

УДК 597.828

ДИАГНОСТИКА ЛЯГУШЕК КОМПЛЕКСА *RANA ESCULENTA* (AMPHIBIA, RANIDAE) В ГИБРИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ПРИДНЕПРОВЬЯ

О. Д. Некрасова, С. Ю. Морозов-Леонов

Институт зоологии НАН Украины, ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев-30, ГСП, 01601 Украина

Получено 14 декабря 2000

Диагностика лягушек комплекса *Rana esculenta* (Amphibia, Ranidae) в гибридных популяциях Приднепровья. Некрасова О. Д., Морозов-Леонов С. Ю. — На основе генетически маркированной серии лягушек комплекса *Rana esculenta* выделены основные индикаторные индексы. При этом наиболее точно диагностируются особи прудовой лягушки *R. esculenta* L., 1758 (= *lessonae* Camerano, 1882) (90%), чуть менее — озерной лягушки *R. ridibunda* (87,6%) и менее всего — их гибридов (49,2%). Идентификация особей наиболее надежна при использовании всех отобранных индексов (99,5%), также высока надежность в случае применения комбинаций отдельных признаков (95–93%) и мультипликативного индекса Тарашука (93%); использование отдельных признаков дает от 93 до 50% диагностированных особей. При этом индексы Т./С.in. и D.p./C.in. дают наиболее точную идентификацию — 93 и 88% соответственно, диагностическая ценность остальных индексов значительно ниже — от 77 до 50%.

Ключевые слова: морфологическая изменчивость, идентификация, комплекс *Rana esculenta*.

Diagnostics of Frogs of *Rana esculenta* Complex (Amphibia, Ranidae) in Hybrid Populations in the Environs of Dnieper. Nekrasova O. D., Morozov-Leonov S. Yu. — On the basis of genetically identified series of green frogs complex *Rana esculenta* main diagnostic indices of the hind legs were identified. The best diagnostics was achieved in distinguishing *R. esculenta* L., 1758 (= *lessonae* Camerano, 1882) (90% — average percentage of identified specimens), somewhat less — *R. ridibunda* (87,6%), a less of all — hybrids (49,2%). The most reliable diagnostics occurs by using all the selected indices (99,5%), also highly reliable are discriminant combinations of particular variables (95–93%) and the multiplicative index of Tarashchuk (93%); the use of single traits results in 93% to 50% of identified specimens. Traditionally used for diagnosis T./C.in. and D.p./C.in. provide the most accurate identification (93 and 88% respectively), the diagnostic value of the rest are much lower — from 77 to 50%.

Key words: morphological variation, diagnostics, *Rana esculenta* complex.

Введение

Комплекс зеленых водных лягушек Западной Палеарктики состоит из 2 политипических видов: прудовой (*Rana esculenta* L., 1758; = *lessonae* Camerano, 1882)* и озерной (*Rana ridibunda* Pall., 1771) лягушек. В последние 30 лет он рассматривается как своего рода модель исследований эволюционно-генетических последствий естественной гибридизации (Бергер, 1976; Цауне, 1987; Межжерин, Морозов-Леонов, 1992, 1994, 1997; Цауне, Боркин, 1993; Морозов-Леонов, 1998; Berger, 1966, 1968; Gunther 1975; Tunner, 1973, 1994; Tunner, Dobrowsky, 1976; Dubois, Gunther, 1982 и др.). Тем не менее, некоторые вопросы, среди которых: механизмы образования, гаметогенез и морфогенез гибридов, геногеографическая структура комплекса, остаются во многом нерешенными. К числу таковых относится и задача идентификации гибридов по экстерьерным признакам. Считается, что родительские виды (Терентьев, Чернов, 1949; Банников и др., 1977) и гибриды (Цауне, 1987; Berger, 1966, 1968; Gubanuyi, Korsys, 1992) лучше всего идентифицируются по пропорциям задних конечностей. Однако значения этих признаков у гибридов и родительских видов трансгрессируют и, следовательно, не дают 100%-ной надежности. Вот почему при изучении коллекционных материалов зачастую возни-

* В данной статье используется название прудовой лягушки *R. esculenta* L., 1758, которое согласно кодексу зоологической номенклатуры должно иметь приоритет перед в настоящее время принятым названием *R. lessonae* Camerano, 1872.

кают проблемы, связанные с определением гибридов и родительских видов. А это, в свою очередь, приводит к ошибочным выводам о распределении и структуре популяций гибридных видов. Чем же вызвана такая неопределенность в выборе критериев идентификации?

Во-первых, изначально виды определяются по морфологии: гибридная выборка априори разбивается на родительские виды и гибриды по внешним морфологическим признакам, а затем уже отбираются ведущие диагностические признаки, опять же на морфологическом уровне. Таким образом, получается, что первоначально неверное определение делает ошибочным и последующий выбор признаков. Отсюда вывод: необходимы морфологически независимые признаки, помогающие идентифицировать виды. К таковым относятся генетические показатели (кариотип, генные маркеры, первичные последовательности ДНК). Именно с помощью генетических критериев можно изначально строго разделить выборки на родительские виды и гибриды, которые, к тому же, могут содержать ту или иную долю генома одного из родительских видов и, соответственно, быть более или менее похожими. И только затем на этой основе четко выделить приоритетные идентификационные признаки.

Во-вторых, из-за разнокачественности гибридов не все идентификационные признаки «работают» одинаково надежно. Так, в комплексе зеленых лягушек встречаются ди- и триплоидные гибриды (Tunner, Dobrowsky, 1976; Berger, 1988), а это значит, что полиплоидные гибриды имеют разную долю родительских геномов и, соответственно, разный фенотип. Поэтому диагностика аллодиплоидных и аллотриплоидных гибридов должна проводиться по-разному.

Целью данной работы явился анализ признаков задних конечностей, позволяющих диагностировать гибридов европейских зеленых лягушек *Rana esculenta* complex на серии предварительно генетически маркированном материале.

Материал и методы

Материалом послужили 217 половозрелых лягушек родительских видов и гибридов (аллодиплоиды) комплекса *Rana esculenta* из 7 гибридных популяций окрестностей Киева и одной — Драбовского р-на Черкасской обл., хранящихся в рабочей коллекции отдела эволюционных и генетических основ систематики Института зоологии НАН Украины. Видовая принадлежность лягушек и гибриды (все они были аллодиплоидами) установлены с помощью биохимических генных маркеров.

В качестве идентификационных признаков использованы следующие: длина тела (L.), бедра (F.), голени (T.), предплюсны (C.s.), первого пальца (D.p.), внутреннего пяточного бугра (C.in.), расстояние между внешним пяточным бугорком и ближайшим (1-м) сочленовным бугорком IV пальца задней конечности (1IV), расстояние между внешним пяточным бугорком и 2-м сочленовным бугорком IV пальца задней конечности (2IV), длина складки от внешнего пяточного бугорка до голеностопного сустава (Pl.c.s.).

В анализ включены 16 индексов, отражающих пропорции тела (L./F., L./T., L./F.+T., L./C.s., L./2IV, D.p./C.in., T./C.in., F./T., T./1IV, C.s./2IV, C.in./1IV, D.p./2IV, T./C.s., L./Pl.c.s., T./Pl.c.s.), а также мультипликативный индекс Таращука (Таращук, 1985), рассчитанный по формуле: $I_x = T./C.in. \times D.p./C.in. \times T./C.s.$

Результаты и обсуждение

В результате проведенного корреляционного анализа были выделены наименее связанные индексы (на уровне $r < 0,7$), которые достоверно (на уровне $p < 0,01$) отличались при сравнении гибридов хотя бы с одним из родительских видов. Ими оказались: I_x , L./2IV, D.p./C.in., T./C.in., F./T., T./1IV, D.p./2IV,

Таблица 1. Среднее значение и ошибка среднего основных диагностических признаков у гибридов и родительских видов зеленых лягушек

Table 1. Mean values and standard error of mean of basic diagnostic traits in hybrids and paternal species of green frogs

Индекс	Прудовая лягушка		Гибриды (n=42)	Озерная лягушка	
	♀ (n=42)	♂ (n=43)		♀ (n=48)	♂ (n=42)
I_x	15,4±0,33	15,6±0,36	25,4±0,58	40,0±0,98	45,2±1,35
D.p./C.in.	1,63±0,02	1,64±0,02	2,07±0,03	2,52±0,04	2,67±0,04
T./C.in.	5,9±0,053	5,96±0,06	7,33±0,08	9,09±0,10	9,62±0,15
F./T.	1,07±0,005	1,06±0,007	1,01±0,01	1,0±0,008	0,97±0,01
T./1IV	1,95±0,013	2,0±0,014	2,11±0,01	2,31±0,02	2,29±0,02
L./2IV	2,98±0,024	3,05±0,025	2,88±0,02	3,0±0,02	3,02±0,03
C.s./2IV	0,81±0,005	0,83±0,006	0,82±0,005	0,87±0,005	0,85±0,005
D.p./2IV	0,36±0,004	0,36±0,003	0,39±0,003	0,42±0,005	0,41±0,004
T./Pl.c.s.	2,68±0,04	2,79±0,04	2,68±0,034	2,87±0,023	2,80±0,04
L., мм	56,6±0,57	60,9±0,7	66,7±1,32	79,9±0,8	84,2±1,37

Таблица 2. Доля диагностируемых особей родительских видов и гибридов при разной комбинации признаков

Table 2. Ratio of diagnosed individuals of paternal species and hybrids according to different traits combinations

Индекс	Надежность дискриминации, %			
	Прудовая лягушка	Гибриды	Озерная лягушка	В целом
L./2IV, D.p./C.in., T./C.in., F./T., T./IV, D.p./2IV, C.s./2IV, T./Pl.c.s.	100 (100)	92,9 (97,5)	100 (100)	98,5 (99)
Ix, L./2IV, F./T., T./1IV, D.p./2IV, C.s./2IV, T./Pl.c.s.	100 (100)	90,5 (97,5)	97,5 (97,7)	96,9 (98,1)
Ix, T./1IV	97 (100)	78,6 (95)	98,8 (97,9)	94,5 (97,5)
D.p./C.in., T./C.in.	100 (100)	71,4 (90)	96,7 (95,8)	93,1 (95)
Ix (=T./C.in.XD.p./C.in.XT./C.s.)	100 (100)	74 (92,5)	93,3 (93,8)	92,3 (95)
T./C.in.	100 (100)	71,4 (87,5)	95,6 (95,8)	92,6 (94,1)
D.p./C.in.	96,5 (93,5)	69 (75)	87,8 (85,4)	87,6 (84)
T./1IV	87,1 (83,9)	42,6 (72,5)	84,4 (81,3)	77,4 (79)
D.p./2IV	85,3	0	81,7	65,8
F./T.	82,4	0	77,8	64,5
C.s./2IV	70,7	0	70,7	55,8
T./Pl.c.s.	57,3	0	67,4	50

Примечание. В скобках указана доля надежно определенных особей при исключении из дискриминации самок (учитывая половой диморфизм).

C.s./2IV, T./Pl.c.s., T./C.s (табл. 1).

При изучении полового диморфизма с помощью дисперсионного анализа была вычислена достоверная зависимость приведенных выше индексов от пола животных ($p < 0,01$): для прудовой лягушки характерны достоверные различия по таким индексам — L./2IV, T./1IV, C.s./2IV, L./Pl.c.s.; для озерной лягушки — по F./T., D.p./C.in., T./C.in., C.s./2IV, Ix.; гибриды представлены в основном самцами.

Были уточнены пределы изменчивости $Ix = T./C.in. \times D.p./C.in. \times T./C.s.$ для каждой из форм зеленых лягушек (рис. 1): *R. esculenta* (= *lessonae* Camerano, 1882) $< 20 <$ гибрид $< 32 <$ *R. ridibunda*; возможна географическая изменчивость (ранее предполагалось *R. esculenta* (= *lessonae* Camerano, 1882) $< 22 <$ гибрид $< 42 <$ *R. ridibunda* (Тарашук, 1985)).

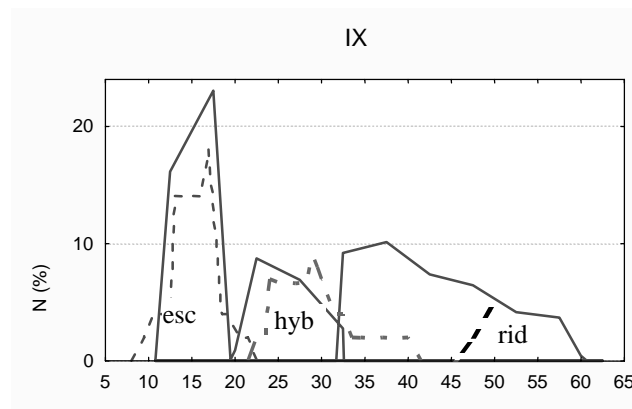


Рис. 1. Распределение гибридов и родительских видов *Rana esculenta* complex по индексу $Ix = T./C.in. \times D.p./C.in. \times T./C.s.$ (esc — *R. esculenta*; hyb — гибрид; rid — *R. ridibunda*, пунктиром отмечены ранее предполагаемые границы изменчивости Ix; Тарашук, 1985).

Fig. 1. Distribution of hybrids and paternal species *Rana esculenta* complex according to the index $Ix = T./C.in. \times D.p./C.in. \times T./C.s.$ (esc — *R. esculenta*; hyb — hybrid; rid — *R. ridibunda*; dotted line marks the previous to supposed variability borders of Ix; Tarashchuk, 1985).

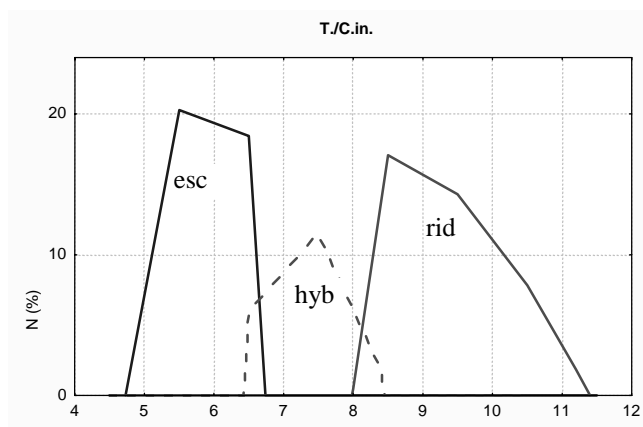


Рис. 2. Распределение гибридов и родительских видов *Rana esculenta* complex по индексу T./C.in. (esc — *R. esculenta*; hyb — гибрид; rid — *R. ridibunda*).

Fig. 2. Distribution of hybrids and paternal species of *Rana esculenta* complex according to the index T./C.in. (esc — *R. esculenta*; hyb — hybrid; rid — *R. ridibunda*).

Большинство признаков у гибридов, как и следовало ожидать, проявляют промежуточное наследование. Исключение составили индексы L./2IV и L./Pl.s.s., которые у гибридов оказались с меньшими значениями, чем у обоих родительских видов, что свидетельствует об общей тенденции уменьшения длины ступни у гибридов (рис. 4).

Характер распределения наиболее значимых идентификационных признаков приведен на рисунках 1–3. Для идентификации гибридов наиболее значимым и удобным является индекс Ix. Однако во всех случаях очевидна четкая разобщенность родительских видов по промерам и ограниченная трансгрессия гибридов с одним из родительских видов, что особенно заметно в двумерном распределении дискриминантных функций по индексам Ix и T./1IV (рис. 5).

С помощью дискриминантного анализа было выяснено, что ни один из отдельно взятых индексов в общем не дает 100%-ной надежности. Так, наибольшую идентификационную ценность имеют традиционно важные в определении видов зеленых лягушек индексы T./C.in. и D.p./C.in., которые идентифицируют гибридную выборку лягушек на 93 и 88% соответственно. Остальные индексы

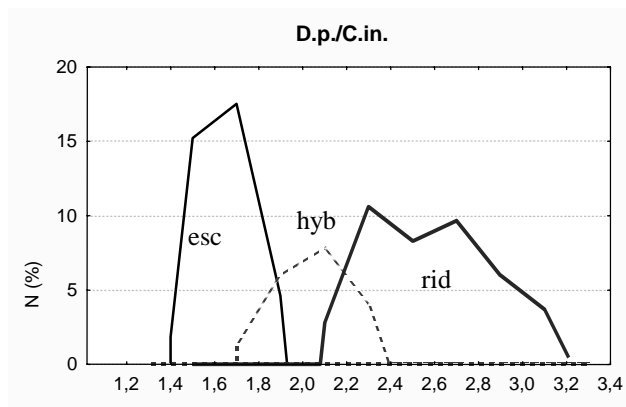


Рис. 3. Распределение гибридов и родительских видов *Rana esculenta* complex по индексу D.p./C.in. (esc — *R. esculenta*; hyb — гибрид; rid — *R. ridibunda*).

Fig. 3. Distribution of hybrids and paternal species of *Rana esculenta* complex according to the index D.p./C.in. (esc — *R. esculenta*; hyb — hybrid; rid — *R. ridibunda*).

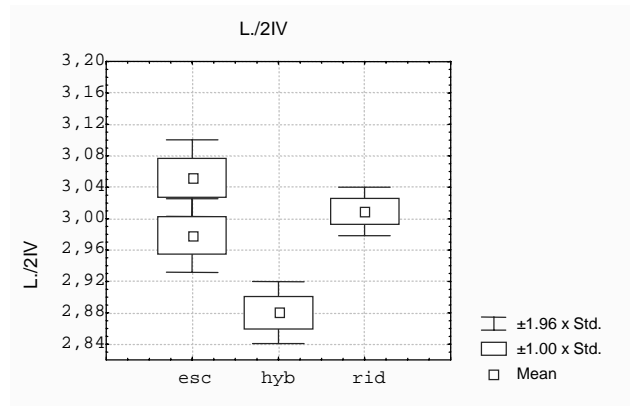


Рис. 4. Среднее значение (Mean), стандартная ошибка среднего (Std. Err.) и доверительный интервал ($1,96 \times \text{Std. Err}$) индекса L./2IV у гибридов и родительских видов *Rana esculenta* complex (m — самец, f — самка).

Fig. 4. Mean values (Mean), standard error of mean (Std. Err.) and confidence interval ($1,96 \times \text{Std. Err}$) of index L./2IV in hybrids and paternal species of *Rana esculenta* complex (m — male, f — female).

обладают существенно меньшей идентификационной способностью и позволяют определить от 77 до 50% всех особей в гибридной выборке (табл. 2).

Использование комплекса признаков позволяет существенно увеличить разрешающую способность морфометрических признаков (табл. 2). Так, использование всех 8 признаков дает наиболее точную идентификацию — 98,5%, а использование меньшего числа признаков в различных комбинациях дает от 95 до 93%. При этом мультипликативный индекс Тарашука позволяет определить 93% всех особей. Следует также подчеркнуть, что при использовании в дискриминантном анализе только самцов родительских видов (в Приднестровье гибридные самки встречаются крайне редко) разрешающая способность дискриминантного анализа существенно повышается (табл. 2). Полученные здесь оценки дискриминации в принципе соответствуют таковым для центральноевропейских популяций (например, Gubanyi, Korsos, 1992).

Необходимо отметить разную идентификационную точность индексов родительских видов и гибридов. Идентификация родительских видов выглядит впол-

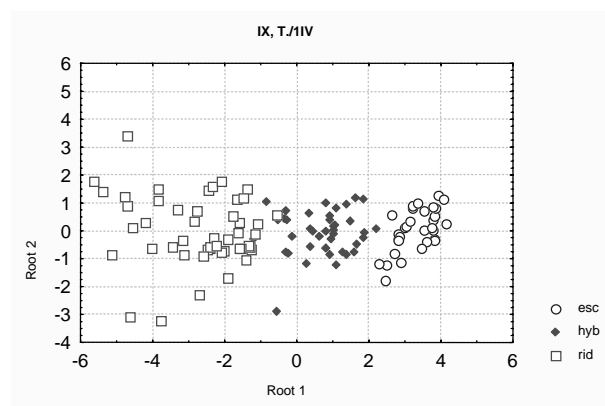


Рис. 5. Распределение особей зеленых лягушек по двум каноническим функциям, вычисленным с помощью дискриминантного анализа используя показатели Ix и T./1IV (esc — *R. esculenta*; hyb — гибрид; rid — *R. ridibunda*).

Fig. 5. Distribution of individuals of green frogs according to two canonical functions, calculated by of discriminant analysis, using indices Ix and T./1IV (esc — *R. esculenta*; hyb — hybrid; rid — *R. ridibunda*).

не надежной. У прудовой лягушки *R. esculenta* средний процент идентификационных особей по всем признакам составил 90%, у озерной лягушки *R. ridibunda* — 87,6%, у гибридов — только 49,2%. Причем по целому ряду признаков (D.p./2IV, F./T., C.s./2IV, T./Pl.c.s.; табл. 2) дискриминантный анализ вообще не позволяет точно идентифицировать гибридов.

Для более точного определения необходимо использовать несколько показателей, учитывать форму внутреннего пяточного бугра, сравнивать длину бедра и голени (голеностопные сочленения), цвет резонаторов у самцов, окраску животных и др.

Таким образом, проведенные исследования морфометрических показателей популяций гибридогенного комплекса *Rana esculenta* complex позволили выделить наиболее приоритетные признаки, а также уточнить границы изменчивости некоторых показателей с учетом полового диморфизма.

Авторы искренне благодарны С. В. Межжерину за оказанную помощь.

- Банников А. Г., Даревский И. С., Ищенко В. Г. и др. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР. — М.: Просвещение, 1977. — 414 с.
- Бергер Л. Является ли прудовая лягушка *Rana esculenta* complex обыкновенным гибридом? // Экология. — 1976. — № 2. — С. 37–43.
- Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю. Аберрантные фенотипы локуса Ldh-B в гибридных популяциях *Rana esculenta* complex (Amphibia, Ranidae) // Докл. РАН. — 1992. — 324, № 6. — С. 1314–1317.
- Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю. Генетическая нестабильность при наследовании электрофоретических вариантов, кодируемых локусом Ldh-B, в гибридных скрещиваниях представителей *Rana esculenta* complex (Amphibia, Ranidae) // Докл. РАН. — 1994. — 339, № 1. — С. 140–141.
- Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю. Диффузии генов в гибридных популяциях зеленых лягушек *Rana esculenta* L., 1758 complex (Amphibia, Ranidae) Приднепровья // Генетика. — 1997. — 33, № 3. — С. 358–364.
- Морозов-Леонов С. Ю. Генетичні процеси в гібридних популяціях зелених жаб *Rana esculenta* complex України: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 1998. — 16 с.
- Таращук С. В. К методике определения зеленых лягушек группы *Rana esculenta* (Amphibia, Ranidae) // Вестн. зоологии. — 1985. — № 3. — С. 83–85.
- Терентьев П. В. Лягушка. — М.: Сов. наука, 1950. — 354 с.
- Терентьев П. В., Чернов С. А. Определитель пресмыкающихся и земноводных. — М.: Изд-во АН СССР, 1949. — 256 с.
- Цауне И. А. Систематика и распространение гибридогенного комплекса *Rana esculenta* на территории Латвийской ССР: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1987. — 15 с.
- Цауне И. А., Боркин Л. Я. Новый вариант однополо-бисексуальных популяционных систем у европейских зеленых лягушек (*Rana esculenta* complex) // Гибридизация и проблема вида у позвоночных / Под ред. О. Л. Россолимо. — М.: Изд-во МГУ, 1993. — С. 34–52.
- Berger L. Biometrical studies on the population of green frogs from the environs of Poznan // Ann. zool. — 1966. — 23, N 11. — P. 303–324.
- Berger L. Morphology of the F₁ generation of various crosses within *Rana esculenta* complex // Acta Zool. cracoviensia. — 1968. — 13, N 13. — P. 301–324.
- Berger L. Principles of studies of European water frogs // Acta zool. cracoviensia. — 1988. — 31, N 21. — P. 563–580.
- Dubois A., Gunther R. Klepton and synklepton: two new evolutionary systematics categories in zoology // Zool. Jahrb. (Systematik). — 1982. — 109. — P. 290–305.
- Gubanyi A., Korsys Z. Morphological analysis of two Hungarian water frog (*Rana lessonae-esculenta*) populations // Amphibia-Reptilia. — 1992. — 13, N 3. — P. 235–242.
- Gunther R. Zum natürlichen Vorkommen und zur Morphologie triploider Teichfrösche, "*Rana esculenta*", L., in der DDR (Anura, Ranidae) // Mitt. zool. Mus. Berlin. — 1975. — 51, 1. — P. 145–158.
- Tunner H. G. Das Albumin und andere Bluteiweiße bei *Rana ridibunda* Pallas, *Rana lessonae* Camerano, *Rana esculenta* Linne und deren Hybriden // Zeits. zool. Syst. Evolutionsforschung. — 1973. — 11, N 3. — P. 219–233.
- Tunner H. G. The morphology and biology of triploid hybridogenetic *Rana esculenta*: does genome dosage exist? // II Intern. Symp. on Ecol. and Genet. of Europ. Water Frogs, 18–25 Sept. 1994, Wrocław, Poland, Ogielska. — Zoologica Poloniae. — 1994. — N 39. — P. 505.
- Tunner H. G., Dobrowsky M. T. Zur morphologischen, serologischen und enzymologischen Differenzierung von *Rana lessonae* und der hybridogenetischen *Rana esculenta* aus dem Seewinkel und dem Neusiedlersee (Österreich, Burgenland) // Zool. Anz. — 1976. — 197, N 1–2. — P. 6–22.