C, mg/kg	400	550	550	550
E, mg/kg	330	120	120	60
B1, mg/kg	35	30	40	30
B2, mg/kg	56	90	90	90
B6, mg/kg	28			
B12, mg/kg	123			
Biotīns / Biotin, mg/kg	3500			

Literatūrā nav minēts, ka kurkuļu barība spētu ietekmēt abinieku dzimumu. Tomēr jau 20. gs. 60. gados atklāts, ka daudzu lopbarības augu sastāvā ir vielas, kuras uz lauksaimniecības dzīvnieku organismu iedarbojas līdzīgi hormoniem. Vienas ar estrogēnam līdzīgu iedarbību, t. s. fitoestrogēni, atrastas praktiski visos augos, kas tiek izmantoti lauksaimniecības dzīvnieku barošanā, un dažos gadījumos to saturs var sasniegt pat 25% (Дюкарев и др. 1985). Jādomā, ka fitoestrogēni var būt arī citos augos.

Pirmo trīs nārstu kurkuļiem sākumā devām arī vārītās kaltētas nātres, taču kurkuļi par tām neizrādīja interesi. Tas gan vēl nenozīmē, ka augu barība nav nepieciešama to normālai attīstībai. Lai arī nav zināms, no kā savvaļā pārtiek sūnu kārpvaržu kurkuļi, tomēr jādomā, ka ikvienā dabiskā

ūdenskrātuvē ir pieejama kā augu, tā dzīvnieku valsts barība. Turklāt, kad atsākām kurkuļiem dot nātres un citus zaļumus, to fekālijās atradām augu paliekas, tai skaitā nātru matiņus.

2002. gadā, sūnu kārpvaržu kurkuļus barojot ar dažādu sauso barību, kā arī papildus dodot zivis un svaigas vārītās nātres, iegūtie rezultāti vieš cerības. Raksta tapšanas brīdī visas jaunās vārdes vēl nav sasniegušas vecumu, kurā parādās sekundārās dzimum pazīmes (raksturīgākā no tām - tulznu parādīšanās uz tēviņu priekškājām), bet no 18 īpatņiem, kam dzimums jau zināms, piecas ir mātītes.

SKATOTIES NĀKOTNĒ

Pētījumi, kā dažāda barība ietekmē dzimumu proporciju jaunajā paaudzē, jāturpina ne tikai sūnu kārpvardēm, bet arī citiem abiniekiem, īpaši pārējām Rhachophoridae dzimtas sugām. Raksta tapšanas laikā RNZD kolekcijā tādas ir piecas, un no tām trīs līdz šim sekmīgi vairojušās. Interesanti, ka arī divām pārējām RNZD sekmīgi vairotajām Rhachophoridae dzimtas sugām pēcnācēju vidū tēviņu bija ievērojami vairāk nekā mātīšu (proporcijā ap 4:1).

Pašreizējie RNZD un Vsevoložskas dati ļauj cerēt uz interesantiem rezultātiem nākotnē. Zināšanas par abiniekiem, tai skaitā par to vairošanu nebrīvē, ir īpaši svarīgas, jo dažos pēdējos gados vides piesārņojuma un citu apstākļu dēļ abinieki kļuvuši par visstraujāk izmirstošo mugurkaulnieku klasi.

LITERATŪRA

- Crews, D., Bergeron, J.M., Bull, J.J., Flores, D., Tousignant, A., Skipper, J.K. & Wibbels, T. (1994). Temperature-dependent sex determination in reptiles: proximate mechanisms, ultimate outcomes, and practical applications. *Developmental Genetics* 15: 297-312.
- Flores, D., Tousignant, A. & Crews, D. (1994). Incubation temperature affects the behavior of adult leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Physiology & Behaviour* 55: 1067-1072.
- Ryboltovsky, E. (1999). A wonderful frog from Vietnam: biology, management and breeding. *International Zoo News* 46: 347-352.
- Wallace, H., Badawy, G.M.I. & Wallace, B.M.N. (1999). Amphibian sex determination and sex reversal. *Cellular and Molecular Life Sciences* 55: 901-909.
- Wibbels, T., Bull, J.J. & Crews, D. (1994). Temperature-dependent sex determination: a mechanistic approach. *The Journal of Experimental Zoology* 270: 71-78.
- Дюкарев, В.В., Ключковский, А.Г. & Дюкар, И.В. (1985). Кормовые добавки в рационах животных. Москва: Агропромиздат.

TEKSTĀ MINĒTIE PRODUKTI

- Akvafactor** - Aquaphor Corp., Division of Electrophor Inc., Dobbs Ferry, NY 10522, USA.
- Novo Bel** - JBL GmbH&Co. KG, D-67137 Neuhofen, Germany.
- Sera Raffy P** - Sera, D 52518 Heinsberg, Germany.
- Sera San** - Sera, D 52518 Heinsberg, Germany.
- Sera Vipān** - Sera, D 52518 Heinsberg, Germany.

TONKIN BUG-EYED FROG BREEDING PECULIARITIES AT RIGA ZOO

Ilze Duncce, Zoologist

The first pair of Tonkin bug-eyed frog (*Theloderma corticale*), the representative of family Rhachophoridae, was received from Laboratory of Herpetology of Vsevolozsk Zoo, Russia, in 1998. The frogs started to spawn and produced 68 juveniles in 1998. Up to 2001 a total of 245 young completed metamorphosis. However, we were faced with an unexpected problem - almost all froglets were males, with the exception of one female. That was mysterious, as according to literature data, sex is genetically determined for all amphibians. At the same time the sex ratio in offspring in Vsevolozsk was close to 1:1. We had to assume that the explanation could lie on tadpole rearing methods used in Riga Zoo. We have to note that the spawning was not stimulated by hormone treatment neither in Riga nor in Vsevolozsk where our initial stock came from. So we started to experiment with various environmental factors that could affect the development of eggs and tadpoles. Our attempts resulted with 41 juveniles in 2002 - at least five of them were females.

Breeding methods at Riga Zoo

Since the environmentally dependent sex determination in reptiles is mainly linked with temperature, we checked the temperature effect first of all. We applied different incubation temperatures and tadpole maintenance temperatures. Up to now we have the data already from 107 spawns of Tonkin-bug-eyed frog. The incubation and rearing success varied within the range of 0-100 per cent in different spawns (Fig. 1), so there is no reason to suspect that all females could have died at some phase of development.

Egg incubation temperature. The most favourable incubation temperature was 18-30° C. Under such conditions the egg development was affected little, if at all. If temperature was 23-27° C, all eggs hatched within 11-13 days. Lower temperature (19-22° C) led to the moderation of embryo development; it took 26 days or more for eggs to hatch. If temperature was higher than 30° C, embryos died. The incubation temperature did not affect the sex ratio of juveniles.

Egg incubation humidity. Tonkin bug-eyed frogs attach their eggs to rock or snag surface a little above the water level. Normally we moved eggs to incubate on humid sphagnum moss or sponge. If the humidity was higher, eggs hatched in shorter time, but tadpoles were smaller and died within first days of further development more often. There was no effect on sex ratio.

Maintenance temperature of tadpoles. The experience both in Vsevolozsk and Riga confirmed that the most appropriate temperature for tadpole development is 20-28° C. Tadpoles completed metamorphosis in 80-100 days under such conditions. If the temperature was higher or lower, the development required longer time (Fig. 2). Nevertheless, all tadpoles that completed the metamorphosis even at extreme temperatures still were only males.

Food of tadpoles. It was found out that there had been some changes in tadpole food. The tadpoles of Tonkin bug-eyed frog were fed similarly as other amphibian species in Riga Zoo. Their food included dry fish foods - usually Sera Vipar or Novo Bel supplemented with meat. However, tadpoles of several spawns were fed with another food - Sera San. The only female came from the spawn where tadpoles were fed solely with Sera San throughout the whole development.

The tadpoles in Vsevolozsk were fed with dry food Sera Raffy P as well as with meat, fish and boiled nettles (*Urtica dioica*) as a rule. It is interesting that in 2002 when tadpoles in Vsevolozsk were fed with Sera Raffy P exclusively, all of them were developed into males.

In 2002 we used different dry foods and supplemented them with fish and boiled fresh nettles. Now the results are promising. In 2002 41 juveniles grew in Riga Zoo. At the time when this article was written 18 of them had reached the age when sexing is possible, and five of them were females.

Interesting to note that another two species of family Rhachophoridae bred at Riga Zoo show uneven sex ratio in their offspring, too, as more males are produced in ratio 4:1.