

Альянс по сохранению сайгака (SCA) – Программа малых грантов

Отчет по проекту:

Использование фитолитного анализа, как неинвазивного метода изучения питания сайгака

Каримова Т.Ю.

Резюме

Восстановление степной растительности на Черных землях в Калмыкии, наблюдающееся с 90-х гг. прошлого века, могло отразиться на рационе сайгака. Несомненно, наиболее точные данные о питании животных могут быть получены при исследовании содержимого их желудков, однако, в настоящее время при крайне низкой численности сайгаков предпочтительнее для этого использовать различные неинвазивные методы. Используя фитолитный анализ экскрементов, мы попытались уточнить состав поедаемых сайгаком кормов в весенне-летний период. В качестве ключевого участка для сбора образцов на Черных землях была выбрана территория, где в последние годы наблюдалось отдельное скопление сайгаков.

Фитолитный анализ растений показал, что злаки, доминирующие в составе растительного покрова, продуцируют достаточно характерные формы фитолитов, по которым может быть диагностировано участие конкретных видов в питании сайгака. Так, участие ковылей в составе кормов можно определять по нахождению гантелевидной формы *Stipa*-type и значительной доле округлых форм. Участие полевиčky при поедании ее сайгаком диагностируется по седловидным и гантелевидным формам фитолитов, при преобладании первых. Мятлик луковичный представлен в фитолитных комплексах разнообразными трапециевидными формами. Заметное количество пластинчатых форм в составе свидетельствует об участии житняка в их сложении.

Введение

В настоящее время на территории Черных земель произошли глубокие изменения растительного покрова, выразившиеся в смене пустынно-степных ксерофильных кустарничковых фитоценозов на степные дерновинно-злаковые сообщества с доминированием ковыльных ассоциаций, что вызвано как климатическими изменениями, так и антропогенными факторами (Трофимов, 1995; Шилова и др., 2001; Виноградова, Золотокрылин, 2007). Учитывая низкую численность популяции сайгака, обитающей именно на этой территории, в настоящее время необходимо детальное изучение его питания в новых условиях.

В условиях высокой численности сайгаков для изучения питания применялись так называемые прямые методы - забой животных и последующее исследование содержимого рубца, экспериментальное кормление в неволе и непосредственные наблюдения за животными в природе (Адольф, 1954; Бакеев, Формозов, 1955; Лебедева, 1959, 1960 и др.). Исследования содержимого желудков сайгаков, проведенные в 50-х гг. прошлого века, выявили, что в течение года этот вид отдает предпочтение разным кормам: ранней весной – это злаковые (до 85,7 % в рационе), весной – злаковые (29,6 %) и эфемеры (42,6 %), летом – злаковые (29,9 %) и маревые (33 %), осенью и зимой – маревые (57,1-66,7 %) (Лебедева, 1959). По данным Близнюка и Бакташевой (2001) в 90-е гг., в начальный период восстановительной сукцессии растительности, состав кормов (по основным группам растений) сайгака в весенний период (март-апрель) не претерпел существенных изменений по сравнению с 50-ми годами прошлого столетия – на злаки приходилось 45,4 % от общего объема корма, а на эфемеры и эфемероиды – 38,3 %.

При низкой численности вида предпочтительнее использовать неинвазивные методы. Наиболее известными и разработанными из них являются ботанический, спорово-пыльцевой и копрологический анализ помета различных видов травоядных животных (Stewart, 1967; Динесман и др., 1989; Розенфельд, 1997; Абатуров, Петрищев, 1998). Однако полного соответствия флористического состава ботанических остатков в помете животных составу поедаемых ими кормов по результатам этих анализов установить невозможно (Киселева, 2006). Наиболее достоверные результаты наблюдаются на уровне семейств, чего не всегда бывает достаточно, особенно при выяснении поедаемости различных видов одного семейства. Частично решить эту задачу может помочь изучение фитолитных комплексов помета животных фитофагов. Фитолиты формируются в клетках эпидермиса и других тканей растений в результате накопления аморфного кремнезема ($\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$), поглощенного ими из почвы. Биогенный кремнезем достаточно устойчив в кислой и слабощелочной среде, поэтому после отмирания растений или их поедания животными, фитолиты длительное время сохраняются во вмещающих их средах – в почвах, наносах и помете (Киселева, Ермолова, 1972; Киселева, 1982, 2006 и др.). Формы фитолитов в большинстве случаев обусловлены формой клеток, в которых они формируются.

Так как основная доля в рационе сайгака в весенне-летний период принадлежит злакам, мы решили сосредоточиться на этой группе растений. Следует также отметить, что семейство злаков накапливает максимальные количества биогенного кремнезема и отличается наибольшим разнообразием продуцируемых форм фитолитов (Metcalf, 1960). Проанализировав литературные данные, мы выяснили, что весной и летом сайгак поедает

19 видов злаков - *Stipa pulcherrima*, *S. capillata*, *S. lessingiana*, *Koeleria gracilis*, *Poa bulbosa*, *Festuca valesiaca*, *F. regeliana*, *Bromus arvensis*, *Bromopsis riparia*, *Anisantha tectorum*, *Agropyron pectinatum*, *A. fragile*, *A. desertorum*, *Elytrigia repens*, *Eremopyrum triticeum*, *Eragrostis collina*, *E. minor*, *Setaria pumila*, *Leymus racemosus* (Адольф, 1950, 1954; Бакеев, Формозов, 1955; Лебедева, 1959; Близнюк, Бакташева, 2001; Розенфельд, Ларионов, 2006; Ларионов и др., 2008).

Материалы и методы

В качестве ключевого участка на Черных Землях была выбрана территория, где в последние годы наблюдалось отельное скопление сайгаков (рис. 1). Всего в апреле, мае и августе 2009 г. на 19 площадках было собрано 153 свежих образца экскрементов сайгаков для дальнейшего лабораторного анализа. Для правильной интерпретации результатов фитолитного анализа экскрементов сайгака (сравнения выделенных из экскрементов фитолитов с фитолитами современного растительного покрова) параллельно было заложено 19 стандартных геоботанических площадок (10 x 10 м) и собран гербарий произрастающих злаков (15 видов).

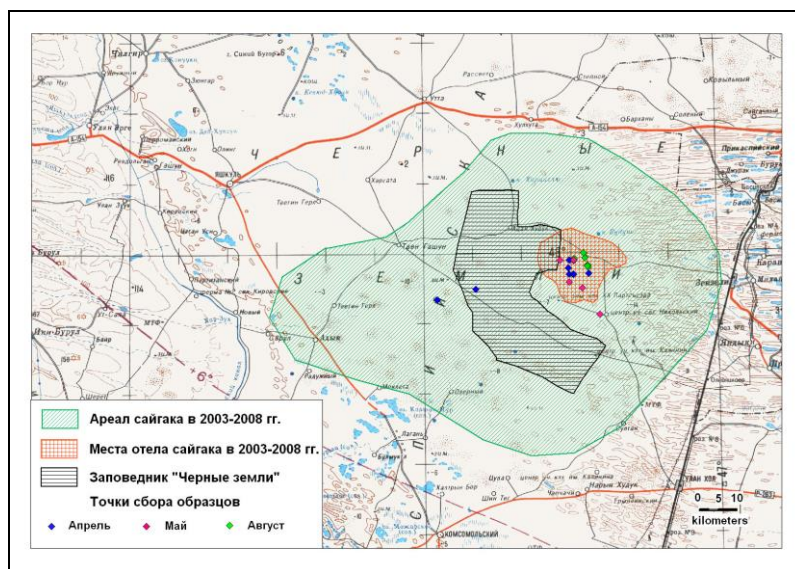


Рис. 1. Точки сбора образцов в 2009 году.

Выделение фитолитов из экскрементов сайгака проводили методом мокрого озоления в серной кислоте по методике Дж. Гейса (Geis, 1973) с некоторыми модификациями. Отобранные в поле образцы помета растирали в фарфоровой ступке и просеивали через сито с ячейёй 1 мм. Из растертого образца отбирали навеску 300-500 мг, высушивали при 100°C до абс. сухого веса, помещали в плоскодонные конические колбы и добавляли к навеске 25-30 мл концентрированной серной кислоты (H₂SO₄). Суспензию

нагревали в течение нескольких часов на электроплитке, охлаждали, а затем добавляли 30% перекись водорода (H₂O₂) для полного обесвечивания раствора. Осадок фитоцитов отмывали от серной кислоты дистиллированной водой центрифугированием в течение 10 мин при скорости 1500 об/мин. Отмывание повторяли до нейтральной реакции промывных вод. Полученный осадок фитоцитов высушивали, взвешивали и сохраняли в 95% спирте. Препараты для микроскопа готовились на эммерсионном масле с показателем коэффициента преломления 1,5. Для этого каплю определенного (измеренного) объема спиртовой суспензии с фитоцитами наносили на предметное стекло и высушивали на воздухе. На полученную пленку наносили каплю иммерсионного кедрового масла и закрывали покровным стеклом, затем аккуратно плотно притирали покровное и предметное стекла. По краям покровного стекла наносился слой прозрачного лака, предохраняющий в дальнейшем препарат от высыхания. По такой же методике готовилась эталонная коллекция фитоцитов, продуцируемых злаками, произрастающими на территории исследований в период отбора образцов помета.

Препараты фитоцитов (и эталонной коллекции, и выделенные из помета) просматривались под световым микроскопом при увеличении х400 - х600. В препаратах эталонной коллекции выявлялись все формы кремневых тел, продуцируемые изученными таксонами, и фиксировались в цифровой форме на электронных носителях. В препаратах фитоцитов, выделенных из помета сайгака, при исследовании под микроскопом подсчитывалось не менее 200 зерен фитоцитов и учитывалось содержание каждой найденной формы кремневых тел. Все найденные формы группировались и суммировались по выделенным классам форм. Затем рассчитывалось относительное содержание каждой найденной формы (в % от общей суммы) – фитоцитный комплекс образца.

Полученные результаты

В результате проведенного исследования для 9 видов злаков (*Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. sareptana*, *Poa bulbosa*, *Eragrostis minor*, *Agropyron desertorum*, *Anisantha tectorum*, *Bromus japonicus*, *Eremopyrum triticeum*) была составлена эталонная коллекция продуцируемых ими форм фитоцитов.

Фитоцитный анализ эталонных растений показал (табл. 1), что изученные нами злаки характеризуются достаточно высоким окремнением, особенно листья и стебли. Так, листья и стебли ковылей (р. *Stipa*), полевиčky (*Eragrostis minor*) и мятлика луковичного (*Poa bulbosa*) характеризуются значительно большим содержанием кремнезема и хорошо выраженными формами кремневых тел, по сравнению с семенами. Напротив, листья и

стебли житняка (*Agropyron desertorum*) окремнены слабо (0,67%), в них наблюдаются плохо сформированные формы кремневых тел; в семенных же чешуях этого вида окремнение тканей достигает 2,57%.

Таблица 1. Доминирующие формы фитолитов, продуцируемые изученными таксонами

Таксон	Биогенный SiO ₂ , %	Округлые	Пластинчатые	Трапециевидные	Гантелевидные	Седловидные	Дендровидные
<i>Stipa sareptana</i> - листья, стебли	1,84	+++	+	+	Stipa-type +	нет	нет
<i>S. sareptana</i> –семена	0,46	+++	нет	нет	нет	нет	нет
<i>S. lessingiana</i> - листья, стебли	2,04	+++	+	+	Stipa-type +	нет	нет
<i>S. lessingiana</i> –семена	1,13	+++	нет	нет	нет	нет	нет
<i>S. capillata</i> -листья, стебли	1,24	+++	+	+	нет	нет	нет
<i>S. capillata</i> – семена	0,21	+++	нет	нет	нет	нет	нет
<i>Eragrostis minor</i> - листья стебли	1,54	нет	нет	нет	+	+++	нет
<i>E. minor</i> - семена	0,9	нет	нет	нет	+	+++	нет
<i>Agropyron desertorum</i> - листья, стебли	0,67	+	++	нет	нет	нет	нет
<i>A. desertorum</i> -семена	2,57	нет	+	нет	нет	нет	+++
<i>Poa bulbosa</i> листья, стебли	4,33	+	+	+++	нет	нет	нет
<i>P. bulbosa</i> семена	0,69	+	нет	+	нет	нет	+
<i>Eremopyrum triticeum</i> – листья, стебли	1,12	+	++	нет	нет	нет	нет
<i>E. triticeum</i> – семена	1,23	нет	+	нет	нет	нет	+
<i>Anisantha tectorum</i> – листья, стебли	1,48	+	++	нет	нет	нет	нет
<i>A. tectorum</i> – семена	0,96	нет	+	нет	нет	нет	+
<i>Bromus japonicus</i> – листья, стебли	1,37	+	++	нет	нет	нет	нет
<i>B. japonicus</i> – семена	1,05	нет	+	нет	нет	нет	+

Условные обозначения: +++ - много, ++ - достаточно, + - мало

Кроме того, изученные злаки продуцируют различные группы форм фитолитов, а в различных анатомических органах злаков могут формироваться специфические формы фитолитов (рис. 2).

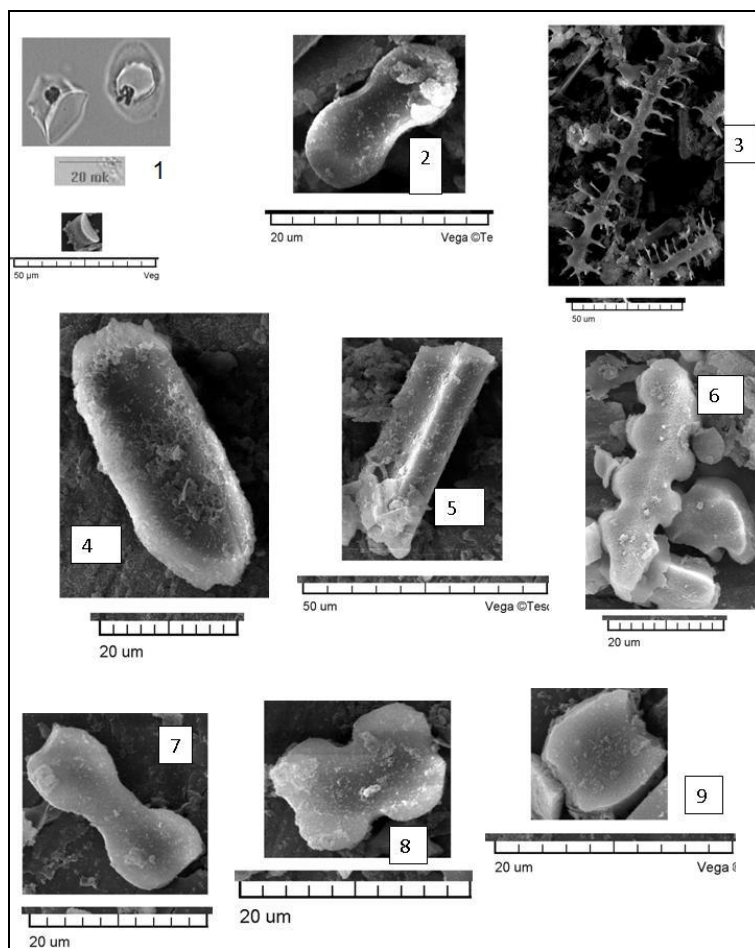


Рис. 2. Формы фитолитов, продуцируемые изученными видами злаков:
 Условные обозначения: 1 – округлые; 2- гантелевидные Stipa-type; 3 – дендровидные;
 4, 5 – пластинчатые; 6 – трапецевидные извилистые; 7 –гантелевидные;
 8 – крестовидные; 9 – седловидные.

Ковыли продуцируют, в основном, различные формы фитолитов класса округлых (см. рис. 2-1) и в незначительных количествах некоторые формы классов пластинчатых и трапецевидных. Вместе с тем, два вида ковылей (*Stipa sareptana* и *S. lessingiana*) в незначительных количествах продуцируют форму Stipa-type, относящуюся к классу гантелевидных (см. рис. 2-2). Эта форма описана ранее как диагностичная для монгольских ковылей (Киселева, 1982), поэтому мы считаем ее диагностичной для большинства видов р. *Stipa*. Последнее подтверждается и литературными данными (Blinnikov, 2005).

В листьях и стеблях житняка пустынного (*A. desertorum*) к моменту отбора образцов было мало хорошо сформированных форм фитолитов класса пластинчатых (см. рис. 2 - 4, 5) и округлых, в то время как в цветочных чешуях сформировалось большое количество дендровидных форм (см. рис. 2 - 3). Последние диагностичны именно для цветковых чешуй многих злаков класса фестукоидов, особенно хлебных. Полевичка малая (*E. minor*) в значительных количествах продуцирует хорошо выраженные формы

фитолитов класса гантелевидных (но не *Stipa-type*) (см. рис. 2 - 7, 8) и седловидные (см. рис. 2 - 9). Формируемые полевишкой фитолиты характерны для злаков паникоидной (гантелевидные) и хлоридоидной (седловидные) групп. В фитолитном спектре мятлика луковичного (*P. bulbosa*), абсолютно преобладают разнообразные трапециевидные формы фитолитов (см. рис. 2 - 6), в меньшем количестве присутствуют некоторые формы класса пластинчатых и округлых. Этот вид практически не формирует дендровидные формы кремневых тел. *Eremopyrum triticeum*, *Anisantha tectorum* и *Bromus japonicus* в основном продуцируют пластинчатые и округлые формы, и по составу своих фитолитных спектров они могут быть объединены с житняком (*A. desertorum*).

Таким образом, изучение фитолитных спектров современных растений показало, что доминирующие в составе растительного покрова в исследуемом районе злаки продуцируют характерные формы фитолитов, по которым может быть диагностировано участие конкретных видов злаков в сложении фитолитных комплексов помета сайгака. Так, участие ковылей в составе кормов будет определяться по нахождению гантелевидной формы *Stipa-type* и значительной доле округлых форм. Причем необходимо отметить, что доля формы *Stipa-type* в фитолитном спектре ковылей очень незначительна, поэтому присутствие этой формы в составе фитолитных комплексов помета даже в количестве нескольких процентов будет свидетельствовать о заметном поедании ковылей животными. Участие полевишки в составе кормов сайгака диагностируется по седловидным и гантелевидным формам фитолитов при преобладании первых. Мятлик луковичный будет представлен в фитолитных комплексах помета разнообразными трапециевидными формами. Сложнее всего диагностировать житняк, так как в нашем случае фитолитные спектры, продуцируемые его листьями и стеблями мало выразительны. Тем не менее, заметное количество определенных пластинчатых форм в составе фитолитных комплексов помета и почв будет свидетельствовать об участии этого таксона в их сложении. Присутствие дендровидных форм в составе фитолитных комплексов помета будет свидетельствовать о поедаемости злаков в фазе колошения.

На данном этапе нашего исследования обработаны образцы помета, собранные в мае. На рис. 3 видно, что фитолитные комплексы изученных образцов помета рецентных животных различаются по соотношению слагающих их форм.

На фоне пространственной изменчивости состава можно отметить сокращение роли трапециевидных и седловидных форм вплоть до полного их исчезновения из спектра. Последнее свидетельствует о том, что продуценты этих форм фитолитов – мятлик и полевишка - периодически выпадают из диеты животных. Судя по

геоботаническим описаниям площадок отбора, выпадение мятлика из состава кормов в период наблюдений

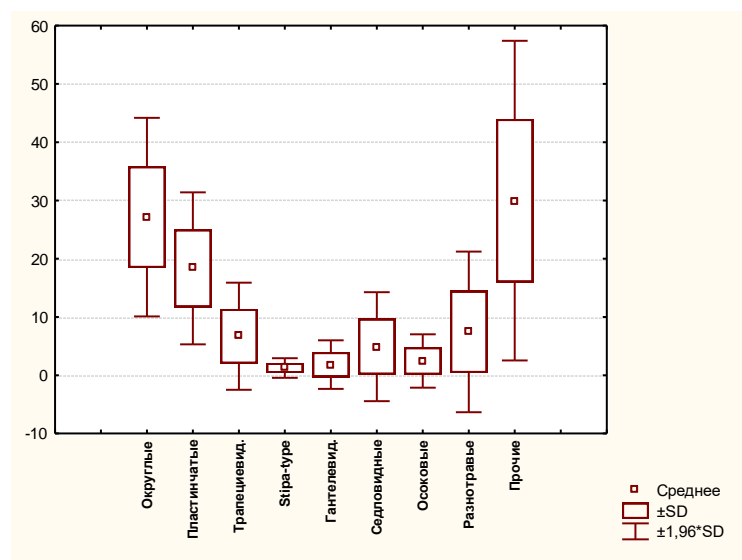


Рис. 3. Среднее количество форм фитолитов в помете сайгака (N=24)

могло быть обусловлено окончанием вегетации этого вида, а полевица более редка или поедается животными в меньшей степени. Значительное участие в составе фитолитного комплекса помета пластинчатых форм фитолитов, продуцируемых на исследуемой территории житняком, свидетельствует о значительной роли последнего в составе кормов сайгака. Присутствие хоть и невысокого количества гантелевидных форм (Stipa-type) в сочетании с достаточно высоким содержанием округлых можно трактовать в качестве показателя участия в составе кормов ковылей. И, наконец, присутствие в составе комплексов воронковидных форм, продуцируемых осоками, указывает на поедаемость этих растений сайгаком. Кроме того, в сложении фитолитного комплекса некоторое участие принимают и кремневые тела, продуцируемые не злаками, а разнотравьем. Однако, вследствие их слабого окремнения судить об их роли в составе кормов по данным фитолитного анализа нельзя.

Ни в одном из исследованных образцов помета не найдено дендровидных форм фитолитов, формирующихся в прицветковых чешуях злаков. Их отсутствие свидетельствует о том, что сайгак в период наблюдений не поедает колосющихся побегов.

Выводы

В ходе проведенного исследования получены следующие предварительные результаты:

- 1) в весенний период в потреблении злаков сайгаками отсутствует кормовая избирательность, о чем свидетельствует неоднородный состав фитолитных комплексов помета;
- 2) присутствие в фитолитных спектрах всех образцов помета пластинчатых форм кремневых тел свидетельствует о постоянном поедании животными житняка; выпадение из фитолитных спектров помета форм *Stipa-type*, гантелевидных и трапециевидных и конусовидных позволяет утверждать, что ковыли, полевица, мятлик и осоки поедались животными в период наблюдений эпизодически;
- 3) отсутствие в фитолитных спектрах помета дендровидных форм фитолитов, продуцируемых прицветковыми чешуями злаков, показывает, что в мае животные не поедали колосающиеся побеги.

Таким образом, проведение фитолитного анализа в сочетании с другими «щадящими» методами изучения питания сайгака (кутикулярный анализ и др.) перспективно для уточнения спектра растений, поедаемых сайгаком.

Вклад Вашего проекта в выполнение среднесрочной рабочей программы CMS по сохранению сайгака

Проект соответствует среднесрочной рабочей программе CMS в разделе 8.2., 8.3.

Список литературы

1. Абатуров Б.Д., Петрищев Б.И. 1998. Сравнительная оценка рациона свободнопасущегося сайгака (*Saiga tatarica*) микроскопическим анализом растительных остатков в фекалиях и визуальным подсчетом поедаемых растений // Зоол. журн. Т. 77. № 8. С. 964-970.
2. Адольф Т.А. 1950. Сайга в астраханских степях правобережья Волги // Охрана природы. № 10.
3. Адольф Т.А. 1954. Некоторые данные по биологии сайгака в Астраханских степях // Ученые записки МГПИ. Т. 28. Вып. 2. С. 247-256.
4. Бакеев Н.Н., Формозов А.Н. 1955. Распространение и некоторые черты экологии сайги в западной части Прикаспийской низменности // Материалы по биогеографии СССР. Вып. 2. М.: АН СССР. С. 208-240.
5. Близнюк А.И., Бакташева Н.М. 2001. Весеннее питание сайгаков, *Saiga tatarica*, калмыцкой популяции // Зоол. журн. Т. 80. № 6. С. 743-748.
6. Динесман Л.Г., Киселева Н.К., Князев А.В. 1989. История степных экосистем Монгольской Народной Республики. М.: Наука. 215 с.
7. Золотокрылин А.Н., Виноградова В.В. 2007. Соотношение между климатическими и антропогенными факторами восстановления растительного покрова юго-востока Европейской России // Аридные экосистемы. Т. 13. № 33-34. С. 7-16.
8. Киселева Н.К. 1982. Изучение фитолитов в почвах для выяснения истории растительности степей Восточной Монголии // Известия АН СССР. Сер. геогр. Т. 2. С. 95-106.

9. Киселева Н.К. 2006. Фитолитный анализ в палеоэкологических исследованиях // Динамика современных экосистем в голоцене. М.: Т-во научных изданий КМК. С. 99-107.
10. Киселева Н.К., Ермолова Л.С. 1972. Использование фитолитов при изучении истории почв и растительности // Общие методы изучения истории современных экосистем. М.: Наука. С. 170-186.
11. Ларионов К.О., Джапова Р.Р., Розенфельд С.Л., Абатуров Б.Д. 2008. Питание сайгаков (*Saiga tatarica*) на пастбищах Черных земель Калмыкии в условиях восстановительной смены растительности и остепнения // Зоол. журн. Т. 87. № 10. С. 1259-1269.
12. Лебедева Л.С. 1959. Питание сайгака на правом берегу Волги // Бюлл. Моск. о-ва испыт. природы. Сер. биол. Т. 64. Вып. 5. С. 27-35.
13. Лебедева Л.С. 1960. Материалы к изучению весенних кормов и пастбищ сайгаков правобережья Волги // Зоол. журн. Т. 39. Вып. 9. С. 1438-1442.
14. Розенфельд С.Б. 1997. Методика копрологического анализа на примере изучения состава кормов гусей в тундрах Таймыра // Бюл. Рабочей группы по гусям и лебедям Восточной Европы и Северной Азии (Казарка). № 3. М. С. 38–52.
15. Розенфельд С.Б., Ларионов К.О. 2006. Применение кутикулярного копрологического анализа в изучении состава кормов копытных в Калмыкии и Монголии // Материалы конференции «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых» М.: ИПЭЭ РАН. С. 249-254.
16. Трофимов И.А. 1995. Природные кормовые угодья Черных земель // Биота и природная среда Калмыкии. Москва-Элиста. С.53-83.
17. Шилова С.А., Чабовский А.В., Неронов В.В. 2001. Закономерности динамики полупустынных экосистем Калмыкии при снятии антропогенного стресса // Чтения памяти В.Н. Сукачева. XIX. Экологические процессы в аридных биогеоценозах. М. С. 9-55.
18. Blinnikov M.S. 2005. Phytoliths in plants and soils of the interior Pacific Northwest, USA // Review of Palaeobotany and Palynology. 135(1-2). P. 71-98.
19. Geis J.W. 1973. Biogenic silica in selected species of deciduous angiosperms // Soil Science. 116. P. 113-130.
20. Stewart D.R.M. 1967. Analysis of plant epidermis in faeces: a technique for studying the food preferences of grazing herbivores // J. Appl. Ecol. V. 4. P. 83–111.

Список публикаций

1. Каримова Т.Ю., Киселева Н.К., Арылова Н.Ю. 2009. Изучение весеннего питания сайгака с помощью фитолитного анализа // Материалы XXIX Международного конгресса биологов-охотоведов. Москва. С.244-245.

Нужно отметить, что лабораторная обработка образцов – довольно длительный процесс. И, к сожалению, не все образцы к настоящему моменту обработаны. Но эти работы ведутся и планируются новые публикации.

Еще раз хочу выразить благодарность Правлению Альянса по сохранению сайгака (SCA) за предоставленный грант и возможность провести исследования по питанию сайгака в Калмыкии.

