

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ ІМ. І.І. ШМАЛЬГАУЗЕНА

Ростовська Ольга Вікторівна

УДК 597.851:575.17(477)

**ГЕОГРАФІЧНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ЗМІН СТРУКТУРИ ПОСЕЛЕНЬ  
ГІБРИДНИХ ЗЕЛЕНИХ ЖАБ *PELOPHYLAX ESCULENTUS* COMPLEX  
(LINNAEUS, 1758) В МЕЖАХ УКРАЇНИ**

03.00.08 — зоологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ – 2011

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Відділі еволюційно-генетичних основ систематики  
Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, м. Київ.

**Науковий керівник:**

доктор біологічних наук, професор  
**Межжерін Сергій Віталійович,**  
завідуючий Відділом еволюційно-генетичних основ систематики  
Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України

**Офіційні опоненти:**

доктор біологічних наук  
**Вагін Юрій Вікторович,**  
провідний науковий співробітник Відділу молекулярної генетики  
Інституту молекулярної біології НАН України.

кандидат біологічних наук  
**Зиненко Олександр Іванович,**  
провідний науковий співробітник музею природи  
Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна.

Захист відбудеться «29» березня 2011 року о 10 годині

на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.153.01  
Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України  
за адресою: 01601, Київ, вул. Богдана Хмельницького, 15.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці  
Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України  
за адресою 01601, Київ, вул. Богдана Хмельницького, 15.

Автореферат розісланий «25» лютого 2011 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
кандидат біологічних наук



О. І. Лісіцина

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність.** Зелені жаби комплексу *Pelophylax esculentus* є одним з модельних об'єктів мікроеволюційних досліджень хребетних тварин Європи. Причина інтересу – приховане таксономічне й генетичне різноманіття, що проявляється в наявності ряду криптичних форм, а також гібридизація між собою двох найбільш поширених видів: озерної *P. ridibundus* і ставкової *P. esculentus* (= *lessonae*) жаб, що супроводжуються утворенням алоплоїдних гібридів *P. esculentus* × *P. ridibundus* (Бергер, 1976; Межжерин, Морозов-Леонов, 1993; Berger, 1968; Günther, 1979; Tunner, 1991; Spolsky, Uzzell, 1986; Vinogradov et al., 1990; Plötner, Ohst, 2001; Ogielska et al., 2004; Christiansen et al., 2010 та ін.).

Дослідження гібридного комплексу зелених жаб у різних частинах їх сумісного ареалу протягом трьох останніх десятиріч довело, що гібридні популяції мають певну різноякісність. Перш за все, вона проявляється в нестабільності гаметогенезу в гібридів. Гібриди – це зазвичай алодиплоїди, котрі продукують гаплоїдні гамети. При цьому на передуючих мейозу стадіях відбувається елімінація геному одного з батьківських видів, частіше за все це хромосомний набір *P. esculentus*; рідше елімінація не відбувається, тоді гібридами продукуються диплоїдні гамети (Vinogradov et al., 1990; Морозов-Леонов и др., 2009 та ін.). В останньому випадку при заплідненні гібридних диплоїдних гамет гаплоїдними гаметами батьківських видів утворюються алотриплоїди. Можуть відбуватися й інші порушення премейотичної елімінації, наслідком чого стають обмежені інтрогресії, так звані дифузії ядерних генів (Межжерин, Морозов-Леонов, 1994, 1997). Існує й неоднозначність у тенденціях статевої належності гібридів, яка змінюється в різних частинах ареалу (Berger et al. 1991). У результаті в одних регіонах гібриди можуть бути виключно самками, в інших – самцями, у третіх – обидві статі знаходяться в рівному співвідношенні.

Тим не менш, не дивлячись на весь арсенал знань про гібридних зелених жаб, здобутий за допомогою різних підходів: морфологічного (Таращук, 1981; Некрасова, Морозов-Леонов, 2001; Некрасова, 2002; Nekrasova et al., 2005; Куртяк, 2003 та ін.), каріологічного (Иванов, Мадянов, 1973; Сурядная, 2003; Вуссі et al., 1990; Ручин и др., 2010), біохімічного генного маркування (Межжерин, Морозов-Леонов, 1993, 1994, 1996, 1997; Межжерин и др., 2005; Hotz, Semlitsch, 2000 та ін.), аналізу мінливості нуклеотидної послідовності (Gueh, 1995; Raghianti et al., 1999; та ін.), ДНК-проточної цитометрії (Боркин и др., 1987; Borkin et al., 2004; Christiansen et al., 2010), планіметричних досліджень клітини (цитометрія) (Berger, 1977; Polls Pelaz, Graf, 1988; Schmeller et al., 2001 та ін. ), – дотепер не було спроб встановити закономірності географічної картини гібридизації видів, зокрема, прив'язати різноякісність гібридів в різних частинах ареалу до особливостей генетичної структури батьківських видів. Тим паче, що ці види в межах свого ареалу є генетично дуже неоднорідними (Межжерин, Песков, 1992; Beerli, 1994).

Ареною такого роду дослідження цілком може бути Україна, на більшу частину якої припадає зона гібридизації зелених жаб. Очевидно, одночасне

використання ряду генетичних методів для ідентифікації структури гібридних поселень зелених жаб дозволить виявити закономірні географічні зміни, які згодом можна зв'язати з історією формування батьківських видів. Саме це визначає роботу як сучасне й актуальне дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами.**

Дисертація виконана в рамках планової теми Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України № III – 8 – 06 «Еволюційно-генетичні перетворення в деяких модельних групах тварин і видів, що знаходяться під загрозою зникнення» (державний реєстраційний номер теми 0106U000379).

**Мета і завдання дослідження.** Мета роботи – виявлення географічних закономірностей змін структури гібридних поселень зелених жаб комплексу *P. esculentus* у межах України.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання.

1. Встановити біотипічну структуру зелених жаб у межах України й відносну чисельність кожного біотипу.
2. Провести алозимний аналіз популяцій батьківських видів і визначити характер географічної мінливості в межах кожного виду, побудувати геногеографічні карти.
3. Проаналізувати гібридів за плоїдністю.
4. Визначити особливості поширення різних гібридних біотипів по території України.
5. З'ясувати статеву належність гібридів і географічні тенденції щодо її зміни.
6. На підставі побудованих геногеографічних карт реконструювати картину реколонізації ареалів батьківських видів у постльодовиковий період.
7. Окреслити південну межу поширення гібридних поселень.

*Об'єкт дослідження* – зелені жаби комплексу *Pelophylax esculentus*.

*Предмет дослідження* – гібридизація, поліплоїдія, географічна мінливість.

*Методи дослідження* – біохімічне генне маркування, цитометрія, ГІС-моделювання, статистичний аналіз.

**Наукова новизна отриманих результатів.**

Уперше проведений аналіз популяцій зелених жаб на всій території України з акцентом на генетичну структуру гібридів. Показано, що *P. esculentus* у межах України має більшу ступінь генетичної диференціації, ніж *P. ridibundus*. Встановлено наявність вузької перехідної зони між східною та західною формами *P. esculentus*, що картується за мінливістю частот алелей локусу *Ldh-B*. Доведено генетичну своєрідність ставкових жаб басейну Сіверського Дінця, котрі маркуються фіксацією унікального алелю *sAat*<sup>100</sup>. Підтверджена практична відсутність поліплоїдних гібридних особин у популяціях України, за виключенням басейну Сіверського Дінця, де частка поліплоїдів біотипу *P. esculentus* – *2 ridibundus* склала 15% від загальної кількості гібридів, що в 3,4 рази нижче, ніж було відмічено в перші роки ХХІ ст. Встановлена чітка тенденція до зміни співвідношення статей гібридів у меридіональному напрямку. Підтверджено, що знахідки гібридів беккросів приурочені до басейну Середнього Дніпра і Сіверського Дінця. Наводяться

докази того, що виявлений характер географічної диференціації популяцій *P. esculentus* може бути пов'язаний із географією льодовиків у період Дніпровського зледеніння.

**Практичне значення отриманих результатів.** Матеріали дослідження можуть бути використані для розробки нових підходів до ГІС-моделювання при складанні генетичних карт і атласів природних ресурсів, для прогнозування майбутнього стану батрахофауни фауни України, а також для розробки природоохоронних програм у місцях, котрі являються південними межами існування гібридної форми і ставкової жаби. Передбачається можливість використання результатів роботи у вузівських курсах герпетології, теорії еволюції, генетики.

**Особистий вклад здобувача.** Дисертантом зібрано й проаналізовано 1268 екз. зелених жаб. Створена електронна база даних Відділу еволюційно генетичних основ систематики, що включає 6550 генетично промаркованих особини. Проведено біохімічне генне маркування й цитометричний аналіз власних зборів. Здійснено ГІС-моделювання й побудовані геногеографічні карти. Самостійно проведена статистична обробка, теоретичний аналіз та узагальнення результатів.

**Апробація результатів дослідження.** Матеріали роботи були представлені на міжнародній науковій конференції, присвяченій 200-літтю від дня народження Ч. Дарвіна «Сучасні погляди на еволюцію органічного світу» (Київ, 2009), міжнародній конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (Алушта, 2009), конференції молодих вчених в Інституті зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, (Київ, 2010). Матеріали дисертації апробовані на відкритих засіданнях Відділу еволюційно генетичних основ систематики Інституту зоології.

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 6 наукових праць, 3 з яких у спеціалізованих виданнях, рекомендованих ВАК України.

**Структура і обсяг роботи.** Дисертація складається із вступу, основної частини, що включає 7 розділів, висновків та списку літератури. Основна частина викладена на 115 сторінках, проілюстрована 17 таблицями, 42 рисунками. Список літератури містить 243 джерела, із них 152 латиницею.

**Подяки.** Особлива подяка науковому керівнику, доктору біологічних наук, професору С. В. Межжеріну. Висловлюю вдячність усім співробітникам Відділу еволюційно генетичних основ систематики Інституту зоології за цінні поради, консультації й постійну методичну підтримку, персонально С. Ю. Морозову-Леонову, В. М. Титарю, О. І. Жалай, І. І. Козиненко, І. І. Дзеверіну, М. А. Гхазалі, Н. С. Заводніковій, Л. В. Федоренку.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Розділ 1. Огляд літератури. Природна гібридизація як явище.** Розглядається вивчення природної гібридизації тварин в історичному ракурсі, наведені приклади та класифікація форм природної гібридизації (Майр, 1963). Описані варіанти «вирішення» гібридними алоплоїдними організмами проблем,

що виникають у зв'язку з неможливістю проходження нормального гаметогенезу (амфідиплоїдія, партеногенез, гіногенез, гібридогенез).

**Вивчена історія досліджень комплексу зелених жаб *P. esculentus* (Linnaeus, 1758).** Приводиться аналіз попередніх таксономічних і популяційно-генетичних досліджень зелених жаб, акцентований на доведення того, що процес відтворення гібридів, а також генетична й статева структура гібридів мають локальну специфічність, яка, очевидно, викликана зміною генетичної структури батьківських видів у межах ареалу.

Підкреслюється, що згідно кодексу зоологічної номенклатури для ставкової жаби повинна використовуватися назва *P. esculentus* (Linnaeus, 1758), для озерної *P. ridibundus* (Pallas, 1771), тоді як гібриди ставкової й озерної жаб згідно їх алоплоїдного статусу повинні мати назву відповідно до традицій, що склалися при дослідженні подібних комплексів, а саме для алодиплоїдів: *P. esculentus – ridibundus*.

**Розділ 2. Матеріал і методи. Матеріал.** Матеріалом для дослідження стали збірки зелених жаб комплексу *P. esculentus* із території України (рис. 1), котрі були зібрані протягом 1986 – 2010 років у кількості 6550 екз. зелених жаб із 233 локалітетів. Власні збори склали 1268 особин.

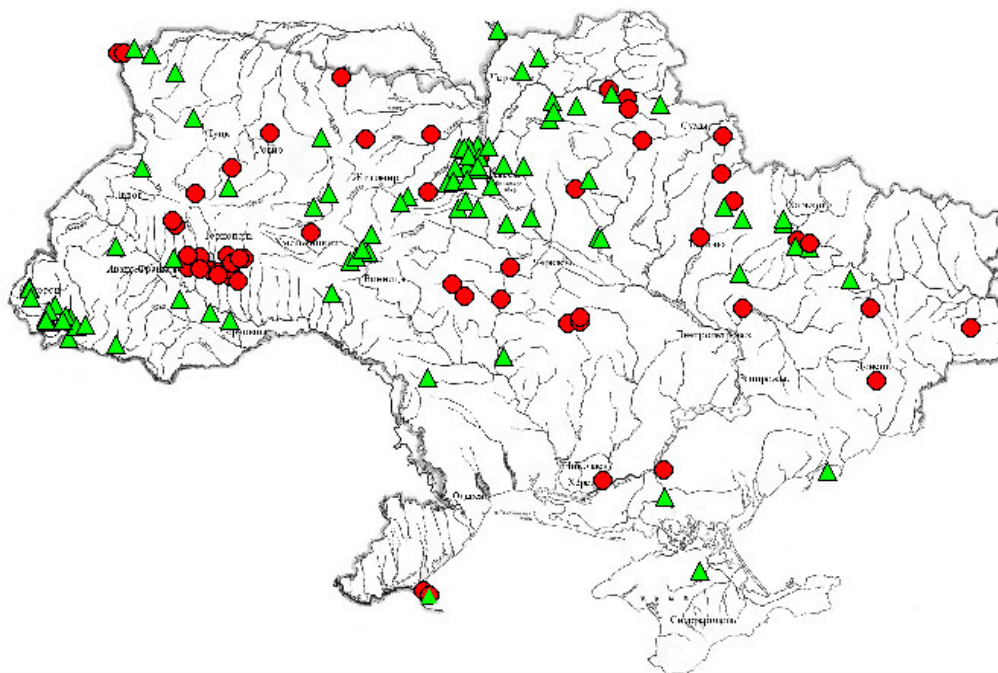


Рис.1 Місця збору матеріалу: кола – власноруч опрацьований матеріал, трикутники – база Відділу еволюційно генетичних основ систематики.

**Методи.** Біологічний аналіз передбачав визначення статі як за зовнішніми екстер'єрними ознаками, так і внутрішніми органами (Бергер, 1976, Банников и др., 1974). Алозимний аналіз. Електрофорез в 7,5% поліакриломідному гелі проводився в безперервній трис-ЕДТА·Na<sub>2</sub>-боратній системі буферів (Peacock et al., 1965). У якості маркерів були взяті локуси, які чітко діагностують як батьківські види, так і гібридні біотики (Межжерин, Песков, 1992, Межжерин,

Морозов-Леонов, 1993). Зокрема, у екстрактах, що були отримані з м'язів, аналізували локуси *sAat* і *mAat*, печінки – *Es-1*, *Es-5*, нирок – *Ldh-B*, крові – *Alb*.

**Цитометрія.** Плоідність організмів визначалась за допомогою планіметричного аналізу, який включав визначення площ еритроцитів крові. Вимірювалась мала й велика осі еліпса, після чого обчислювалась площа прямокутника, описаного навколо нього. На одному мазку аналізувалось не менш ніж 20 клітин.

**Інформаційна обробка матеріалу.** Для формування бази даних і математичної обробки використовувались стандартні програмні пакети. Для побудови геноеографічних карт та біокліматичного моделювання – програми MapInfo Professional v.7.8, Diva GIS.

### Розділ 3. Ідентифікація біотипів і видів зелених жаб.

**Біохімічне генне маркування.** Використовуючи вищеописаний комплекс методів, а також базуючись на попередніх дослідженнях щодо методів визначення біотипової належності гібридів (Межжерин, Морозов-Леонов, 1994, 1997; Межжерин и др., 2004), на території України встановлена наявність шести біотипів зелених жаб (табл. 1):

- батьківські види: **(I)** *P. ridibundus* – озерна жаба (**R**) (52,9% від загальної кількості); **(II)** *P. esculentus* – ставкова жаба (**E**) (12,5%);
- гібрид-алодиплоїд: **(III)** *P. esculentus* – *ridibundus* (24,1%), за генетичною структурою гібридна форма F1 відповідно зі співвідношенням геномів батьківських видів 1:1;
- гібриди-беккроси: **(IV)** диплоїдний зворотній гібрид зі ставковою жабою (**B<sub>E</sub>**) (3,2%), за генетичною структурою є алодиплоїдом *P. esculentus* – *ridibundus* із рекомбінацією генетичного матеріалу та з незначним переважанням генома *P. esculentus*; **(V)** диплоїдний зворотній гібрид з озерною жабою (**B<sub>R</sub>**), за генетичною структурою особини *P. ridibundus* з інтрогресією генів ставкової жаби; **(VI)** триплоїдний зворотній гібрид *P. esculentus* – 2 *ridibundus* (**B<sub>RRE</sub>**) (0,2%), що містить один геном ставкової і два – озерної жаби.

**Цитометрія.** Розподіл досліджених жаб за середньоіндивідуальними розмірами еритроцитів, наведений на рис. 2, указує на наявність двох розподілів, що відрізняються за об'ємом.

Перший розподіл – більше 98% досліджених екземплярів включає в себе особини зі значенням площі еритроцитів від 264 мкм до 458 мкм при середньому значенні  $359 \pm 1,3$  мкм. У цю групу входять як практично всі особини батьківських видів, так і більшість гібридів.

Другий розподіл містить 17 екземплярів з розмірами еритроцитів від 500 мкм до 609 мкм із середнім  $553 \pm 9,4$  і включає головним чином гібриди й поодинокі особини батьківських видів. Середні значення цих двох розподілів

Таблиця 1.

**Алельний склад особин батьківських видів і гібридних біотипів  
зелених жаб із території України**

Локус	Алель	Біотиби					
		R	E	F1	B <sub>(E)</sub>	B <sub>(R)</sub>	B <sub>(RRE)</sub>
<i>sAat</i>	45		+	+	+		+
	100	+	+	+	+	+	+
<i>mAat</i>	6	+		+	+	+	
	100	-	+	+	+	-	-
<i>Ldh-B</i>	64	-	+	+	+	-	+
	66*	-	--	-	+	-	-
	71*	-	-	-	-	+	-
	77	+	-	+	+	+	+
	81	+	-	+	+	+	+
	88	-	+	+	-	-	-
	100	+	-	+	+	+	+
<i>Es-1</i>	85	-	+	+	+	-	-
	87	-	+	+	+	-	+
	91	+	+	+	+	+	+
	96	+	+	+	+	+	-
	100	+	+	+	+	+	+
	110	+	-	+	+	-	-
<i>Es-5</i>	95	-	+	+	+	-	+
	100	+	-	+	+	+	+
<i>Alb</i>	92	+	-	+	+	+	+
	96	+	-	+	+	+	+
	100	-	+	+	+	-	+
N		3463	832	1559	215	452	27

\*Алелі, що мають аберантну природу. N – число особин певного біотипу.

відносяться як 1:1,5, що відповідає збільшенню площі еритроцитів у триплоїдних особин у порівнянні з диплоїдними, котре звичайно складає 33% (Schmeller et al., 2001).

Єдина особина з проміжним значенням площі 472 мкм – ювенільний гібрид, яка відповідно до генотипу *Ldh-B*<sup>64/77/100</sup> є *P. esculentus* – 2 *ridibundus*.

З 17 цитометрично проаналізованих особин триплоїдів 15 були гібридами *P. esculentus* – 2 *ridibundus*, що чітко видно з алозимних спектрів, і 2 представляли батьківські види: *P. ridibundus* з розмірами 502 мкм, *P. esculentus* – 501 мкм. За допомогою аналізу алозимних спектрів були ідентифіковані за ефектами дози генів локусів *sAat* і *Ldh-B*, або тригетерозиготами локусу *Ldh-B* ще 12 алотриплоїдних гібридів. Таким чином визначено, що частка поліплоїдів серед досліджених на території України жаб складає тільки близько 0,4%, серед гібридів – 1,7%, серед батьківських видів – 0,04%. Очевидно, що виявлені триплоїдні гібриди утворилися шляхом беккросування алодиплоїдів, що продукують диплоїдні гамети, з особинами озерної жаби. Це підтверджує й та обставина, що виявлені триплоїдні гібриди відмічені в поселеннях, де поряд із гібридами (у більшості самці) присутніми були тільки озерні жаби. Що



стосується триплоїдних особин батьківських видів, імовірно за все, – це автополіплоїди.

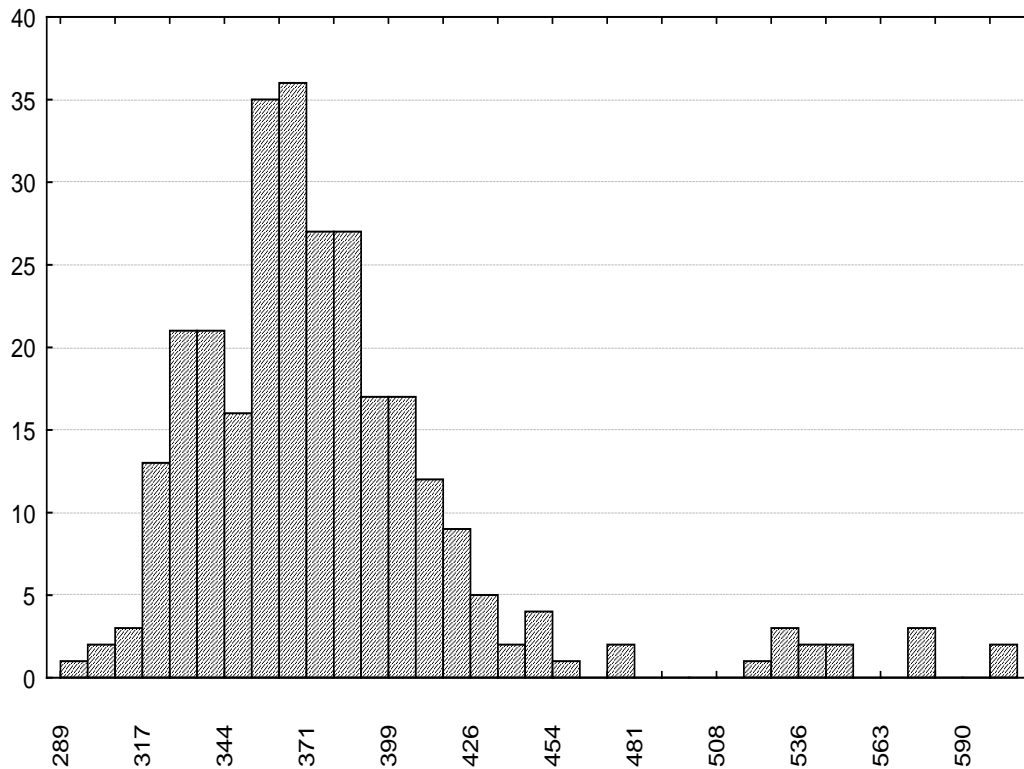


Рис. 2 Розподіл особин зелених жаб (гібридів і батьківських видів) за середньою площею еритроцитів. По осі абсцис – середня площа еритроцитів (мкм<sup>2</sup>), по осі ординат – число особин.

#### Розділ 4. Особливості поширення й генетичної структури батьківських видів.

**Мінливість алозимів у *Pelophylax esculentus* (= *lessonae*).** Аналіз географічної мінливості зроблений за трьома високополіморфними у цього виду локусами. Оцінка частот алелей проводилася не тільки за особинами ставкової жаби, але й за гібридами *P. esculentus* × *P. ridibundus*, що дозволило підрахувати частоти алелей у геномах ставкової жаби з південної межі розповсюдження виду (Нижнього Дунаю, Нижнього Дніпра, Сіверського Дінця), де були знайдені тільки гібриди.

*sAat*. Європейським популяціям *P. esculentus* властивий алель *sAat*<sup>45</sup>, що кодує продукт із меншою електрофоретичною рухливістю. В українських популяціях локус поліморфний, із фіксацією альтернативного алелю *sAat*<sup>100</sup> у гібридів із басейну Сіверського Дінця, характерного й для озерної жаби (рис. 3), що обумовлює неможливість чіткого визначення гібридів за цим локусом у гібридних популяціях басейну. Характер географічної мінливості дає всі підстави вважати, що інтрогресії генів, викликані міграціями, відбуваються в західному напрямі.

*Es-1*. Локус представлений чотирма алелями з вираженою географічною мінливістю і п'ятим рідкісним варіантом, що зустрічається лише в Західній

Україні. Для західних і правобережних поселень властивий  $Es-1^{91}$  (рис. 6), для лівобережних –  $Es-1^{100}$ . Якщо тенденція до чіткої диференціації західних і східних популяцій із цими алелями очевидна, то  $Es-1^{87}$  не має вираженої довготної мінливості.

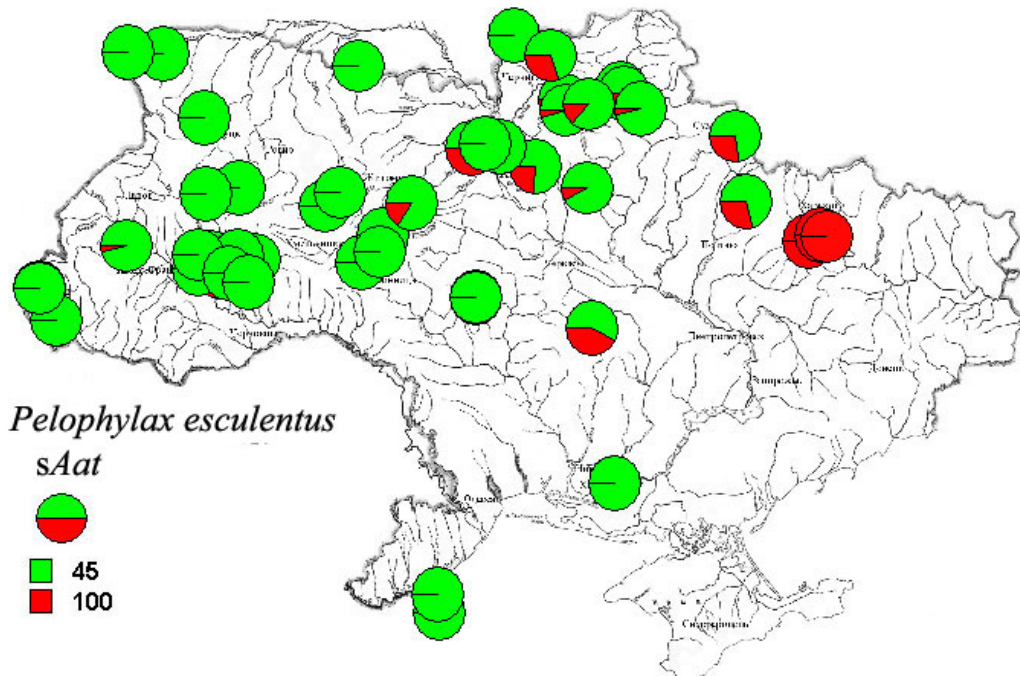


Рис. 3. Географічна мінливість частот алелей локусу *sAat* ставкової жаби в межах України.

*Ldh-B*. Представлений двома алелями, що характерні для південно- й західноєвропейських популяцій (Günter, Hahnel, 1976; Hotz, Semlitsch, 2000), де вони зустрічаються майже в рівних пропорціях. У межах України схожий поліморфізм зберігається тільки в західних регіонах (Закарпаття, Прикарпаття, Волинь, Поділля), у той час як у популяціях Дніпровського басейну й Сіверського Дінця фіксованим є алель  $Ldh-B^{64}$  (рис. 4). Однак, фіксації альтернативних алелей у західних і східних популяціях, які повинні бути у справжніх вікарних видів, у межах України не спостерігаються, хоч очевидною є обмеженість міграцій особин носіїв алелю  $Ldh-B^{88}$  у східному напрямі.

Інтерес викликає різкий перехід у частотах алелей між західно- й центральноукраїнськими популяціями *P. esculentus*, який співпадає з кліматичними границями, зокрема ізогістами літньої вологості в засушливі роки та ізотерм нижніх максимумів зимових температур (Природа Украинской ССР..., 1984). Вузька перехідна зона в частотах алелів шириною кілька десятків км (із басейну Південного Бугу до правих приток Дніпра), що зберігається на ділянці суцільного поширення ставкової жаби, є дуже симптоматичною. Справа в тім, що вона залишається стабільною ймовірно протягом тисячоліть, що підтверджує певну історичну відокремленість популяцій *P. esculentus* Західної України, що могло вплинути на особливості структури й гаметогенеза гібридів.

Таким чином, західноукраїнські популяції жаби ставкової маркуються присутністю алелей  $Ldh-B^{88}$  і  $Es-1^{91}$ , а східні – алелей  $Es-1^{100}$  і  $sAat^{100}$ , при чому

останній фіксований у популяціях Сіверського Дінця на південно-східній межі ареалу цього виду.

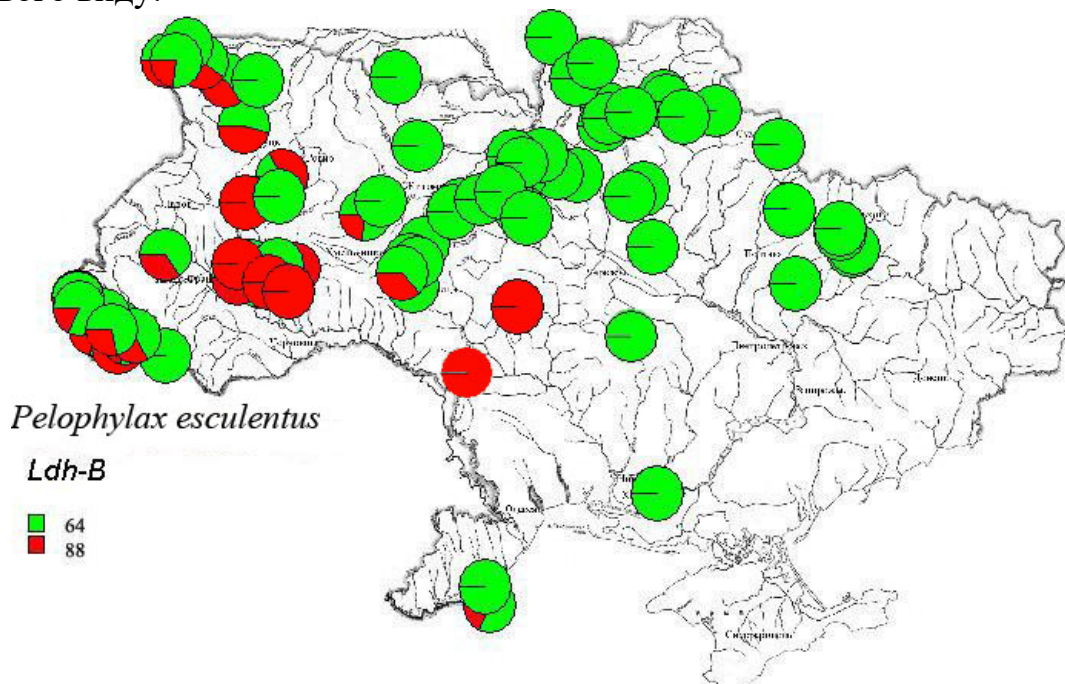


Рис. 4 Географічна мінливість частот алелей локусу *Ldh-B* ставкової жаби в межах України.

**Мінливість алозимів у *Pelophylax ridibundus*.** Дослідження проведено на підставі аналізу мінливості трьох високо поліморфних у цього виду локусів.

*Ldh-B*. Має місце деяке переваження алелю *Ldh-B*<sup>77</sup> у Закарпатському регіоні й басейні Сіверського Дінця. Тоді як алелі *Ldh-B*<sup>81</sup> та *Ldh-B*<sup>100</sup> більш-менш рівномірно поширені по всьому регіону. Географічні зміни частот алелів не виявлені, що особливо помітно на фоні мінливості популяцій *P. esculentus* за цим самим локусом. Так, нахил регресійної лінії свідчить про зменшення частоти алелю *Ldh-B*<sup>100</sup> в популяціях озерної жаби зі збільшенням довготи лише на 2%, що не є вірогідним ( $R^2 = 3\%$ ,  $p = 0,08$ ), частоти алелів *Ldh-B*<sup>77</sup> і *Ldh-B*<sup>81</sup> змінюються ще менше ( $R^2 < 2\%$ ,  $p > 0,149$ ) (рис. 5). Тоді як у ставкової жаби географічна мінливість за цим локусом чітко виражена, нахил регресійної лінії (рис. 5) свідчить про зміну частот алелів не менш як на 40%, що є цілком вірогідним ( $R^2 = 23\%$ ,  $p < 0,001$ ).

*Es-1*. Озерна жаба має чотири алелі цього гена, які більш менш рівномірно поширені в дослідженому регіоні. Невипадково різниця в частотах складає лише 1-2%, а нахил регресійної лінії (рис. 6) свідчить про відсутність вірогідних змін у частотах алелю локусу *Es-1* у відповідності до збільшення довготи ( $R^2 < 2\%$ ,  $p > 0,369$ ), у той час як у ставкової жаби частоти алелів змінюються більш ніж на 40%, що є вірогідним ( $R^2 = 29\%$ ,  $p < 0,001$ ) (рис. 6).

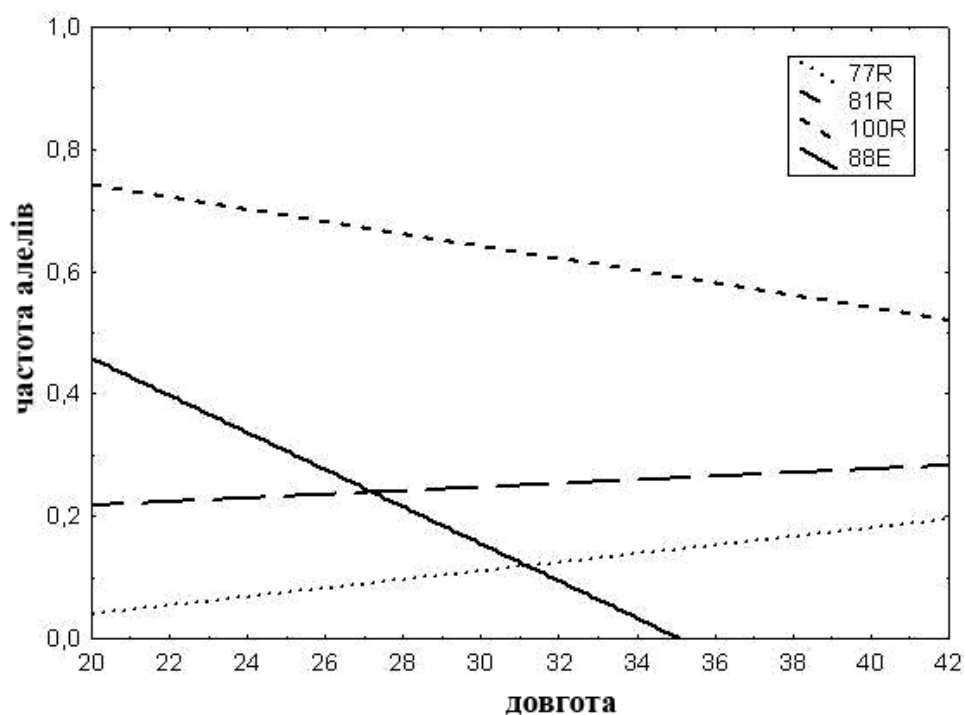


Рис. 5. Лінії регресії, що відображують зміни частот алелю  $Ldh-B^{88}$  в популяціях ставкової (E) жаби, а також змінні частот алелів  $Ldh-B^{77}$ ,  $Ldh-B^{81}$ ,  $Ldh-B^{100}$  в популяціях озерної жаби (R) в залежності від довготи.

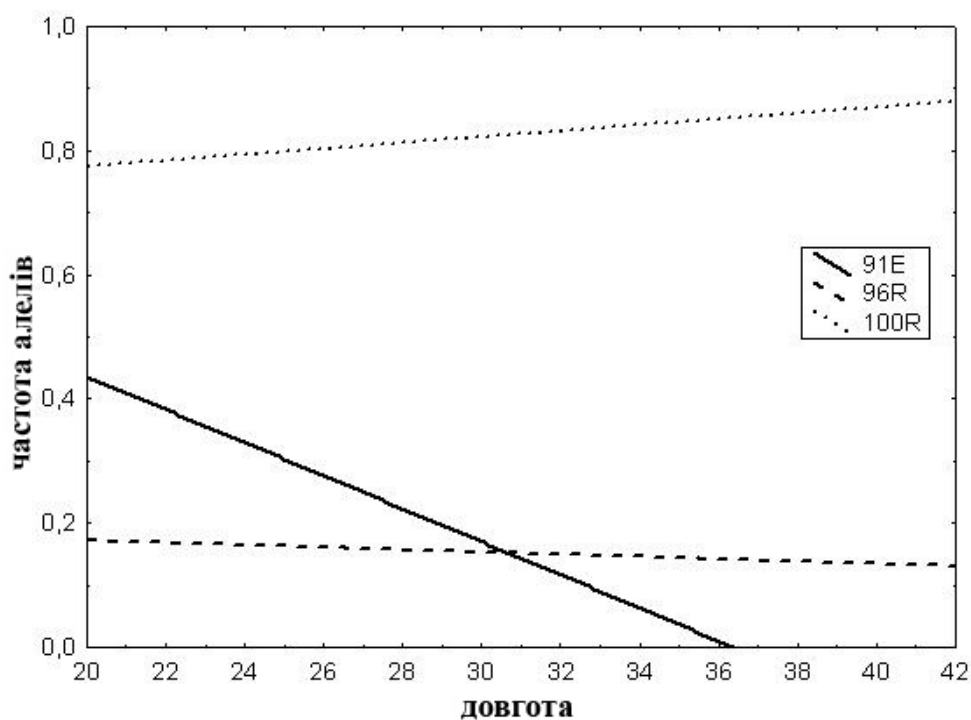


Рис. 6. Лінії регресії, що відображують зміни частот алелю  $Es-1^{91}$  в популяціях ставкової (E) та  $Es-1^{96}$ ,  $Es-1^{100}$  озерної (R) жаб в залежності від довготи.

$Es-5$ . За цим локусом певних тенденцій географічної мінливості також не виявлено.

Відсутність чіткої генетичної диференціації в популяціях озерної жаби в межах України перш за все пов'язана з тим, що ареал озерної жаби набагато ширший ніж ставкової і еволюційно-генетичні події в цього виду розгортаються, як довели дослідження (Межжерин, Песков, 1992), на більш значній арені. До цього слід додати, що озерна жаба – численніший вид із відповідно більшим міграційним потенціалом. Крім того, оскільки вона веде водний спосіб життя, то для неї кліматичні границі на суходолі просто не мають такого значення, як для ставкової. Очевидно, все це призводить до стирання границь у частотах алелей між географічними популяціями озерної жаби.

#### **Розділ 5. Закономірності поширення різноманітних гібридних біотипів.**

**Гібриди-алодиплоїди *P. esculentus* – *ridibundus***. Знайдені на всій території сумісного існування батьківських видів (рис. 7). За своєю чисельністю є другим після озерної жаби біотипом (табл. 1), що майже в два рази перевищує батьківський вид *P. esculentus*. Це може слугувати підставою для припущення, що у випадку з зеленими жабами гібридизація може розглядатися як фактор винищення одного гібридизуючого виду іншим, коли більш чисельний і екологічно агресивний вид, що розширює свій ареал, поглинає відносно рідкісний вид (Межжерин и др., 2009).

На південній межі гібридизації цих видів алодиплоїди виявлені у вибірках, у яких був відсутній другий батьківський вид, що може бути свідоцтвом певної автономності репродукції гібридів. Це перш за все стосується Сіверського Дінця, де було знайдено 168 гібридних особин, Пониззя Дунаю (95 особин гібридів) і Пониззя Дніпра (14 екз. гібридів). Слід додати, що гібридні особини *P. esculentus* – *ridibundus* не були знайдені в степовій зоні України (за виключенням Нижнього Дунаю й Дніпра, де вони утворюють ізольовані поселення). Зокрема, не підтверджена присутність гібридів у нижній течії Сіверського Дінця, де вони раніше відмічалися (Borkin et al., 2004) і в заплаві р. Самара, про знахідки в якій також існують повідомлення (Булахов и др. 2007; Лада и др., 2009). Імовірно, за останні десять років південна межа поширення гібридних особин зсунулась на північ на десятки, а місцями й на сотні км.

**Диплоїдні гібриди-бекроси**. Особини, що за зовнішнім виглядом майже не відрізняються від звичайних озерних жаб, однак містять модифіковані електроморфи гену *Ldh-B*, характерні для ставкової жаби, були знайдені майже виключно в басейні Дніпра. Така їх генетична структура вказує на інтрогресію генів останньої при зворотних схрещуваннях гібрида з озерною жабою. Якщо загалом частка таких жаб складає приблизно 7%, то в басейні Дніпра на них припадає 10,6 % усіх досліджених жаб, а частка їх серед озерних жаб тут склала 20%. Крім того кілька особин було знайдено в басейні Сіверського Дінця і в районі Шацьких озер (рис. 8).

До басейну Дніпра чітко приурочені й гібридні бекроси зі ставковою жабою, особини, що за генетичною структурою й фенотипом були дуже подібні до гібридів F1, однак відрізняються від них рекомбінованим генотипом завдяки гомозиготному сполученню генів локусу *Ldh-B*. Їх частка серед усіх досліджених особин була в два рази меншою (3,3%), ніж попереднього біотипу,

а серед алодиплоїдів цього регіону склала 36%. У басейні Дніпра частка гібридів-беккросів зі ставковою жабою складає 6,2%. За межами Дніпровського басейну є лише поодинокі знахідки (рис. 8).



Рис. 7. Зона поширення алодиплоїдів *P. esculentus* – *ridibundus* на території України. Місця знахідок (повні кола) і непідтверджені знахідки (неповні кола), південні ізоляти (овали).

**Триплоїдні гібриди-беккроси.** Вони зустрічалися головним чином у басейні Сіверського Дінця, де було знайдено 25 особин, 13 із них були визначені на підставі алозимів і даних за розмірами еритроцитів, інші – тільки за алозимним аналізом. Ще по одній особині знайдено в пониззі Дніпра й Шацьких озерах. У всіх випадках, судячи з електрофоретичних спектрів, це були *P. esculentus* – 2 *ridibundus*. Таким чином підтверджується, що частка поліплоїдних особин на території України вкрай низька, за винятком басейну Сіверського Дінця. Причому за отриманими даними частка поліплоїдних особин у басейні Сіверського Дінця зараз складає 15% від загального числа гібридів, що в 3,4 рази нижче, ніж у перші роки XXI ст. (табл. 2). Слід додати, що всі триплоїдні гібриди були ідентифіковані як *P. esculentus* – 2 *ridibundus*, а альтернативні триплоїди *P. 2 esculentus* – *ridibundus*, які утворюються при зворотній гібридизації зі ставковою жабою, що раніш відмічалися як присутні в рівній пропорції з попереднім біотипом, не знайдені. Останнє виглядає цілком логічним, оскільки для утворення подібної форми необхідно, щоб відбулося зворотнє схрещування з одним із батьківських видів, а саме зі ставковою жабою, яка в басейні Середнього Сіверського Дінця в останньому десятилітті була дуже рідкісним видом.



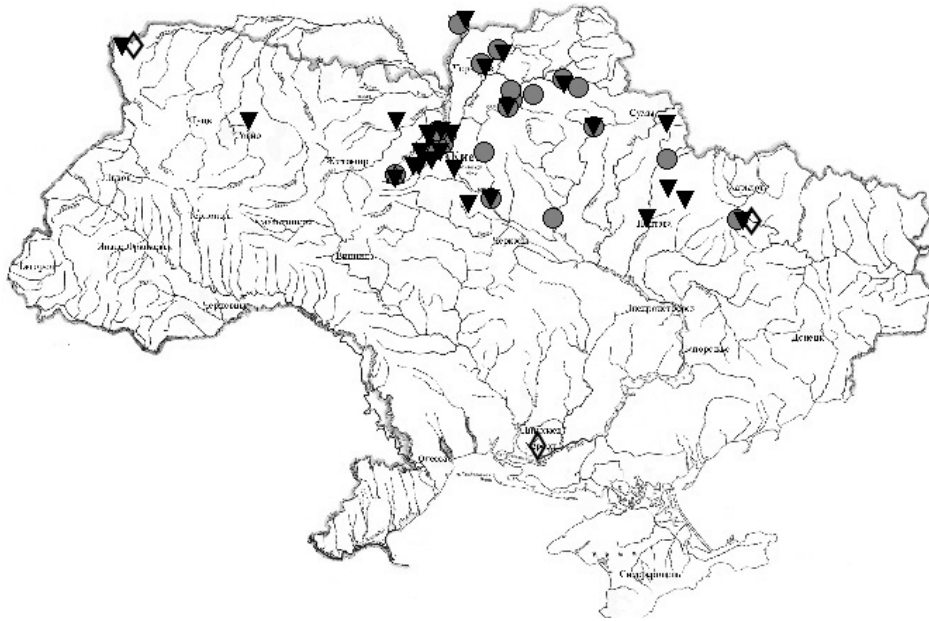


Рис. 8. Місця знахідок диплоїдних гібридів-беккросів: з озерною жабою (трикутники) і ставковою жабою (кола); триплоїдних гібридів – (ромби).

Таблиця 2. Структура поселень зелених жаб у басейні Сіверського Дінця в різні періоди досліджень		
	2002/04*	2006/09
<i>P. ridibundus</i>	220	239
<i>P. esculentus</i>	5	-
F1	158	168
B <sub>R</sub>	-	1
B <sub>E</sub>	-	1
E/RR	41	25
EE/R	46	-
N	470	434
E/RR – <i>P. esculentus</i> – 2 <i>ridibundus</i> , EE/R – <i>P. 2 esculentus</i> – <i>ridibundus</i> , N – число досліджених особин		

\* Borkin et al., 2004

**Розділ 6. Статеву структуру гібридних біотипів і співвідношення статей у гібридів різних регіонів.** У популяціях досліджуваного регіону статеву структуру гібридів алодиплоїдів змінюється у східно-західному напрямку. У рівнинному Закарпатті серед гібридів явно домінують самки, а самці склали біля 5%. У Прикарпатті також самців суттєво менше, ніж самок – біля 25%. На Волині співвідношення статей було близьким до рівного, на Поділлі серед гібридів домінували самці – 85%, на Дніпрі частка самців склала 75%-85%, а на Сіверському Донці в популяціях присутні виключно самці (рис. 9).

Стає очевидною меридіональна клінальна мінливість статеві структури гібридів у популяціях зелених жаб – від повного переважання самок до явного домінування самців. Ця тенденція зміни статеві структури гібридів алодиплоїдів від майже повністю жіночої на заході України до суто чоловічої на сході чітко підтверджується й за допомогою регресійного аналізу (рис. 10). Частка самок серед гібридів змінюється із заходу на схід ( $R^2 = 23\%$ ;  $p = 0,002$ ), що є високо вірогідним.

У диплоїдних беккросів статева структура була неоднозначною. Так у беккросів з озерною жабою, так само як і в озерних жаб, співвідношення статей є рівним, тоді як беккроси зі ставковою жабою це або виключно самці, або вибірки, які на 85% складаються із самців. Самцями були всі знайдені статевозрілі алотриплоїди.

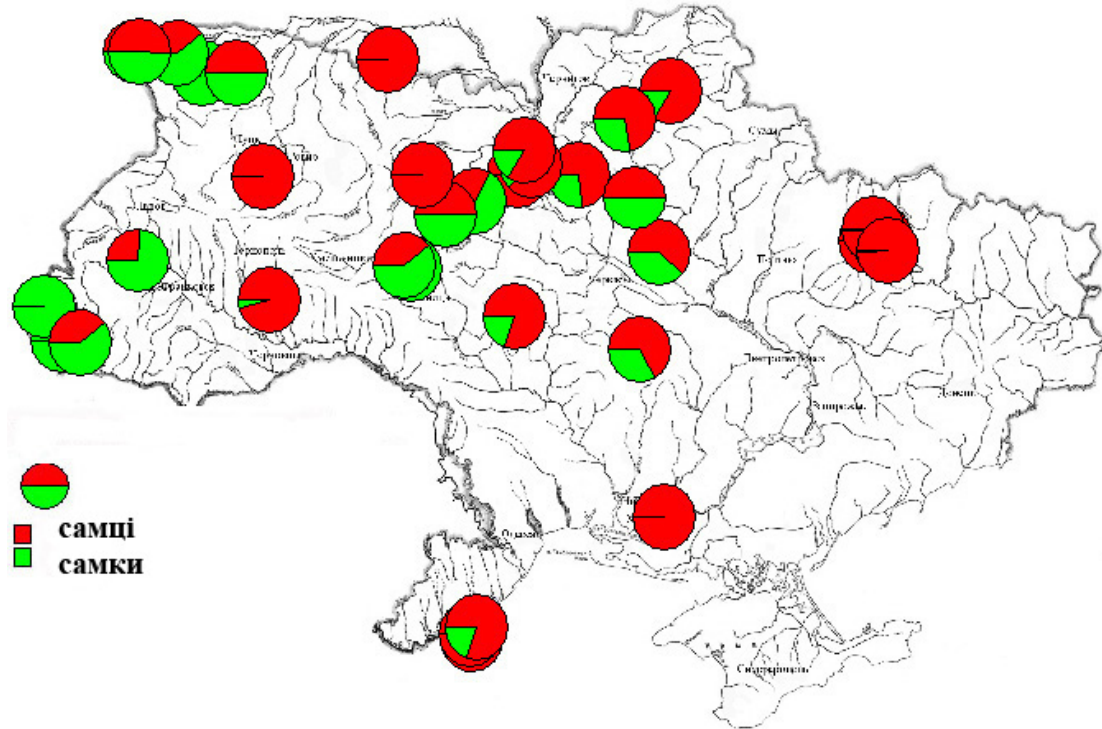


Рис. 9. Співвідношення статей у вибірках серед гібридів-алодиплоїдів F1.

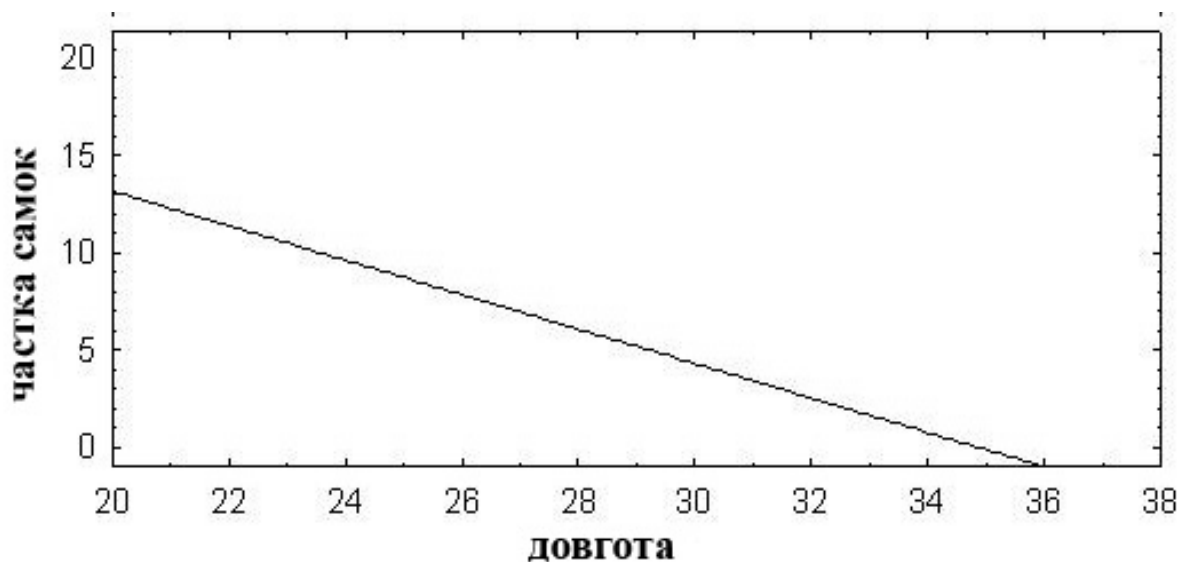


Рис. 10. Лінії регресії, що відображають тенденцію зміни частки особин жіночої статі серед гібридів F1 у відповідності до зміни довготи.



## Розділ 7. Обговорення результатів.

**Закономірні зміни генетичної структури популяцій батьківських видів і географічні особливості гібридних особин.** У результаті проведеного геногеографічного аналізу можна вважати встановленим фактом, що в озерної жаби в межах України відсутні чіткі спрямовані тренди змін генетичної структури. Окремі популяції й групи популяцій цього виду різних регіонів відрізняються частотами алелей, створюючи достатньо мозаїчну генетичну структуру поселень у межах України, тоді як у ставкової жаби відмічені чіткі географічні зміни в генетичному складі популяцій, причому з чітко вираженим довготним вектором. Це і присутність гена *Ldh-B*<sup>88</sup> тільки в західних популяціях: рівнинної частини Закарпаття, Волині (навколо міст Луцьк і Шацьк), Прикарпаття (м. Моршин), Західного Поділля (серія вибірок із Тернопільської області басейну Верхнього Дністра). Тут частота цього алелю в середньому склала 0,31, що відповідає рівню поліморфізму локусу в популяціях західноєвропейських країн, де його частота змінювалася від 0,1 до 0,5. Однак, уже у верхній течії Південного Бугу в популяціях Вінницької області його частота падає до 0,03%, а східніше в басейні Дніпра він не відмічається взагалі. Це й фіксація алелю *sAat*<sup>100</sup> у гібридів Сіверського Дінця, а також чіткі довготні тренди в змінах частот алелей локусу *Es-1*.

Не випадково саме в довготному напрямі також змінюється й структура гібридів. І це не тільки неоднозначність статевої структури, але й різний характер гаметогенезу, зокрема премейотичної елімінації, у гібридів у західних і східних популяцій. Очевидно, що в західних у гібридів чітко елімінується геном ставкової або озерної жаб, унаслідок чого утворюються гаплоїдні гамети або з геномом озерної, або ставкової жаб, тоді як на сході процес гібридогенного відтворення відбувається з порушеннями. Унаслідок цього утворюються або диплоїдні гамети, або гаплоїдні рекомбінантні, що призводить до появи беккросних біотипів. Триплоїдні беккроси утворюються головним чином на Сіверському Дінці, а диплоїдні – у басейні Дніпра.

**Реконструкція геногеографічної структури ареалу ставкової жаби й значення біокліматичних факторів у її стабілізації.** Наявність великої кількості даних у літературі, що стосуються мінливості локусів *Ldh-B* і *sAat* у західноєвропейських популяціях зелених жаб, дозволяє відтворити цілісну геногеографічну структуру популяцій *P. esculentus* у межах його західно- і центральноєвропейської частин ареалу.

Отримана картина мінливості *Ldh-B* (рис. 11) підтверджує, що, дійсно, в Україні в межіріччя Південного Бугу й Дніпра проходить вузька перехідна зона в частотах алелей цього локусу. Вона викликана тим, що особини, носії гену *Ldh-B*<sup>88</sup> обмежені в міграції у східному напрямку, тоді як особини, носії альтернативного алелю *Ldh-B*<sup>64</sup> достатньо вільно поширюються на захід.

Спеціальними експериментами було доведено (Hotz et al., 2000), що ставкові жаби-носії гомозиготного генотипу *Ldh-B*<sup>64/64</sup>, властивого східноєвропейським популяціям, є більш пристосованими, зокрема відмічена більш висока життєздатність і темпи дозрівання, ніж в особин із «західним» генотипом *Ldh-B*<sup>88/88</sup>.

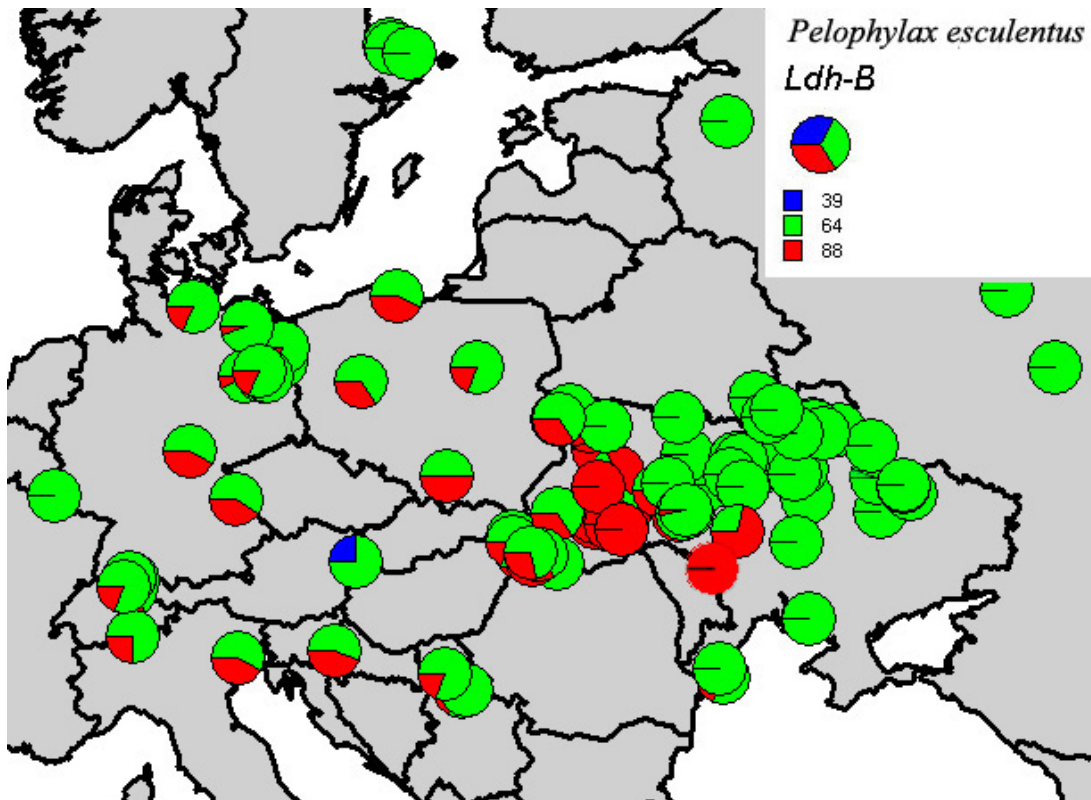


Рис. 11. Частоти алелів локусу *Ldh-B* у популяціях ставкової жаби (за власними й літературними даними) в межах Західної і Центральної Європи.

Ця обставина призводить до необхідності з'ясування питань значущості кліматичних факторів в обмеженні просування генів, притаманних західноєвропейським популяціям у східному напрямі.

Здійснивши статистичну обробку біокліматичних характеристик, локалітетів, у яких знайдені алелі *Ldh-B*<sup>88</sup>, вдалося виявити деякі закономірності. З'ясувалося, що із 55 проаналізованих кліматичних параметрів, що лімітують поширення особин носіїв цього гену, є кількість опадів у квітні й травні. І це має під собою підставу, оскільки саме на цей період припадає розмноження ставкової жаби, а відсутність достатнього числа мілких водойм, у яких відбувається нерест, негативно впливає на ефективність розмноження ставкової жаби. Проведене ГС-моделювання за біокліматичними факторами підтвердило, що територія, виділена за біокліматичними факторами в Україні, чітко співпадає (рис. 12) із зоною поширення особин носіїв алеля *Ldh-B*<sup>88</sup>.

Що стосується поширення алелів локусу *sAat*, то, базуючись на літературних даних із Західної Європи і власних даних, отриманих із популяцій ставкової жаби Центральної Росії (Тамбовської області), можна чітко зазначити, що в популяціях Сіверського Дінця дійсно має місце фіксація унікального алеля *sAat*<sup>100</sup>, а його наявність у популяціях басейну Дніпра з частотою різного ступеню є свідомством міграцій сіверськідінських ставкових жаб у західному напрямі.

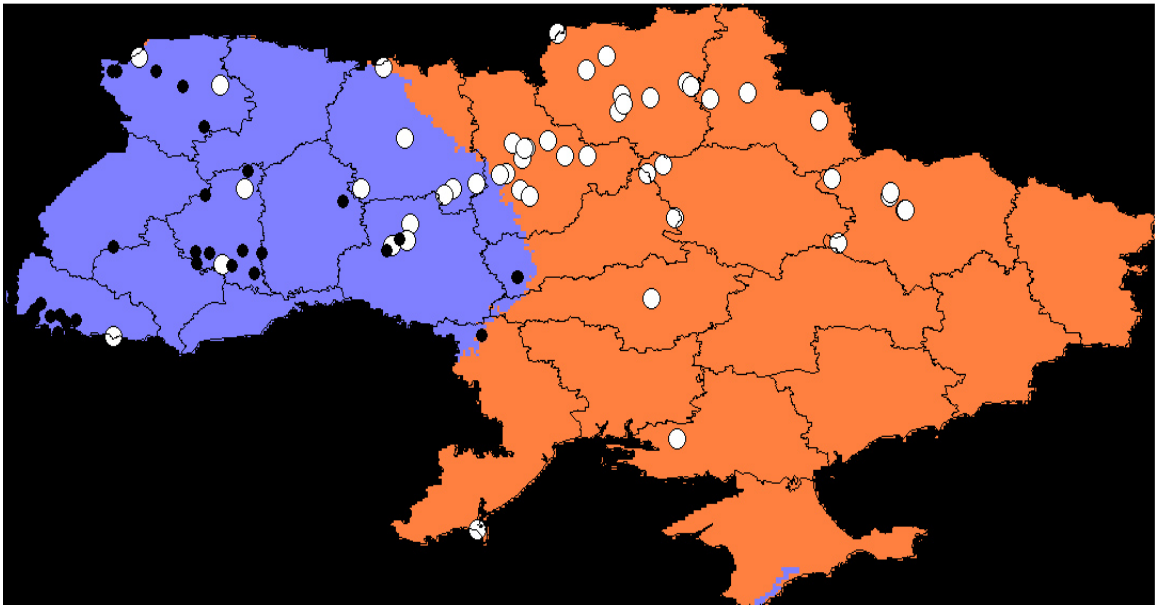


Рис. 12. Території, що за кліматичними факторами оптимальні для проживання особин ставкових жаб з алелем *Ldh-B*<sup>88</sup> (темний колір), та реальні місця їх зустрічей (чорні кола), локалітети, де відмічені ставкові жаби з алелем *Ldh-B*<sup>64</sup> (білі кола).

**Сучасна геногеографічна структура ареалу *P. esculentus* як віддзеркалення історії реколонізації ареалу в постльодовиковий період.**

Виходячи з того, що ареал ставкової жаби в четвертинний період неодноразово був розділений льодовиками, то цілком імовірно є припущення, що при найбільшому Дніпровському заледенінні його ареал був розділений двома язиками льодовиків (Герасимов, Марков, 1939) на три ізоляти – рефугіуми: Балкано-Середземноморський, Донський, Південно-Уральський. Є всі підстави вважати, що ці ізоляти існували не менш ніж 100 тис. років. Цей час виявився цілком достатнім для того, щоби відбулися певні генетичні зміни (рис. 13).

Очевидно, що найбільшим був Південно-Уральський рефугіум, тому слід припустити, що тут зберігалася більша частина особин цього виду, які маркуються алелями *Ldh-B*<sup>64</sup> і *sAat*<sup>45</sup>. Ставкові жаби Донецького рефугіуму, найменшого за розмірами, характеризуються комбінацією *Ldh-B*<sup>64</sup> і *sAat*<sup>100</sup>. Третій рефугіум – очевидно, Південна Європа (Балкани, Апеніни, Південна Франція). Для жаб цього регіону характерними є сполучення алелів *Ldh-B*<sup>88</sup> і *sAat*<sup>45</sup>.

Популяції в цих ізолятах були розділені достатньо довго для того, щоб накопичити фіксовані генні відмінності, але недостатньо для того, щоб прийти до репродуктивної ізоляції. У результаті після об'єднання ареалу особини Південно-Уральського і Донецького рефугіумів активно мігрували в західному напрямку, гібридизуючи з жабами західноєвропейського осередку, таким чином формуючи поліморфні популяції, тоді як міграція особин-носіїв західного гену *Ldh-B*<sup>88</sup> зупинились у межиріччі басейну Дністра і Південного Бугу.



Рис. 13. Границя дніпровського зледеніння (жирна лінія), розміщення рефугіумів і аелельні пулі генетичних форм ставкових жаб, що походять із цих рефугіумів.

Необхідно підкреслити, що західно- і східнопалеарктичні види характеризуються різним потенціалом до розселення (Межжерин, 1998; Межжерин и др., 2009), котрий у східних представників сильніший, ніж у західних, що також підтверджується даним дослідженням. Причини очевидні – східноєвропейські види адаптовані до більш континентального сухого клімату влітку й морозного взимку, досить легко, мігруючи на захід, адаптуються до більш м'яких умов, тоді як просування західних форм на східні території з менш сприятливим для цього виду кліматом значно ускладнене. У даному випадку особини східної форми ставкової жаби змогли не тільки поширитись по всьому західному ареалу цього виду, але й проникнути на північ Європи, (Скандинавський півострів), тоді як західні зупинились на межі Західної й Центральної України.



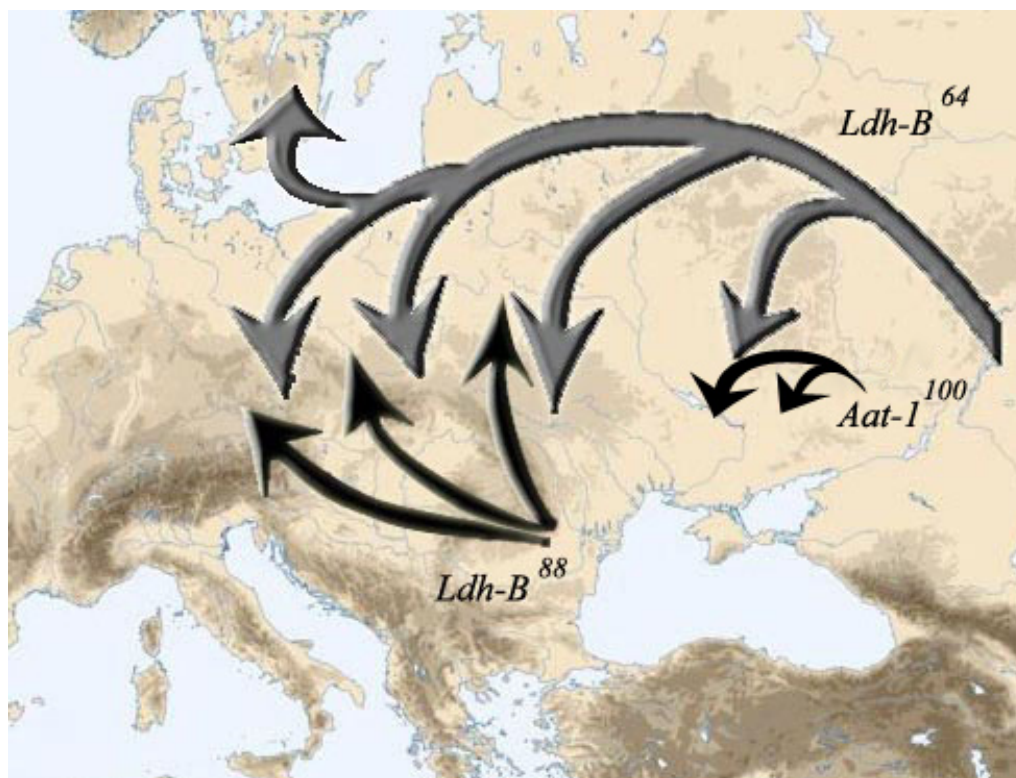


Рис. 14. Характер і напрям реколонізаційних шляхів у межах сучасного ареалу *Pelophylax esculentus*.

## ВИСНОВКИ

Дисертація присвячена дослідженню структури гібридних поселень зелених жаб комплексу *P. esculentus* на території України.

Основними результатами роботи слід вважати: визначення біотипової структури зелених жаб на всій території, встановлення відповідності між характером географічної мінливості біотипової структури гібридів і генетичної структури батьківських видів, наявність вузької перехідної зони між західною й східною формами ставкової жаби та постановку гіпотези про відповідність генетичної диференціації ареалу післяльодовиковим рефугіумам. Підтверджена обмеженість поширення поліплоїдних гібридних особин головним чином басейном Сіверського Донця, а гібридів з рекомбінантним генотипом і озерних жаб з інтрогресіями переважно басейном Дніпра.

1. У популяціях зелених жаб України виявлено шість генетичних форм (біотипів) зелених жаб, котрі можна класифікувати на три групи. Перша – батьківські види: ставкова *P. esculentus* й озерна *P. ridibundus* жаби. Друга – гібриди першого покоління (за структурою алодиплоїдний гібрид *P. esculentus* – *ridibundus*). Третя – гібриди-беккроси: беккроси з озерною жабою (алотриплоїдний гібрид *P. esculentus* – 2 *ridibundus* та особини *P. ridibundus* з інтрогресіями генів ставкової жаби), а також беккроси з ставковою жабою – диплоїдні гібриди *P. esculentus* – *ridibundus* з рекомбінантним генотипом. Відмічені поодинокі знахідки триплоїдних особин батьківських видів.
2. Існують відмінності у ступені генетичної диференціації популяцій батьківських видів у межах України. Ставкова жаба чітко розділяється на

ряд географічних форм, що наближаються до рівня аловидів. Мінливість алозимів у популяціях озерної жаби носить мозаїчний характер без чітких географічних трендів.

3. Біотипова структура гібридів, так само як і генетична структура популяцій *P. esculentus*, чітко змінюється в довготному напрямі.
4. Між східною й західною формами ставкової жаби в межиріччі Дністра й Південного Бугу з однієї і Середнього Дніпра з іншої сторін проходить чітка межа, що маркується алелем *Ldh-B*<sup>88</sup>. Унікальним також представляється геном ставкових жаб Сіверського Дінця, що характеризується фіксованим алелем *sAat*<sup>100</sup>
5. Найбільш імовірною причиною значної генетичної диференціації поселень *P. esculentus* у межах України є реколонізація ареалу після Дніпровського зледеніння із трьох рефугіумів: Балкано-Середземноморського, Донського, Південно-Уральського.
6. Підтверджена присутність алодиплоїдних гібридів у басейні Сіверського Дінця (15%) і вкрай низька їх представленість на решті досліджуваної території (поодинокі особини). Триплоїдні гібриди *P. esculentus* – *2 ridibundus* були беккросами з озерною жабою, а їх частота в 3,4 рази нижче, ніж було відмічено на початку ХХІ сторіччя попередніми дослідниками
7. Особини з рекомбінаціями генетичного матеріалу чітко прив'язані до басейну Середнього Придніпров'я. Озерні жаби з інтрогресіями тут складають 20% від загальної кількості озерних жаб, а гібриди з рекомбінаціями – біля 36% від загальної кількості алодиплоїдів. У басейні ріки Сіверський Донець у водоймах Волині були також зафіксовані поодинокі екземпляри.
8. Співвідношення статей у гібридів змінюється в напрямку з заходу на схід. У Закарпатті гібриди – це виключно самки, у басейні Дністра й на Волині – порівну самки і самці, у басейні Дніпра – самки не більше 30%, а у басейні Сіверського Донця – виключно самці.
9. Співставлення отриманих даних по південній межі поширення гібридів і ставкових жаб з літературними джерелами дає підстави вважати, що за останні 10 років межа поширення змістилась на північ, при цьому збереглись два південні ізоляти: один у Нижньому Дунаї, інший – Нижньому Дніпрі.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

1. Межжерин С. В. Генетическая структура гибридных поселений и морфометрия зелёных лягушек комплекса *Rana esculenta* L., 1758 западноукраинского региона / С. В. Межжерин, С. Ю. Морозов-Леонов, О. Д. Некрасова., О. В. Ростовская, Л. Ю. Соболенко // Науковий вісник Ужгородського університету. — 2009. — 26. — С. 5-12. (особистий внесок: збір частини матеріалу, проведення цитометричне дослідження, біохімічне генне маркування частини матеріалу, аналіз літератури, GIS-моделювання).

2. Межжерин С. В. Реконструкция реколонизации ареала вида на основе анализа географической изменчивости аллозимов *Ldh-B* прудовой лягушки *Rana esculenta* (=lessonae). / С. В. Межжерин, С. Ю. Морозов-Леонов, О. В. Ростовская, Л. Ю. Соболенко // Доповіді Національної академії наук України. — 2010. — № 2. — С. 164-169. (особистий внесок: збір частини матеріалу, проведене цитометричне дослідження, біохімічне генне маркування частини матеріалу, аналіз літератури, GIS-моделювання).

3. Межжерин С. В. Аллозимная изменчивость и географическая дифференциация популяций прудовой лягушки *Rana* (*Pelophylax*) *esculenta* (=lessonae) в пределах Украины / С. В. Межжерин, С. Ю. Морозов-Леонов, О. В. Ростовская, Л. Ю. Соболенко // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. матеріалів Міжнародної конференції. - 2009 — Т.6. — С. 16-20. (особистий внесок: збір частини матеріалу, цитометричний аналіз, біохімічне генне маркування частини матеріалу, аналіз літератури, GIS-моделювання).

4. Mezhzherin S. V. The ploidy and genetic structure of hybrid populations of water frogs *Pelophylax esculentus* complex (Amphibia, Ranida) of Ukraine fauna. / S. V. Mezhzherin, S. Yu. Morozov-Leonov, O. V. Rostovskaya, L. Yu. Sobolenko // Cytology and Genetics. — 2010 — Vol.44. — № 4. — P. 212-216. (особистий внесок: збір частини матеріалу, цитометричний аналіз, біохімічне генне маркування частини матеріалу, аналіз літератури, GIS-моделювання).

5. Межжерин С. В. «Генетические ветра» Палеарктики: приложение концепции к территории Украины. / С. В. Межжерин, А. В. Гарбар, Д. А. Гарбар, Е. И. Жалай, Е. Д. Коршунова, С. Ю. Морозов-Леонов, О. В. Ростовская, Л. Ю. Соболенко, Л. А. Васильева, Л. Н. Янович // Современные взгляды на эволюцию органического мира: тезисы доклада. — Киев, 2009 — С. 43. (особистий внесок: створення карт, біохімічне генне маркування частини матеріалу).

6. Ростовская О. В. Анализ пloidности в локальных группах зелёных лягушек на территории Украины / О. В. Ростовская // Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів. — 2010 (м. Київ, Інститут зоології НАН України, 20-21.04. 2010 р.). — Київ, 2010. — с. 42. (Зоологічний кур'єр №4).

## АНОТАЦІЯ

**Ростовська О.В.** Географічні закономірності змін структури поселень гібридних зелених жаб *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758) complex в межах України.— Рукопис. - Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.08 — зоологія. Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України. - м. Київ, 2010.

За допомогою біохімічного генного маркування й цитометричного аналізу була проаналізована генетична структура поселень зелених жаб на всій території України. Проведений геногеографічний аналіз комплексу *P. esculentus*. Були встановлені регіони та межі існування генетично різноякісних форм ставкової жаби. Показаний більший ступінь її генетичного диференціювання в межах України, ніж іншого батьківського виду — озерної

жаби. Були підтверджені літературні дані про присутність гібридних триплоїдів у басейні Сіверського Дінця й зафіксовані поодинокі випадки знахідок поліплоїдних особин в інших регіонах України. Описані тенденції до зміни співвідношення статей у гібридів у меридіональному напрямку.

З'ясовано, що на території України особини з аберантними алелями локусу *Ldh-B* масово мешкають у Середньому Придніпров'ї. Імовірною причиною значної генетичної диференціації ставкової жаби у межах України може бути характер реколонізації ареалу після Дніпровського зледеніння.

**Ключові слова:** зелені жаби, *Pelophylax*, гібридизація, поліплоїдія, географічна мінливість, Україна.

## АННОТАЦИЯ

**Ростовская О.В.** Географические закономерности изменений структуры поселений гибридных зеленых лягушек *Pelophylax esculentus* complex (Linnaeus, 1758) в пределах Украины. — Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.08 — зоология. Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины, г. Киев, 2010.

При помощи биохимического генного маркирования и цитометрического анализа была проанализирована генетическая структура поселений зелёных лягушек на всей территории Украины. Проведен геногеографический анализ комплекса *Pelophylax esculentus*. Были установлены регионы и границы существования генетически разнокачественных форм прудовой лягушки. Показана большая степень её генетической дифференциации в пределах Украины, чем второго родительского вида – озерной лягушки. Были подтверждены литературные данные о присутствии гибридных триплоидов в бассейне Северского Донца и зафиксированы единичные случаи находок полиплоидных особей в других регионах Украины. Описаны тенденции к изменению соотношения полов у гибридов в меридиональном направлении.

Выяснено, что на территории Украины особи с аберантными аллелями локуса *Ldh-B* массово обитают в Среднем Приднепровье. Вероятной причиной значительной генетической дифференциации популяций прудовой лягушки в пределах Украины, может быть характер реколонизации ареала после Днепровского оледенения.

**Ключевые слова:** зелёные лягушки, *Pelophylax*, гибридизация, полиплоидия, географическая изменчивость, Украина.

## SUMMARY

**Rostovska O.V.** Geographical patterns of structural changes of green frog hybrid populations of the *Pelophylax esculentus* complex (Linnaeus, 1758) in Ukraine. - Manuscript. - Thesis submitted to Schmalhausen Institute of Zoology, Natl. Acad. Sci. Ukraine, for obtaining the degree of Candidate of Sciences (Biology) by speciality 03.00.08 – zoology, - Kyiv, 2010.

This is a complex study of green frog hybrid populations of the *Pelophylax esculentus* (L., 1758) complex, including investigations of allozyme variability and



planimetry of erythrocytes. Data has been obtained of the genetic structure of hybrid populations over all of Ukraine.

Hybrid green frog populations in Ukraine are presented by six genetic forms (biotypes) of green frogs which can be classified into three groups. The first one is composed of parental species: pond *P. esculentus* and marsh *P. ridibundus* frogs. The second are hybrids of the first generation, allodiploids - *P. esculentus*–*ridibundus*. The third one is composed of hybrids-backcrosses: with a marsh frog, allotriploids - *P. esculentus* – 2 *ridibundus* and *P. ridibundus* with introgressions and backcrosses with a pond frog, allodiploids — hybrids *P. esculentus* – *ridibundus* with recombinations in the genotypes.

A genogeographical analysis of the *P. esculentus* (L., 1758) complex was conducted in this study. Areas and the extent of the distribution of genetically different forms of pond frog were revealed. The present study shows the larger degree of its genetic differentiation within Ukraine compared to another parental species – the marsh frog. Evidence has been provided of genetic uniqueness of pond frogs from the Siversky Donets Basin, featured by genotypes sAat<sup>100</sup>, and a distinct border of the distribution of the western form characterized by the *Ldh*-B<sup>88</sup> genotype has been distinguished within the interfluvial zone of the Southern Bug and Dnipro rivers. It has been confirmed that the distribution of individuals of genotypes *Ldh*-B<sup>88</sup> depends on bioclimatic factors: predominantly on precipitation in April and May.

The genetic structure of hybrids varies from west to east of Ukraine, as well as one of the parental species – the pond frog. This is manifested both in changes of the sex ratio and changes in the character of gametogenesis.

The study of the genetic structure of hybrid frog populations confirms the results obtained previously. A high number of hybrid triploid frogs were found in the Siversky Dinets Basin. The percentage of triploids consisted 15%, showing a 3,4 decrease compared to what was reported in the beginning of the century by other authors. All triploid individuals were identified as *P. esculentus* – 2 *ridibundus*.

In other areas only two polyploid hybrids have been recorded. Sex ratio trends ranging from West to East are described here. The clinal variability of the sexual structure of hybrids F1 from all-female to all-male in the east of Ukraine is evident.

It has been revealed that in Ukraine frogs with abnormal alleles of the *Ldh*-B gene in majority are found in the middle reaches of the Dnipro River. A hypothesis has been set forward connecting the modern state and distribution of various genetic forms of pond frogs with modification of the habitable areas by the action of glaciers during the Dnipro Ice Age. It is assumed that there were 3 refuge areas from which the post-glacial recolonization undertaken by various genetic forms of the pond frog took place. It has been shown that the migratory potential of the eastern form of the pond frog is significantly higher than that of the western one. The distribution of various genetic forms of the pond frog is given for the entire area of Europe.

**Key words:** green frogs, *Pelophylax*, hybridization, polyploidy, geographical variation, Ukraine.