

静水型无尾类蝌蚪数量资源调查方法的探究

李东平^① 胡国柱^② 刘南君^③ 邹焰^④ 汤贤春^③ 李学英^{③*}

(① 遵义医学院形态学实验室 遵义 563003; ② 西藏军区 77611 部队卫生队 拉萨 850000;

③ 遵义医学院细胞生物学与遗传学教研室 遵义 563003; ④ 遵义医学院预防医学教研室 遵义 563003)

摘要:根据不同无尾类蝌蚪的实际分布状态,设计了体积面积像素换算法(VAPT法)、样方拍照计数法,并结合经典的标志重捕法,通过对宽阔水国家级自然保护区的中华蟾蜍指名亚种(*Bufo gargarizans gargarizans*)、泽陆蛙(*Fejervarya multistriata*)、黑斑侧褶蛙(*Pelophylax nigromaculata*)蝌蚪群体进行数量资源调查,以探究蝌蚪数量调查的方法及适用性。结果表明,VAPT法、样方拍照计数法具有科学性与适用性,值得探讨。新方法的设计与应用可以对无尾类蝌蚪数量调查方法作有益补充及完善,对无尾类种群数量调查数据的准确与完整性有较大意义。

关键词:蝌蚪;数量调查;体积面积像素换算法;样方拍照计数法;标志重捕法

中图分类号:Q958.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2010)05-72-07

Census Methods for Counting Tadpoles of Anura Species in Static Water

LI Dong-Ping^① HU Guo-Zhu^② LIU Nan-Jun^③ ZOU Yan^④

TANG Xian-Chun^③ LI Xue-Ying^{③*}

(① *Laboratory of Morphological, Zunyi Medical College, Zunyi 563003;* ② *Health team of NO 77611 PLA, Lhasa 850000;*

③ *Department of Cell Biology and Genetics, Zunyi Medical College, Zunyi 563003;*

④ *Department of Preventive Medicine, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China*)

Abstract: Comparing to the well-known mark-recapture method, two methods including volume-area-pixel transformation (VAPT) and quantitative quadrat-shooting were developed to survey the number of tadpoles of *Bufo gargarizans gargarizans*, *Fejervarya multistriata* and *Pelophylax nigromaculata*, in Kuankuoshui National Natural Reserve, based on the different distribution characteristics of tadpole groups. The result indicated that VAPT and quantitative quadrat-shooting are scientific and applicable. The development and application of the two new methods would provide a beneficial supplement in the census of tadpoles. Integration with quadrat census for the adult, the two methods would provide integrity of quantitative population survey of Anura species.

Key words: Tadpole; Census; Volume-area-pixel transformation (VAPT); Quantitative quadrat-shooting; Mark-recapture method

野生动物的数量调查可以为野生动物的动态监测提供基础数据,为野生动物资源的评估、生物多样性保护、动物濒危程度研究以及保护区经营管理水平的评估等提供重要依据^[1]。目前,两栖类的数量调查方法主要有样带法、样方法、查卵法、访问法以及查询法等,其中最常用而有效的是样带法和查卵法,样带法常用于

基金项目 遵义市重大科技项目培育与科技人才培养计划项目(遵科培字(2008)04);

* 通讯作者, E-mail: leexueying4722@163.com;

第一作者介绍 李东平,男,实验师;研究方向:动物生态学; E-mail: xingtaili@126.com.

收稿日期:2010-01-07,修回日期:2010-05-13

调查成体及次成体数量^[2-4],查卵法常用于估算成体数量^[5]。针对蝌蚪群体的数量调查,目前国内外已有相关研究涉及到^[6-8],但仍需进一步补充与完善。

1 调查对象、时间及区域

2009年3~6月,本课题组在宽阔水国家级自然保护区境内金子村大湾组范围内(北纬28°14'30"~28°15'19",东经107°09'10"~107°08'21")进行了中华蟾蜍指名亚种(*Bufo gargarizans gargarizans*) (以下简称中华蟾蜍)、泽陆蛙(*Fejervarya multistriata*)、黑斑侧褶蛙(*Pelophylax nigromaculata*) 3种静水型蝌蚪群体数量的调查。

2 调查方法及原理

3种蝌蚪主要分布于水田、水塘等固定水域,水田包括农耕中的水田与已退耕的弃田。以一个固定水域为一样方,每种蝌蚪根据具体情况随机选择7~13个样方进行调查。

2.1 体积面积像素换算法调查中华蟾蜍蝌蚪数量 中华蟾蜍蝌蚪为静水型蝌蚪,性喜聚群活动(图1),因此经典的标志重捕法及样方法不适用。本课题组设计并应用了体积面积像素换算法(volume-area-pixel transformation, VAPT)进行蝌蚪数量调查。VAPT法是根据物理学和数学原理设计的,其基本原理包含了两个重要的部分。

一是进行体积换算以求一个参照群的全部蝌蚪数量(N_c)。野外观察以及人工饲养观察发现,中华蟾蜍蝌蚪的聚群活动具有一致性,每一蝌蚪群的聚群密度几乎相同;再因产卵及孵化时期相近,同一水域同期活动的蝌蚪群构成比例相似,因此根据物理学中物质体积与其所含粒子数目的相关性,即相同体积的同一物质所含的粒子数相同的原理,在概念上可转换为相同体积所含有的蝌蚪数相同。据此分次量取一个蝌蚪群有多少个相同的体积(记录量取次数,以 m 表示),直接计数法计数其中一个体积内有多少蝌蚪(以 n 表示),通过公式(1),即

可计算出一个蝌蚪群中的蝌蚪数量。

$$N_c = m \times n \quad (1)$$

但是,一个水域中有很多蝌蚪群(图1a),每个蝌蚪群的大小不一,逐一进行体积换算是不可行的。为了方便大量统计,需要设置参照群(在水域中任意选择的一个蝌蚪群)(图1b),用公式(1)计算参照群的蝌蚪数量(N_c),备计算机统计使用。

二是进行拍照和蝌蚪群的面积像素比较,以获得水域中所有蝌蚪群的蝌蚪总数 N 。已知一个参照群的蝌蚪数量(N_c),据前述原理,所有蝌蚪的体积与参照群蝌蚪的体积比(R)乘以 N_c 就可以得到所有蝌蚪的总数。但是要量取所有蝌蚪的体积是不可能的。由于中华蟾蜍蝌蚪聚群争游于水域表层,仅少量散在个体活动于中、下层水域,在水中的分布高度无明显差异,即可将蝌蚪的分布视为有相同高度,那么求蝌蚪的体积比就可以简化为求面积比(R)(公式2)。根据物理学原理,照片上选区(需要统计的区域)的面积大小可以用像素值来表示(公式2)。所以,拍照一个水域的蝌蚪群,通过计算机,勾出选区(蝌蚪群),再通过photoshop软件查看选区像素值(P)(图2)(使用软件的方法见步骤⑥),通过公式(2)即可计算面积比(R)。

$$R = \frac{V}{V_c} \approx \frac{S}{S_c} \approx \frac{P}{P_c} \quad (2)$$

公式中, P :蝌蚪群图像选区的像素值, P_c :参照群图像选区的像素值, V :要统计的蝌蚪的体积, V_c :参照群蝌蚪的体积, S :要统计的蝌蚪群的面积, S_c :参照群蝌蚪的面积。

最后,蝌蚪群的蝌蚪数量可由公式(3)计算:

$$N = RN_c \quad (3)$$

具体操作步骤如下:①利用GPS环水域行走一周,计算水域面积;②尽量在较高处观察整个水域,随机选择一个蝌蚪群,设置为参照群。③使用大口径水网捕捞该参照群蝌蚪,尽量一网打尽,避免逃逸;④用量杯分次量取一定体积(如20 ml)网取的蝌蚪,直接计数(n)(至少3

次取平均值),记录量取次数(m);⑤计算参照群的蝌蚪数量 N_c (公式1);⑥在合适角度将整个水域的蝌蚪群拍照,另在水域中设一个或多个 $1\text{ m} \times 1\text{ m}$ 样方作为参照物,用于透视修正(利用 photoshop 软件 DCE-Tools 插件进行)。

勾选出照片上参照群的图像区域,打开软件“直方图”面板,直接查看选区像素值(P_c)(图2a)。再依次勾选蝌蚪群的图像区域,查看并累计选区像素值(P)(图2b),计算 R (公式2);⑦计算水域中蝌蚪总数 N (公式3)。

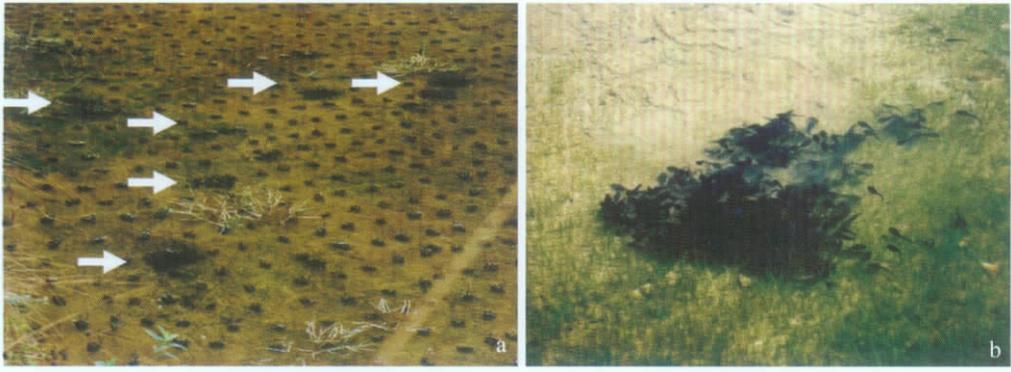


图1 中华蟾蜍蝌蚪在水域中的分布

Fig.1 Tadpoles of *Bufo gargarizans gargarizans* in nature

a. 中华蟾蜍蝌蚪水域中聚群; b. 随机选择的参照群。

a. Tadpoles in water area; b. A randomly selected reference group.

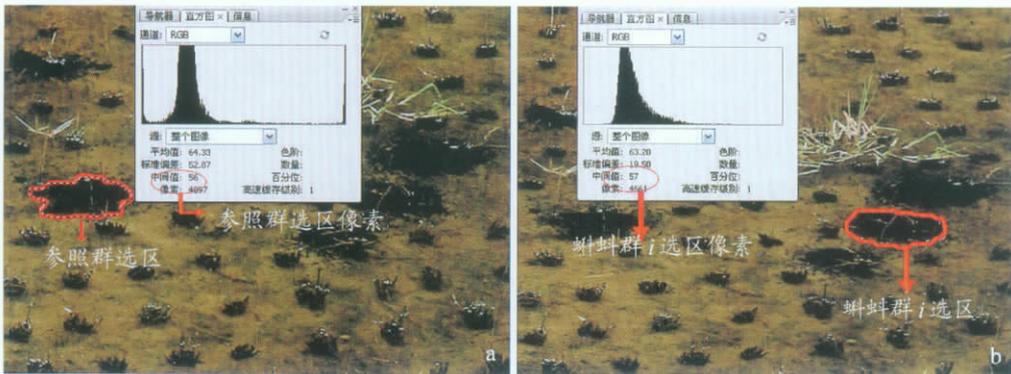


图2 蝌蚪群及其面积像素

Fig.2 The tadpole groups and their area pixels

a. 参照群及其面积像素; b. 任一蝌蚪群及其面积像素。

a. Reference group and its area pixel; b. Any group and its area pixel.

2.2 改进的样方拍照计数法调查泽陆蛙蝌蚪数量 泽陆蛙蝌蚪为静水型蝌蚪,一般生活在较浅的固定水域,如水田、浅水塘等。生境水质较清,水底背景便于观察分辨,蝌蚪基本呈单层随机分布,不聚群。据此,采用样方法^[9]进行调查。但传统的样方法计数常为直接观察计数^[6],而蝌蚪群体数量庞大,活动频繁,不易计

数且耗时较长,工作效率较低,在野外调查中较少应用。对此,本次调查将直接观察计数改进为拍照计数,即通过拍照,实时记录样方内所有活动蝌蚪,在短时期内可采集大量样方数据,再通过数码照片分析,进行均数计算。具体步骤如下:①利用GPS环水域行走一周,计算水域面积;②在水域中不同位置随机布下适量

1 m × 1 m 样方;③待蝌蚪群恢复正常活动后,拍下样方照片(图 3);④计数照片中的蝌蚪数量,计算各样方蝌蚪数量的平均值;⑤估算整个水域中的蝌蚪总数: $N = A \times S$,式中, N :水域中蝌蚪总数; A :1 m × 1 m 样方蝌蚪平均数量(蝌蚪平均密度); S :水域面积。



图 3 示水域中 1 m × 1 m 样方

Fig. 3 A 1 m × 1 m quadrat in the water area

2.3 应用标志重捕法调查黑斑侧褶蛙蝌蚪数量 黑斑侧褶蛙蝌蚪是典型的稻田蝌蚪,繁殖时期多在 5、6 月份,正值水稻生长茂盛之时,喜分散活动于稻田深处,藏身于水稻丛中,这给直

接观察带来诸多不便。在此采用标志重捕法(mark-recapture methods)的施夸贝尔法(Schnabel method)进行调查^[9]。具体步骤如下:①利用 GPS 环水域行走一周,计算水域面积;②沿田间沟壑行进,采用适当口径的长柄水网顺沟壑向前捕捞,抵达对岸为完成一次捕捉。在捕到的个体上尾鳍中部剪一“V”型小缺口作为标记;③将蝌蚪易地放归后惊扰驱散,静候一段时间,待其稳定后进行重捕、标记;④结果采用 Schumacker-Eschmeyer 公式进行计算:

$$\hat{N} = \frac{\sum (n_i M_i^2)}{\sum (M_i m_i)}$$

式中, \hat{N} :种群大小估计量; n_i :在第 i 次取样时,捕获或取样动物的总数; m_i :在第 i 次取样的捕获动物中,已标志动物的总数, M_i :野外种群中已标记的蝌蚪总数。

3 结果

3.1 中华蟾蜍蝌蚪的数量调查 2009 年 3 月 26 ~ 31 日以中华蟾蜍蝌蚪群体为对象应用了 VAPT 法进行调查,数据结果见表 1。

3.2 泽陆蛙蝌蚪的数量调查 2009 年 3 月 26 ~ 31 日以泽陆蛙蝌蚪群体为对象采用样方法

表 1 中华蟾蜍蝌蚪的数量调查数据

Table 1 Total counting of tadpoles of *Bufo gargarizans gargarizans*

水域编号 Samples	水域面积 Size of water body (m ²)	蝌蚪群数 Groups of tadpoles (群)	面积比 Area ratio (R)	参照群蝌蚪数(尾) Number of tadpoles in the reference group (ind.)	水域中蝌蚪总数(尾) Number of tadpoles in water body (ind.)	水域中蝌蚪密度 (尾/m ²) Tadpole density in water body (ind./m ²)
01	292	10	7.5	2 230.2	16 726.5	57.28
02	286	8	5.8	2 314.6	13 424.7	46.94
03	178	3	4.2	2 383.9	10 012.4	56.25
04	425	13	9.5	2 692.5	25 578.8	60.19
05	397	6	8.3	2 669.6	22 157.7	55.81
06	409	8	8.6	2 639.0	22 695.4	55.49
07	374	9	6.1	2 644.3	16 130.2	43.13
08	278	5	6.7	2 446.7	16 392.9	58.97
09	154	6	4.0	2 476.8	9 907.2	64.33
10	414	8	10.2	2 508.2	25 583.6	61.80
11	92	3	3.3	1 930.5	6 370.7	69.25
12	103	3	2.6	2 213.0	5 753.8	55.86
总计 Total	3 402	82	76.8	29 149.3	190 733.8	

进行调查,数据结果见表 2。

见表 3、表 4。

3.3 黑斑侧褶蛙蝌蚪的数量调查 2009 年 6 月 1~7 日以黑斑侧褶蛙蝌蚪群体为对象采用标志重捕法的施夸贝尔法进行调查,数据结果

从表 3 可知,10 次标记重捕中仅有 1 只蝌蚪死亡,存活率达 99% 以上;重捕率为 $m_i/n_i \approx 15\%$ 。

表 2 泽陆蛙蝌蚪的数量调查数据
Table 2 Total counting of tadpoles of *Fejervarya multistriata*

水域编号 Samples	水域面积 Size of water body (m ²)	置放的 1 m × 1 m 样方数(个) Number of quadrates (1 m × 1 m)	样方中蝌蚪平均密度 (尾/m ²) Average density of tadpoles in the quadrat (ind./m ²)	水域中蝌蚪总量(尾) Total number of tadpoles in the water body (ind.)
01	402	6	14.39	5 785
02	377	6	11.19	4 219
03	301	3	13.15	3 958
04	298	3	14.90	4 440
05	355	4	12.28	4 359
06	421	5	10.20	4 294
07	386	4	11.37	4 389
08	274	3	17.69	4 847
09	306	3	18.59	5 689
10	364	4	12.57	4 575
11	399	6	13.67	5 454
12	205	3	17.74	3 637
13	371	4	12.90	4 786
总计 Total	4 459	54		60 432

表 3 用施夸贝尔法进行黑斑侧褶蛙蝌蚪数量估计
Table 3 Estimation of tadpoles of *Pelophylax nigromaculata* by Schnabel method

取样次序 Samples	捕获数 n_i Tadpoles captured	捕获蝌蚪中的 已标记数 m_i Tadpoles recaptured	各次取样 加标数 U_i Tadpoles new marked	野外种群中已标记 的蝌蚪总数 M_i Total tadpoles marked in wild	$n_i M_i$	$m_i M_i$	$n_i M_i^2$	M_i^2 / n_i
1	29	0	29	0	0	0	0	0
2	33	0	33	29	957	0	27 753	0
3	29	1	27	62	1 798	62	111 476	0.034 483
4	31	4	27	89	2 759	356	245 551	0.516 129
5	31	2	29	116	3 596	232	417 136	0.129 032
6	34	6	28	145	4 930	870	714 850	1.058 824
7	37	8	29	173	6 401	1 384	1 107 373	1.729 730
8	28	8	20	202	5 656	1 616	1 142 512	2.285 714
9	30	9	21	222	6 660	1 998	1 478 520	2.700 000
10	32	9	—	243	7 776	2 187	1 889 568	2.531 250
总计 Total	314	47	243	1 281	40 533	8 705	7 134 739	10.985 160

该表只表示一个水域的标志重捕调查数据和计算参数,其他水域的数据参与计算蝌蚪总的调查数量而未一一列出。“—”表示第 10 次取样未进行新的标记。

Only mark-recapture data in one water body were listed in this table, and the data in other water bodies were not listed. The sign “—” means no anyone of tadpoles captured was marked after 10th samples.

表 4 黑斑侧褶蛙蝌蚪的数量调查数据

Table 4 Total counting of tadpoles of *Pelophylax nigromaculata*

水域编号 Water body	水域面积 Size of water body (m ²)	重捕次数 Times of recapture	蝌蚪总数(尾) Estimation of tadpoles (ind.)	95% 置信区间 95% confidence interval
01	55	10	652.480	543.770 ~ 815.520
02	121	10	1388.784	1011.400 ~ 2215.424
03	86	10	644.369	527.502 ~ 827.757
04	75	10	760.657	663.404 ~ 891.322
05	69	10	521.258	452.493 ~ 674.670
06	71	10	819.614	719.184 ~ 952.646
07	92	10	1432.910	1056.062 ~ 2227.932
总计 Total	569	70	6220.073	

4 讨 论

4.1 两栖类蝌蚪数量调查及调查方法的研究现状 种群的数量是由调查时间内的幼体数量、次成体数量和成体数量构成。蝌蚪作为两栖类的幼体,在整个两栖类种群数量中占相当大的比例,在种群数量资源统计中不可忽视。但文献中少见有采用蝌蚪数量统计数据的报道,蝌蚪群体的数量调查一直被忽略。

国内外现有的蝌蚪群体调查研究主要集中在行为、生存因素等方面,对蝌蚪的数量调查也进行了一定的研究工作,但无论是从方法还是规模上都有待进一步的发展。在野外调查中,尤其会遇到调查区域广、调查样点多、蝌蚪分布行为复杂多样等难题,这就要求调查方法具有相当的适用性和便捷性。针对不同的蝌蚪群体,如何进行大范围、多样点的快速有效调查,是一个亟待解决的问题。本课题组在野外调查中,经过反复的仔细观察,在经典调查方法的基础上精心地设计和改进了蝌蚪的调查方法,以最常见的3种静水型蝌蚪为对象,探索并实践了适用于不同分布特点蝌蚪群体的数量调查方法,并首次获得了宽阔水保护区内的蝌蚪数量数据,调查方法便捷高效,这使得大范围、多样点、分布行为复杂的野外蝌蚪群体数量资源调查成为可能,并对无尾类蝌蚪数量调查方法进行了补充,填补了无尾类种群数量调查数据中幼体数量的空缺。

4.2 3种蝌蚪数量调查方法的探讨

4.2.1 体积面积像素换算法 运用 VAPT 法进行蝌蚪数量调查需满足以下3个条件:①对参照群的蝌蚪数量进行准确的估算。因蝌蚪个体细小柔软,皮肤光滑而布满黏液,个体与个体之间几乎是无缝紧靠,这给量取蝌蚪体积提供了极为有利的前提条件。正确的常规量取操作可以得到较为准确的结果;而增加量取的次数,则可使最终结果更为准确。②对照片上蝌蚪群图像区域的勾选,是蝌蚪数量计算的关键。每一个蝌蚪群勾选条件要一致,并严格操作。③本文采用面积像素转换,便捷高效,但是涉及透视修正的物理学问题,需要研究者另行掌握这项技术。只有做好透视修正才可以避免透视现象以及拍照高度和角度不同带来的对像素采集结果的影响。拍照时尽量选择高处拍摄对降低透视现象带来的影响具有积极意义。根据本调查的经验,为了检验调查结果的准确性,可在同一水域中选择另一体积不同的蝌蚪群设为参照群进行调查,比较两次结果的一致性。

VAPT法在实际操作中也有不足之处,且要求较高。首先,拍照和面积像素转换时,要求操作规范、稳定且前后一致;其次,因需对数码照片进行透视变形校正及图像的精确勾选,所以要求研究者具备一定的拍照与计算机软件使用的水平,否则结果可能出现较大误差;再次,VAPT法的两次转换均建立在蝌蚪群聚群密度一致、高度一致的基础上(公式2),高度可直接测量判断,但密度只能通过直接观察而定,对于其准确性尚需深入探讨。另外,应用 VAPT 法

时如果结合统计学方法,即用该水域四角和中间蝌蚪群实际统计数的平均值乘以蝌蚪群数可能更为简便,课题组将做进一步实践。

4.2.2 样方拍照计数法 主要实现了瞬时数据记录,能在短期内采集到大量样方数据进行均数计算,大大缩短了工作时间,提高数量调查结果的准确度。同传统样方法相同,该方法的使用需满足两个条件:①蝌蚪随机分散分布,无聚群习性;②水域背景便于观察计数,如浅水塘或未耕作的水田等。样方的设置与观察很重要,首先是样方要随机设置,设多个样方求蝌蚪数量平均值。如水域不均一,存在植被差异、水深差异等情况时,则需要增加样方数;其次样方的形态及材质不能对蝌蚪的正常活动造成干扰;再次因为晨昏、晴雨等自然因素会对蝌蚪的活动造成一定的影响,因此应避免选择极端天气调查;最后综合所得的结果计算其平均值。

4.2.3 标志重捕法 是一种经典的数量调查方法,具有广泛的适用性,李明会等已将其应用到对牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 的数量调查中^[6]。本文采用标志重捕法对黑斑侧褶蛙的数量调查,所得数据均在 95% 置信区间内,符合精度要求,说明方法得当数据可信。但标志重捕法耗时较长,效率较低,对生物个体及生境有一定的破坏性,在进行蝌蚪数量调查中,不作为优先考虑的方法。在其他方法不适用时,例如生境环境复杂、蝌蚪行为无规律或不易观察时,才选择采用。

本次调查共采用 3 种不同的调查方法,在蝌蚪的数量调查方法学上进行了探索,首次设计应用 VAPT 法调查并得到调查区内蝌蚪数量的首批数据,对该方法的可操作性和适用性有

了全新的认识,为蝌蚪数量调查方法的研究提出了新的尝试。如果要广泛推广以进行蝌蚪数量调查,还有待实践的检验。

致谢 贵州省林业厅对研究工作给予支持,贵阳学院魏刚教授给予野外工作指导,宽阔水自然保护区管理局吴太伦、王义强、龙登禄等同志在野外调查中给予支持与帮助,谨致谢忱!

参 考 文 献

- [1] 刘宁. 野生动物数量调查方法综述. 云南林业科技, 1998, (6): 58 - 60.
- [2] 陶吉兴, 刘安兴, 孙孟军. 浙江重点两栖动物种群数量研究. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2004, 30(5): 536 - 540.
- [3] 杨道德, 刘松, 费冬波, 等. 江西齐云山自然保护区两栖爬行动物资源调查与区系分析. 动物学杂志, 2008, 43(6): 68 - 76.
- [4] 汪继超, 梁伟, 史海涛, 等. 海南省尖峰岭保护区海南特有两栖类分布和种群密度调查. 四川动物, 2008, 27(6): 1163 - 1164.
- [5] 张树清, 姜臣学, 李延明, 等. 辽宁省桓仁林蛙资源现状及保护. 辽宁林业科技, 2008, (2): 48 - 49.
- [6] 李明会, 杨颖, 周伟, 等. 野生牛蛙蝌蚪栖境选择与生活习性. 西南林学院学报, 2005, 25(1): 47 - 50.
- [7] Muths E, Corn P S, Pessier A P, et al. Evidence for disease-related amphibian decline in Colorado. *Biological Conservation*, 2003, 110(3): 357 - 365.
- [8] Heyer W R, Donnelly M A, McDermid R W, et al. *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1994, 1 - 364.
- [9] 孙儒泳. 动物生态学原理. 北京: 北京师范大学出版社, 1987, 177 - 180.