

## МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ЗЕЛЕНИХ ЖАБ (*PELOPHYLAX*) ВОДОЙМ ЗАХІДНОЇ УКРАЇНИ

В. Стах<sup>1</sup>, М. Белоконь<sup>2</sup>, І. Хамар<sup>1</sup>, Ю. Белоконь<sup>2</sup>, О. Решетило<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут загальної генетики імені М.І. Вавилова РАН  
вул. Губкіна, 3, Москва 119991, Росія

<sup>3</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна  
e-mail: vstax\_77@mail.ru

Проблема видового визначення зелених жаб пов'язана з гібридним способом відтворення особин *Pelophylax esculentus*. Гібрид успадковує гени обох батьків: жаби озерної *Pelophylax ridibundus* і жаби ставкової *Pelophylax lessonae*. Було встановлено, що чотири з досліджених особин є типовим прикладом геміклонального успадкування, а їхня локалізація не зумовлена географічними умовами. Порівнявши дані генетичного та морфологічного аналізів, встановили, що під час визначення видової приналежності особин зелених жаб у польових умовах оптимальним є використання індексу F/T. За його допомогою точність визначення особин зелених жаб до виду становить 70%.

*Ключові слова:* клептон, мікросателітні локуси, жаба озерна, жаба ставкова, жаба істівна, Західна Україна.

На даний час актуальним серед сучасних напрямів зоології є дослідження тварин з особливим характером таксономічного статусу та специфічних еволюційних взаємовідносин, що ми і спостерігаємо у деяких земноводних, зокрема у представників роду *Pelophylax*. Вони представлені у Львівській та Волинській областях трьома видами: жабою озерною – *Pelophylax ridibundus* [Pallas, 1771], ставковою – *Pelophylax lessonae* [Camerano, 1882 «1881»] та їхнім гібридом – істівною – *Pelophylax esculentus* [Linnaeus, 1758]. Оскільки в даному випадку спостерігається нетрадиційне успадкування при утворенні гібридних форм, та передавання у мейозі, як правило, геномів одного із батьківських видів, то це і стало причиною тверджень про причетність останнього виду до нової еволюційно-таксономічної одиниці – «клептону», та про наявність напівклонального (геміклонального) розмноження.

До останнього часу для встановлення видової приналежності зелених жаб використовувалися здебільшого морфометричні методи. Л. Бергер [15] вказував на діагностичність таких показників, як відношення довжини стегна до довжини гомілки (F/T), довжини першого пальця задньої кінцівки до довжини внутрішньоп'яtkового горбка (D.p./L.t.ci.), довжини гомілки до довжини внутрішньоп'яtkового горбка (T./L.t.ci.). У 80-х роках С.В. Тарашук [13] для вибірок чисельністю не менше 20 особин запропонував узагальнений мультиплікативний індекс:  $I_x = T/L.t.ci. * D.p./L.t.ci. * T/L.c.s.$  Для кожного виду встановлені межі індексу, проте в літературних джерелах подаються різні показники мінімуму та максимуму, наприклад: *P. lessonae* < 20 < *P. esculentus* < 32 < *P. ridibundus* [8]; *P. lessonae* < 22 < *P. esculentus* < 42 < *P. ridibundus* [13]. Дослідження гібридних популяцій із Центральної Чорноземної зони Росії показали наявність перекривання п'яти морфологічних індексів ставкової, істівної та озерної жаб у разі окремих особин, але у разі

численних вибірок середні морфологічні індекси можуть вважатися досить надійними [18]. Таким чином, морфологічний метод визначення окремих особин не є абсолютно точним. Зважаючи на це, різними дослідниками були запропоновані різноманітні генетичні методи встановлення видової приналежності.

Методом проточної цитометрії встановлено, що розмір геному *P. ridibundus* перевищує розмір геному *P. lessonae* на 16%, а геном *P. esculentus*, який утворився в результаті об'єднання геномів батьківських видів, займає проміжне положення [2, 18]. Окрім точного встановлення видової приналежності особини, цей метод дає можливість визначати плоідність геному.

Для визначення виду у зелених жаб застосовують також аналіз ізоферментів, що кодується ядерними та мітохондріальними генами. Діагностичними можуть вважатися локуси альбуміну (*Alb*), лактатдегідрогенази (*Ldh-B*), естерази (*Es-1*) й аспартатамінотрансферази (*Aat -1,-2*) [4–6].

За останнє десятиліття значного поширення набули таксономічні дослідження зелених жаб за допомогою аналізу мікросателітних послідовностей ДНК. Ядерні мікросателітні локуси високополіморфні, успадковуються кодомінантно і тому є зручним інструментом для вивчення генетичної структури популяцій. З метою вивчення цих локусів геному зелених жаб комплексу *P. ridibundus* – *P. esculentus* – *P. lessonae* були розроблені видоспецифічні праймери [16, 17, 22].

Проточна цитометрія та ізоферментний аналіз потребують відбору значної кількості біологічного матеріалу (крові, м'язової тканини), під час якого жаба гине і таким чином вилучається з популяції. На противагу цьому, аналіз мікросателітних локусів поєднує в собі точність визначення виду і можливість прижиттєвого збору проб для аналізу без завдання шкоди досліджуваній тварині [21]. На території України порівняння видів за допомогою мікросателітних послідовностей ДНК раніше не проводилось.

Метою нашої роботи було з'ясування особливостей морфометричних ознак і проведення аналізу мікросателітних послідовностей ДНК зелених жаб Львівської та Волинської областей.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання: проаналізувати основні таксономічно важливі морфологічні ознаки та їхню мінливість (індекс F/T, мультиплікативний індекс); визначити видову приналежність особин зелених жаб за генотипами 10 мікросателітних локусів; порівняти морфометричні та генетичні результати визначення видів.

### Матеріал і методи

Матеріал відбирали у польових умовах за допомогою батрахологічного сачка. У водоймах смт Нижанковичі (Львівська обл., Старосамбірський р-н.; 49°40'34» пн.ш., 22°48'30» сх.д.) було відібрано 31 особину; водоймах орнітологічного заказника «Чолгині» (Львівська обл., Яворівський р-н.; 49°55'14» пн.ш., 23°26'11») – 42 особини; озері Пісочне (Волинська обл., Шацький р-н.; 51°27'39» пн.ш., 24°34'26» сх.д.) – 12 особин; озері Луки (Волинська обл., Шацький р-н.; 51°33'15» пн.ш., 24°20'37» сх.д.) – 9 особин. Через незначну кількість особин зелених жаб, відібраних у Шацькому національному природному парку, вибірки з озер Луки та Пісочне були об'єднані.

Морфологічній частині досліджень передувала робота з вивчення проявів мінливості зовнішніх морфологічних ознак і можливостей їх використання в еволюційно-таксономічному аналізі: *L.* (довжина тіла); *L.c.* (довжина голови); *Lt.c.* (ширина голови); *D.r.-o.* (відстань від кінця морди до ока); *D.r.-n.* (відстань від ніздрі до кінця морди); *Lt.r.* (ширина рила); *L.o.* (довжина ока); *Sp.in.* (проміжок між очима); *D.n.-o.* (відстань від ніздрі

до переднього краю ока); *Lt.p.* (ширина повіки); *Sp.ip.* (проміжок між повіками); *L.tum.* (найбільша довжина барабанної перетинки); *D.tum.-o.* (відстань від барабанної перетинки до заднього краю ока); *L.m.* (довжина передньої лапи); *Lt.m.* (ширина п'ястя); *D.p.* (довжина першого пальця передньої кінцівки); *F.* (довжина стегна); *T.* (довжина гомілки); *L.c.s.* (довжина додаткової гомілки); *Lt.c.s.* (ширина додаткової гомілки); *D.h.* (довжина першого пальця задньої кінцівки); *D.q.* (довжина четвертого пальця задньої кінцівки); *L.t.ci.* (довжина внутрішньоп'яткового горбка); *A.t.ci.* (ширина внутрішньоп'яткового горбка) [1, 3, 7, 11, 12, 14].

ДНК виділяли із фіксованих у 70% етиловому спирті м'язових тканин, а також із зразків епітелію ротової порожнини, зібраних на ватні палички за методикою Н. Підансьє та співавторів [21]. Для виділення використовували універсальні набори "Diatom™ DNA Prep" виробництва ООО «Лаборатория Изоген» (Росія). У результаті аналізу літературних джерел і лабораторного тестування було відібрано 10 пар праймерів для ампліфікації мікосателітних локусів у зелених жаб, більшість із яких є діагностичними для визначення виду – *Rrid059*, *Rrid082*, *Rrid171* [17]; *Res5*, *Res14*, *Res16*, *Res22* [22]; *RICA1b5*, *RICA18*, *RICA19* [16]. Для проведення ПЛР використовували готові суміші реагентів із наборів для ПЛР-ампліфікації GenePak® PCR Core виробництва ООО «Лаборатория Изоген» (Росія). Електрофоретичне розділення отриманих фрагментів ДНК проводили в 6% поліакриламідному гелі, з використанням тріс-ЕДТА-боратного електродного буферу (ТБЕ). Для визначення довжин фрагментів у кожному гелевому пластинку поряд із досліджуваними зразками вносили маркер довжин ДНК – плазмиду *E. coli* рBR322, оброблену ендонуклеазою рестрикції HpaII. Статистичну обробку отриманих результатів проводили у програмі GenAlEx 6.41 із використанням модуля Population Assignment [19, 20].

### Результати і їхнє обговорення

Протягом 2011–2012 років нами для аналізу морфометричних і фенотипних показників було відібрано 94 особини. Кількісне співвідношення видів для кожної вибірки наведено в табл. 1.

На підставі аналізу літературних і одержаних власних даних щодо морфологічного опису зелених жаб ми дійшли висновку, що лише співвідношення деяких із них може використовуватися під час визначення виду.

Таблиця 1

Видова приналежність зелених жаб у вибірках із водойм Західної України за морфометричними ознаками та результатами генетичного аналізу

Вид	Кількість особин, які належать до даного виду за відповідними показниками								
	Морфометричні ознаки	Аналіз мікосателітних ДНК	Збіг видової приналежності*	Морфометричні ознаки	Аналіз мікосателітних ДНК	Збіг видової приналежності*	Морфометричні ознаки	Аналіз мікосателітних ДНК	Збіг видової приналежності*
	«Чолгині»			«Шацьк»			«Нижанковичі»		
<i>P. ridibundus</i>	20	18	14	3	5	2	31	31	31
<i>P. lessonae</i>	15	18	11	12	2	2	–	–	–
<i>P. esculentus</i>	7	6	1	6	12	6	–	–	–
Разом	42	42	26	21	19	10	31	31	31

**Примітка:** \* – збіг видової приналежності за морфометричними ознаками та результатами генетичного аналізу.

Як уже наголошувалося, не менш важливим для визначення виду є співвідношення довжини стегна (F) до довжини гомілки (T). Індекс F/T доволі часто використовується як основний критерій під час визначення видової приналежності зелених жаб. У озерної жаби стегно коротше від гомілки, тому індекс F/T є меншим від одиниці, а у ставкової – задньогомілкові зчленування заходять одне за одне, тобто індекс F/T більший від одиниці. Їстівна ж жаба характеризується проміжними даними, тобто F/T=1, і задньогомілкові зчленування торкаються одне одного [10]. Значення індексу F/T для досліджених нами жаб наведено у табл. 2.

Таблиця 2

Значення індексу F/T для зелених жаб Західної України

Вид	Територія	F/T (за морфотипом)	F/T (за генотипом)
<i>P. lessonae</i>	Чолгині	1,06	1,02
<i>P. ridibundus</i>	Чолгині	0,93	0,94
<i>P. esculentus</i>	Чолгині	0,99	0,99
<i>P. lessonae</i>	Нижанковичі	Немає вибірки	Немає вибірки
<i>P. ridibundus</i>	Нижанковичі	0,95	0,95
<i>P. esculentus</i>	Нижанковичі	Немає вибірки	Немає вибірки
<i>P. lessonae</i>	Шацьк	1,03	1,04
<i>P. esculentus</i>	Шацьк	1	1,02
<i>P. ridibundus</i>	Шацьк	0,95	0,99

Значний збіг індексу F/T з даними розподілу на групи за генотипами показує, що цей індекс можна вважати досить інформативним у визначенні виду. Визначення за допомогою цього індексу 70% особин підтвердилися і аналізом мікросателітної ДНК (табл. 1). Тобто видова приналежність 66 особин, визначена за допомогою індексу F/T, була підтверджена результатами мікросателітного аналізу.

У результаті аналізу мінливості за 10 мікросателітними локусами були встановлені індивідуальні генотипи жаб і розраховані частоти алелів у досліджених вибірках (табл. 3). Локуси *Rrid059*, *RIC1b5* і *Res22* можна вважати діагностичними для визначення виду, оскільки їхні алелі, виявлені у дослідженні, є видоспецифічними. У *P. lessonae* в локусі *Res22*, крім алелів, що ампліфікуються, виявлено «ноль»-алель, наявність якого може вплинути на точність встановлення видової приналежності. Наявність «ноль»-алелів у генотипах окремих особин пов'язана з відсутністю в їхніх геномах послідовностей ДНК, комплементарних до праймерів досліджуваного мікросателітного локусу. У генотипах особин гетерозиготних за даним локусом «ноль»-алелі можуть не виявлятися, тому зазначений локус можна використовувати лише разом з іншими діагностичними локусами. «Ноль»-алелі виявлено також у локусах *Res14* у обох видів, *Res16* – у *P. lessonae*, *Res5* – у *P. ridibundus*, а локус *RIC18* ампліфікується лише у зразках *P. lessonae* і *P. esculentus*. Виявлено спільні для обох видів алелі локусів *Rrid171*, *Res14*, *Res16* і *Res5*. Наявність неампліфікованих алелів і алелів, що трапляються у генотипах представників обох видів, не дає змоги використати більшість локусів для визначення видової приналежності, але їх високий поліморфізм дає можливість оцінити диференціацію індивідуальних генотипів.

Ми провели порівняння генотипів усіх досліджених жаб і встановили для них приналежність до генетичних груп на основі подібності. Сумарні генотипні дані з включенням вибірки *P. ridibundus* з чистої популяції Нижанкович показують досить чіткий розподіл на два батьківських види *P. ridibundus*, *P. lessonae* та перехідну генотипну групу *P. esculentus* (див. рисунок).

Таблиця 3

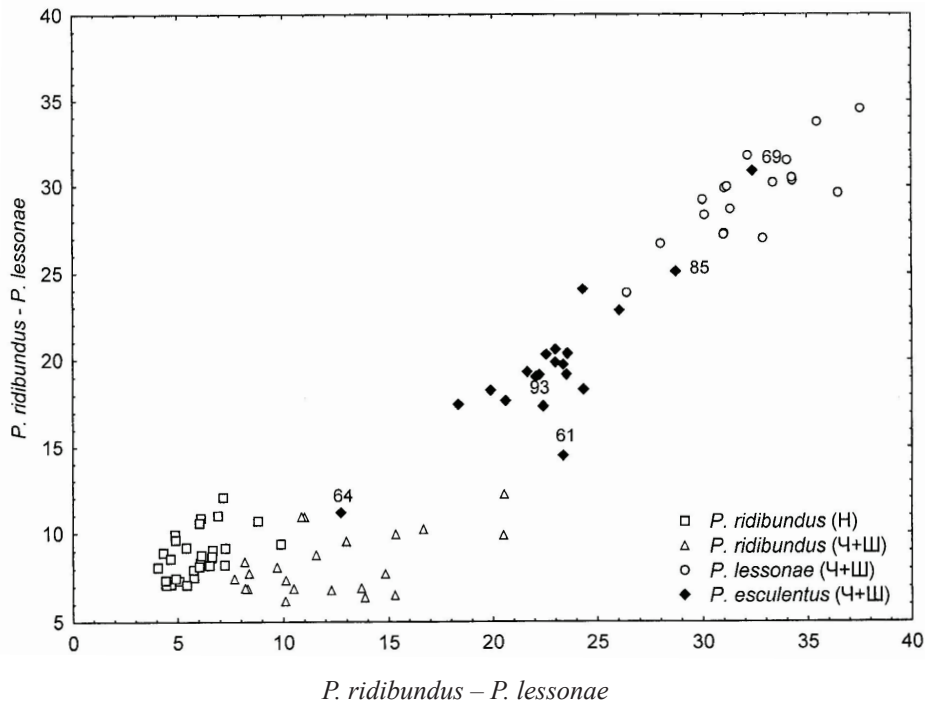
## Частоти алелів десяти мікросателітних локусів жаб

Локус	Алель	<i>P. ridibundus</i> (Н)*	<i>P. ridibundus</i> (ЧШ)	<i>P. lessonae</i> (ЧШ)	<i>P. esculentus</i> (ЧШ)	Локус	Алель	<i>P. ridibundus</i> (Н)*	<i>P. ridibundus</i> (ЧШ)	<i>P. lessonae</i> (ЧШ)	<i>P. esculentus</i> (ЧШ)		
<i>Rrid059</i>	103	0,000	0,000	1,000	0,500	<i>RICA1b5</i>	123	0,000	0,000	1,000	0,452		
	125	0,217	0,295	0,000	0,190		137	0,000	0,227	0,000	0,143		
	127	0,083	0,114	0,000	0,024		139	1,000	0,682	0,000	0,333		
	133	0,017	0,000	0,000	0,000		141	0,000	0,091	0,000	0,071		
	135	0,183	0,091	0,000	0,000		<i>Res14</i>	135	0,033	0,045	0,111	0,262	
	137	0,133	0,182	0,000	0,167			141	0,000	0,091	0,333	0,024	
	139	0,167	0,227	0,000	0,119			143	0,000	0,023	0,111	0,095	
	141	0,033	0,045	0,000	0,000			147	0,550	0,341	0,000	0,048	
	143	0,017	0,000	0,000	0,000		149	0,250	0,318	0,000	0,048		
	145	0,033	0,000	0,000	0,000		null	0,167	0,182	0,444	0,524		
	147	0,067	0,045	0,000	0,000		<i>RICA18</i>	175	0,000	0,000	0,056	0,000	
	149	0,050	0,000	0,000	0,000			181	0,000	0,000	0,222	0,071	
	<i>Rrid171</i>	173	0,000	0,023	0,056			0,000	183	0,000	0,000	0,139	0,024
		175	0,067	0,000	0,111			0,048	185	0,000	0,000	0,111	0,048
177		0,000	0,068	0,333	0,405	187	0,000	0,023	0,139	0,095			
179		0,000	0,000	0,111	0,000	191	0,000	0,000	0,167	0,429			
181		0,800	0,750	0,111	0,429	193	0,000	0,000	0,028	0,143			
183		0,000	0,000	0,111	0,024	195	0,000	0,000	0,028	0,048			
185		0,000	0,068	0,056	0,000	199	0,000	0,023	0,000	0,000			
187		0,000	0,000	0,028	0,000	null	1,000	0,955	0,111	0,143			
193		0,133	0,091	0,083	0,048	<i>Res5</i>	143	0,000	0,386	0,000	0,000		
201		0,000	0,000	0,028	0,024		145	0,000	0,068	0,083	0,048		
205		0,000	0,000	0,056	0,024		147	0,267	0,273	0,500	0,833		
117		0,267	0,250	0,000	0,738		149	0,000	0,000	0,333	0,119		
121		0,133	0,114	0,000	0,048	153	0,000	0,000	0,028	0,000			
135		0,000	0,068	0,000	0,071	167	0,000	0,000	0,056	0,000			
137	0,450	0,091	0,000	0,000	null	0,733	0,273	0,000	0,000				
139	0,100	0,000	0,000	0,048	<i>Res22</i>	91	0,050	0,455	0,000	0,000			
null	0,000	0,000	0,111	0,000		93	0,000	0,023	0,000	0,000			
120	0,017	0,182	0,000	0,000		105	0,000	0,000	0,833	0,095			
122	0,300	0,159	0,000	0,000	109	0,000	0,000	0,056	0,000				
124	0,167	0,114	0,000	0,000	<i>Rrid082</i>	163	0,200	0,182	0,139	0,095			
126	0,083	0,068	0,667	0,357		165	0,117	0,409	0,250	0,310			
128	0,000	0,000	0,000	0,048		183	0,683	0,409	0,306	0,548			
132	0,000	0,227	0,000	0,190		195	0,000	0,000	0,028	0,047			
134	0,433	0,250	0,000	0,262		201	0,000	0,000	0,028	0,000			
null	0,000	0,000	0,333	0,143		207	0,000	0,000	0,250	0,000			
<i>RICA19</i>	111	0,000	0,045	1,000	0,952								
	113	1,000	0,955	0,000	0,048								

Примітка: \* – Н – Нижанковичі, ЧШ – Чолгині + Шацьк сумарно.

У результаті проведеного аналізу наявності певних алелів за 10 мікросателітними локусами зразки № 40, 50, 51, 53, 73, визначені морфологічно як *P. lessonae*, і № 62, 66, 74 визначені як *P. esculentus*, були віднесені до *P. ridibundus*; зразки *P. ridibundus* № 59, 79, 81, 82 і *P. esculentus* № 44, 60, 63 – до *P. lessonae*; зразки *P. lessonae* № 54, 57, 58, 89, 93 і *P. ridibundus* № 55, 85 – до *P. esculentus*. Слід зазначити, що генотипи зразків 61 і 64 за діагностичним локусом *Rrid059A* повністю відповідали *P. ridibundus*, але за локусом *RICA1b5* у них, крім варіанта властивого для *P. ridibundus*, був виявлений алель 123, характерний для *P. lessonae*. Екземпляр № 93, визначений за генотипом *RICA1b5* як *P. ri-*

*dibundus*, у генотипі *Rrid059A* має один із алелів від *P. lessonae*. Зразки 69 і 85 відповідали *P. lessonae* за генотипом локусу *Rrid059A*, але в локусі *RIC1b5* один із алелів у кожного з них був від *P. ridibundus*. При розподілі генотипів за всіма десятьма локусами зразок 64 потрапляє до групи озерних жаб, зразки 61 і 93 – до їстівних жаб, № 85 – до групи проміжної між їстівною та ставковою жабами, а зразок 69 потрапляє до групи ставкових жаб (див. рисунок).



Розподіл зелених жаб на підставі аналізу їх генотипів за мікросателітними локусами: Н – Нижанковичі, Ч+Ш – Чолгині та Шацьк.

Характер розподілу генотипів за подібністю показує, що у гібридних популяціях зелених жаб існують не тільки чисті види *P. ridibundus*, *P. lessonae*, але й ціла низка перехідних гібридних форм, які за морфологічними рисами можуть відхилятися в бік одного з батьківських видів. За літературними даними, відома можливість нерівноцінного об'єднання генотипів *P. ridibundus* і *P. lessonae* у геномах *P. esculentus* [9]. Відхилення ознак гібридів у бік одного з батьківських видів може бути зумовлене розщепленням ознак у гаметогенезі гібридних особин, що виявляється під час схрещування гібридів між собою і з особинами батьківських видів, оскільки всі вони присутні у популяціях «Чолгинь» і «Шацька». Однак дане припущення потребує докладної перевірки, оскільки при геміклональному успадкуванні рекомбінації генотипів не відбувається.

Таким чином, на основі отриманих даних можна зробити висновок, що найбільш важливими для визначення виду зелених жаб з-поміж морфологічних ознак та індексів є характер стику гомілкових зчленувань (індекс F/T). Аналіз мікросателітних послідовностей ДНК підтвердив точність встановлення видової приналежності за цим індексом у 70% випадків. За характером забарвлення черева та горла зелених жаб також можна встановити видову приналежність особин, проте зі значно меншою достовірністю. Зокрема, темне

забарвлення горла характерне для *P. ridibundus* (у 31,9% випадків у наших дослідженнях), світле горло і черево для *P. lessonae* (у 19% випадків). На підставі аналізу мікросателітних послідовностей ДНК вдалося визначити певні генетичні локуси, які дають можливість встановити видову приналежність особин зелених жаб зі значно більшою достовірністю, ніж з використанням морфологічних і морфометричних критеріїв. Особливо цінними у діагностиці є локуси *Rrid059A*, *RIcA1b5* та *Res22*, у яких виявлені унікальні алелі, характерні для кожного виду зокрема. У генотипі *P. esculentus* наявні алелі від обох чистих видів і немає своїх унікальних варіантів.

Роботу виконано за часткової фінансової підтримки підпрограми «Динаміка і збереження генофондів» програми фундаментальних досліджень Президії РАН «Жива природа: сучасний стан і проблеми розвитку».

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Банников А. Г., Даревский И. С., Ищенко В. Г. и др. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР: учеб. пособие для студентов биол. специальностей пед. ин-тов. М.: Просвещение, 1977. 415 с.
2. Боркин Л. Я., Виноградов А. Е., Розанов Ю. М., Цауне И. А. Полуклональное наследование в гибридогенном комплексе *Pelophylax esculentus*: доказательство методом проточной ДНК-цитометрии // Докл. АН СССР. 1987. Т. 295. № 5. С. 1261–1264.
3. Ищенко В. Г. Динамический полиморфизм бурых лягушек фауны СССР. М.: Наука, 1978. С. 116–123.
4. Межжерин С. В., Песков В. Н. Биохимическая изменчивость и генетическая дифференциация популяций озерной лягушки *Rana ridibunda* Pall. // Цитология и генетика. 1992. Т. 26. № 1. С. 43–48.
5. Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю., Некрасова О. Д. и др. Эволюционно-генетические аспекты полуклонального воспроизводства гибридной формы кл. *esculenta* (*Amphibia*) // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2007. Вип. 21. С. 79–84.
6. Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю., Некрасова О. Д. и др. Генетическая структура гибридных поселений и морфометрия зеленых лягушек комплекса *Rana esculenta* L., 1758 Западноукраинского региона // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2009. Вип. 26. С. 5–12.
7. Некрасова О. Д. Структура популяцій та гібридизація зелених жаб *Rana esculenta* complex урбанізованих територій Середнього Придніпров'я: автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2002. 19 с.
8. Некрасова О. Д., Морозов-Леонов С. Ю. Диагностика лягушек комплекса *Rana esculenta* (*Amphibia*, *Ranidae*) в гибридных популяциях Приднепровья // Вестн. зоологии. 2001. Т. 35. № 5. С. 45–50.
9. Лада Г. А. Среднеевропейские зеленые лягушки (гибридогенный комплекс *Rana esculenta*): введение в проблему // Флора и фауна Черноземья. Тамбов, 1995. С. 88–109.
10. Писанець С. М. Земноводні України. К.: Вид-во Раєвського, 2007. 192 с.
11. Пащенко Ю. Й. Визначник земноводних та плазунів УРСР. К.: Радянська школа, 1955. 148 с.
12. Таращук В. І. Земноводні та плазуни. Фауна України. Т.7. К.: Вид-во АН УРСР, 1959. 246 с.
13. Таращук С. В. К методике определения европейских зеленых лягушек группы *Rana esculenta* (*Amphibia*, *Anura*) // Вестн. зоологии. 1985. 3. С. 83–85.

14. Таращук С. В. Схема морфометрической обработки представителей настоящих лягушек (Ranidae) // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. К., 1989. С. 73–74.
15. Berger L. Systematyka żab zielonych // Przegl. zool. 1969. Vol. 13. N 3. S. 219–238.
16. Garner T. W. J., Gautschi B., Rothlisberger S., Reyer H.-U. A. Set of CA repeat microsatellite markers derived from the pool frog, *Rana lessonae* // Molecular Ecology. 2000. Vol. 9. P. 2155–2234.
17. Hotz H., Uzzel T., Guex G.-D. et al. Microsatellites: a tool for evolutionary genetic studies of western Palearctic water frogs // Mitt. Mus. Nat.kd. Berl., Zool. Reihe. 2001. Vol. 77. N 1. P. 43–50.
18. Lada G. A., Borkin L. J., Vinogradov A. E. Distribution, population systems and reproductive behavior of green frogs (hybridogenetic *Rana esculenta* complex) in the Central Chernozem Territory of Russia // Russian J. Herpetol. 1995. Vol. 2. № 1. P. 46–57.
19. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx V6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research // Molecular Ecology Notes. 2006. Vol. 6. N 1. P. 288–295.
20. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // Bioinformatics. 2012. Vol. 28. P. 2537–2539.
21. Pidancier N., Miquel C., Miaud C. Buccal swabs as a non-destructive tissue sampling method for DNA analysis in amphibians // Herpetological J. 2003. Vol. 13. P. 175–178.
22. Zeisset I., Rowe G., Beebee T. J. C. Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the north European water frogs *Rana ridibunda* and *R. lessonae* // Molecular Ecology. 2000. Vol. 9. P. 1171–1193.

Стаття: надійшла до редакції 30.05.13

доопрацьована 16.10.13

прийнята до друку 30.10.13

## MORPHOLOGICAL AND GENETIC POLYMORPHISM OF GREEN FROGS (*PELOPHYLAX*) IN WATER BODIES OF WESTERN UKRAINE

V. Stakh<sup>1</sup>, M. Belokon<sup>2</sup>, I. Khamar<sup>1</sup>, Yu. Belokon<sup>2</sup>, O. Reshetylo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics RAS  
3, Gubkin St., Moscow 119991, Russia

<sup>3</sup>Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine

e-mail: vstax\_77@mail.ru

The problem of species differentiation of green frogs is connected to the hybrid type of *Pelophylax esculentus* reproduction. The hybrid has got genes of both parents: Marsh frog *Pelophylax ridibundus* and Pool frog *Pelophylax lessonae*. There was established that the four investigated individuals are typical example of hemiclinal inheritance, and their location is not determined by geographical conditions. Based on comparison of genetic and morphological analyses it was ascertained that using F/T index is the optimal way to deter-



mine the species of green frog in the field. The accuracy of green frogs' determination using this index is 70%.

*Keywords:* klepton, microsatellite loci, Marsh frog, Pool frog, Edible frog, Western Ukraine.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК (*PELOPHYLAX*) ВОДОЕМОВ ЗАПАДНОЙ УКРАИНЫ

В. Стах<sup>1</sup>, М. Белоконь<sup>2</sup>, І. Хамар<sup>1</sup>, Ю. Белоконь<sup>2</sup>, О. Решетило<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

<sup>2</sup>Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН  
ул. Губкина, 3, Москва 119991, Россия

<sup>3</sup>Институт экологии Карпат НАН Украины  
ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина  
e-mail: vstax\_77@mail.ru

Проблема видового определения зеленых лягушек связана с гибридным способом воспроизведения особей *Pelophylax esculentus*. Гибрид несет гены обоих родителей: озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* и прудовой лягушки *Pelophylax lessonae*. Было установлено, что четыре из исследуемых особей являются типичным примером гемиклонального наследования, а их локализация не обусловлена географическими условиями. Сравнив данные генетического и морфологического анализов, установили, что при определении вида особей зеленых лягушек в полевых условиях оптимальным является использование индекса F/T. С его помощью точность определения особей зеленых лягушек до вида составляет 70%.

*Ключевые слова:* клептон, микросателлитные локусы, лягушка озерная, лягушка прудовая, лягушка съедобная, Западная Украина.