

ПОЛУКЛОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГИБРИДНОЙ ФОРМЫ *PELOPHYLAX ESCULENTUS-RIDIBUNDUS* (AMPHIBIA, RANIDAE) БАСЕЙНОВ РЕК ПРИПЯТЬ, ДНЕСТР И ЮЖНЫЙ БУГ

С.Ю. МОРОЗОВ-ЛЕОНОВ

Институт зоологии НАН Украины им. И. И. Шмальгаузена
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев-30, ГСП, 01601 Украина
E-mail: morleone2000@yahoo.com

Проанализирована полуклональная структура гибридной формы Pelophylax esculentus-ridibundus бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг. Продемонстрированы межбассейновые и межпопуляционные различия уровня изменчивости наследуемого генома. Уровень генетического разнообразия наследуемого генома P. esculentus-ridibundus в бассейне Припяти достоверно ниже, чем в двух других бассейнах. При этом только в бассейне Припяти выявлены моноклональные популяции данной гибридной формы. Достоверных различий уровня генетической изменчивости данной гибридной формы между популяциями бассейнов Днестра и Южного Буга не выявлено. Проанализирована связь между уровнем изменчивости наследуемого генома гибридной формы и потенциальной возможностью повторной гибридизации родительских видов.

Ключевые слова: Pelophylax, гибридная форма, полуклональная изменчивость

Введение. Клональное наследование как один из способов воспроизводства широко распространено в природе. Характерной особенностью такого наследования является то, что популяция клональной формы состоит из одного или нескольких генетически дискретных и репродуктивно изолированных групп особей (клонов). По этой причине проблема количественной оценки эволюционных перспектив любой клональной формы может быть решена путем анализа числа таких клонов и частоты каждого из них.

Анализ природных популяций различных клональных форм показал, что часть из них моноклональна (состоит из представителей единственного клона), часть — поликлональна (число клонов в одной популяции превышает 1). Эта ситуация выявлена, например, в популяциях беспозвоночных. В частности, такова клональная структура изученных видов рако-

образных Crustacea (Decapoda [1], Cladocera [2]), представителей таких отрядов класса насекомых Insecta, как перепончатокрылые (Hymenoptera) [3], полужесткокрылые (Hemiptera) [4], чешуекрылые (Lepidoptera) [5], палочники (Phasmida) [6]. Аналогичная ситуация выявлена в популяциях партеногенетических форм моллюсков отряда брюхоногих (Gastropoda) [7, 8]. При этом моноклональные и поликлональные популяции моллюсков зачастую соседствуют в пределах ареала, что ставит вопрос о механизмах поддержания в конкретной популяции моно- или поликлональности.

Среди позвоночных клональные формы известны для класса пресмыкающихся Reptilia. Природные популяции таких форм в пределах одного вида могут быть как моно-, так и поликлональными [9–12].

Моно- и поликлональность выявлена также в популяциях генетических форм, которым присущ так называемый полуклональный способ наследования. Суть его состоит в том, что гибридная особь производит гаметы, содержащие лишь геном лишь одного из родителей. Воспроизводство таких форм происходит за счет возвратных скрещиваний с особями соответствующего родительского вида. Гибридные формы, которым присуще такой способ наследования, выявлены среди рыб семейств Cyprinidae [13, 14] и Cyprinodontidae [15]. В последнем случае поликлональность наследуемого генома была интерпретирована как доказательство многократного происхождения данной гибридной формы, что согласуется с данными, полученными на других модельных видах [16].

Одной из наиболее известных среди позвоночных генетических форм с альтернативным способом воспроизводства является гибридная форма, происходящая от скрещивания особей

двух видов зеленых лягушек — озерной *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771 и прудовой *P. esculentus* Linnaeus, 1758 (= *P. lessonae* Camerano, 1871). Эта гибридная форма уже давно является модельным объектом для различных генетических исследований. Анализ генетической структуры популяций этой гибридной формы показал наличие в природе как моноклональных, так и поликлональных популяций [17, 18].

Однако следует отметить, что анализ полуклонального разнообразия данной гибридной формы был проведен лишь для западноевропейских популяций (Швейцария, Швеция, Дания, Германия) из бассейнов Северного и Балтийского морей [18–20] при почти полном отсутствии данных о популяциях из бассейна Черного моря. Анализ генетической структуры *P. esculentus-ridibundus* из популяций Паннонской низменности, расположенных в бассейне Дуная, продемонстрировал поликлональность данной гибридной формы в этом регионе [21]. Оценка числа полуклонов и генетического разнообразия гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* из других рек бассейна Черного моря до сих пор никем не были произведены. Таким образом, основной целью данного исследования является анализ полуклонального разнообразия гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* из региона, расположенного восточнее бассейна Дуная — из бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи.

1. Идентифицировать полуклоны гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* из популяций бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг.

2. Дать количественную оценку уровня внутривидовой изменчивости гибридной формы *P. esculentus-ridibundus*.

3. Выявить специфические для бассейнов полуклоны и дать количественную оценку межбассейновой дифференциации гибридной формы *P. esculentus-ridibundus*.

Материал и методы. Материалом для настоящей работы послужили 19 выборок зеленых лягушек из бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг (Правобережная Украина).

Выборки из водоемов бассейна р. Припять (I) были взяты на территории следующих об-

ластей: Волынской (P1–P6) (P1 — Шацкий р-н, окр. г. Шацк, 2008 г.); (P2 — Старовыжевский р-н, окр. с. Брунетовка, 2004 г.); (P3 — Ковельский р-н, окр. с. Кричевичи, 2004 г.); (P4 — Любешовский р-н, окр. с. Селисок, 2012–2017 гг.); (P5 — Маневичский р-н, окр. с. Маневичи, 2009 г.); (P6 — Луцкий р-н, окр. г. Луцк, 1994 г.); Житомирской (P7–P8) (P7 — Овручский р-н, окр. с. Селезівка, 2009 г.); (P8 — Любарский р-н, окр. г. Любар, 1995 г.); Хмельницкой (P9 — Староконстантиновский р-н, окр. с. Ладьги, 1995 г.); Тернопольской (P10 — Лановецкий р-н, окр. с. Борщовка, 1995 г.).

Выборки из водоемов бассейна р. Днестр (II) были взяты на территории следующих областей: Львовской (D11 — Стрыйский р-н, окр. с. Моршин, 2001 г.); Тернопольской (№ 12–14) (D12 — Зборовский р-н, окр. с. Зализци, 2008 г.); (D13 — Монастырский р-н, окр. с. Монастыриска, 2009 г.); (D14 — Борщевский р-н, окр. с. Слобидка-Мушкативська, 2008 г.).

Выборки из водоемов бассейна р. Южный Буг (III) были взяты на территории следующих областей: Винницкой (B15–B19) (B15 — Жмеринский р-н, окр. г. Браилов, 2002 г.); (B16 — Винницкий р-н, окр. с. Широкая Гребля, 2003 г.); (B17 — Винницкий р-н, окр. с. Якушинцы, 2003 г.); (B18 — Калиновский р-н, окр. с. Калиновка, 2002 г.); Черкасской (B19 — Уманский р-н, окр. г. Умань, 2010 г.).

Видовой состав, объем выборок и их географические координаты приведены в табл. 1. Географическое расположение выборок приведено на рис. 1.

Идентификация генетической принадлежности лягушек была осуществлена при помощи электрофоретического анализа генотипов по диагностическим генам. Нами были изучены генотипы животных по следующим генам: Б-субъединицы лактатдегидрогеназы (*Ldh-B*), цитоплазматической аспартатамино-трансферазы (*Aat-1*), эстераз-1 и 5 (*Es-1*, *Es-5*) и альбумина (*Alb*). Электрофоретическое разделение было проведено по стандартным методикам, ранее описанным в литературе [22]. Каждый гаплотип был идентифицирован по соответствующему сочетанию аллелей полиморфных диагностических генов *Ldh-B-Alb-Es-1-Es-5*.

Полуклональное разнообразие гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus*

Таблица 1. Координаты и полуклональный состав гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в выборках бассейнов Припяти, Днестра и Южного Буга

Популяции															
Широта					51,49	51,48	51,28	51,84	51,29	50,74	51,48	49,90	49,69	49,92	Суммарно I
Долгота					23,93	24,54	24,97	25,49	25,55	25,30	28,06	27,72	27,41	25,94	
Полуклон					I. Припять										
№	Гаплотип				P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	Суммарно I
	<i>Ldh-B</i>	<i>Alb</i>	<i>Es-1</i>	<i>Es-5</i>											
2	81	92	100	100									1		1
7	100	92	100	100	1			4		6		1	3	6	21
8	100	96	91	100				1					1		2
11	100	96	100	100	47	8	11	10	8	5	17	13	8	1	128
12	100	96	110	100				2							2
	<i>n</i>				48	8	11	17	8	11	17	14	13	7	154
	Nhem				2	1	1	4	1	2	1	2	4	2	5
	Neff		Obs.		1,04	1,00	1,00	2,39	1,00	1,98	1,00	1,15	2,25	1,32	1,41
			Exp.		1,04	1,00	1,00	2,46	1,00	1,98	1,00	1,15	2,37	1,32	1,41
	Nhem		Obs.		0,04	0,00	0,00	0,62	0,00	0,55	0,00	0,14	0,60	0,29	0,29
			Exp.		0,04	0,00	0,00	0,63	0,00	0,55	0,00	0,14	0,63	0,29	0,29
	Geff		Obs.		0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,10	0,00	0,01	0,10	0,05	0,00
			Exp.		0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,10	0,00	0,01	0,11	0,05	0,00
	<i>P. esculentus</i>		<i>n</i>		4	0	0	4	0	1	9	4	2	1	25
	<i>P. ridibundus</i>		<i>n</i>		19	0	0	1	0	52	0	1	10	9	92
			P		0,27	0,00	0,00	0,05	0,00	0,81	0,00	0,05	0,40	0,53	0,34

Популяции															
Широта					49,16	49,79	49,09	48,86	49,11	49,16	49,26	49,45	48,70	Суммарно II	Суммарно III
Долгота					23,87	25,37	25,18	25,94	28,16	28,25	28,37	28,52	30,22		
Полуклон					II. Днестр				III. Южный Буг						
№	Гаплотип				D11	D12	D13	D14	B15	B16	B17	B18	B19	Суммарно II	Суммарно III
	<i>Ldh-B</i>	<i>Alb</i>	<i>Es-1</i>	<i>Es-5</i>											
1	81	92	91	100			1					1		1	1
2	81	92	100	100		3	3	2	1				5	8	6
3	81	96	91	100	3							1		3	1
4	81	96	96	100		1	1			1				2	1
5	81	96	100	100				2	2	2		1	3	2	8
6	100	92	100	96					1		1				2
7	100	92	100	100		6	6	3	2	1		4	2	15	9
8	100	96	91	100	5				1			1		5	2
9	100	96	96	100		2		1	3		3			3	6
10	100	96	100	96				2				1		2	1
11	100	96	100	100	9		2			4	1	7		11	12
	<i>n</i>				17	12	13	10	10	8	5	16	10	52	49
	Nhem				3	4	5	5	6	4	3	7	3	10	11

Neff	Obs.	2,51	2,88	3,31	4,55	5,00	2,91	2,27	3,66	2,63	5,80	6,44
	Exp.	2,81	4,61	4,05	6,90	8,79	3,08	4,16	4,11	2,54	6,53	6,14
Hhem	Obs.	0,64	0,71	0,76	0,87	0,89	0,75	0,70	0,78	0,69	0,84	0,86
	Exp.	0,68	0,85	0,82	0,87	0,98	0,77	0,95	0,81	0,67	0,86	0,85
Geff	Obs.	0,09	0,17	0,19	0,39	0,44	0,27	0,32	0,18	0,18	0,09	0,11
	Exp.	0,11	0,33	0,25	0,41	0,87	0,30	0,79	0,21	0,17	0,11	0,11
<i>P. esculentus</i>	<i>n</i>	59	3	0	0	10	0	12	1	1	62	24
<i>P. ridibundus</i>	<i>n</i>	0	18	10	14	2	17	29	5	16	42	69
	<i>P</i>	0,00	0,55	0,43	0,58	0,09	0,68	0,63	0,23	0,59	0,27	0,49

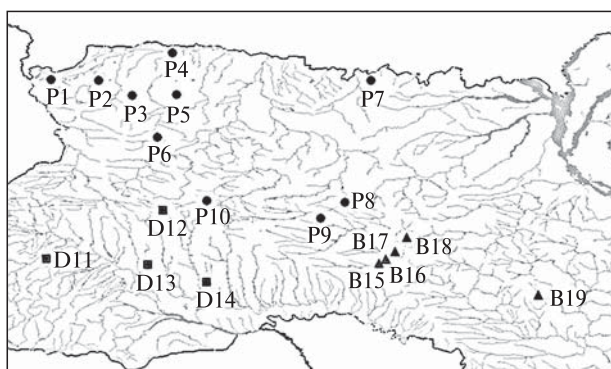


Рис. 1. Географическое расположение выборок гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг

Для выборок были вычислены следующие параметры.

Число полуклонов (Nhem). Определено прямым подсчетом числа электрофоретически различимых гаплотипов.

Наблюдаемая частота полуклона (Pobs). Вычислена по формуле $P_i = n_i / \sum n$, где n_i – число особей, несущих *i*-й гаплотип.

Ожидаемая частота полуклона (Pexp). Эта величина вычислялась исходя из предположения о случайном характере объединения аллелей разных генов в полигенных гаплотипах. Вычислена путем перемножения наблюдаемых частот аллелей соответствующих генов. Например, для гаплотипа $Ldh-B^{77}-Alb^{92}-Es-1^{96}-Es-5^{100}$ $P_{exp} = P(Ldh-B^{77}) * P(Alb^{92}) * P(Es-1^{96}) * P(Es-5^{100})$.

Эффективное число полуклонов (Neff). Вычислено по формуле $N_{eff} = 1 / \sum (P_i^2)$, где P_i – частота *i*-того гаплотипа в выборке [23].

Ожидаемая гетерозиготность (Nexp). Вычислена по формуле $N_{exp} = (1 - \sum (P_i^2)) * N / (N - 1)$,

где P_i – частота *i*-того аллеля конкретного гена, N – объем выборки.

Полуклональная гетерозиготность (Hhem). Вычислена по формуле, аналогичной формуле для ожидаемой гетерозиготности по одному гену $H_{hem} = (1 - \sum (P_i^2)) * N / (N - 1)$, где P_i – частота *i*-того гаплотипа в выборке [24].

Индекс полуклонального разнообразия (Geff). Вычислен по формуле $G_{eff} = (N_{eff} - 1) / (N - 1)$ [25].

Частота особей озерной лягушки в объединенной выборке (Prid). Вычислена по формуле $P_{rid} = N_{rid} / (N_{esc} + N_{rid} + N_{hybr})$, где N_{esc} – объем выборки прудовых лягушек, N_{hybr} – объем выборки гибридных особей, N_{rid} – объем выборки озерных лягушек.

Статистическая обработка проводилась при помощи стандартных критериев. Сравнение распределений частот гаплотипов было проведено с использованием критерия хи-квадрат. Сравнение частот полуклонов, значений Nhem, Geff – с помощью фи-критерия Фишера.

Результаты. Полуклональное разнообразие гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в пределах изученного региона. Данная гибридная форма в водосборных бассейнах всех трех рек (Припять, Днестр, Южный Буг) имеет в целом поликлональную структуру (таб. 1, рис. 2, 3).

В популяциях из бассейна Припяти (I) для этой гибридной формы идентифицировано 5 полуклонов. Количество полуклонов в отдельных популяциях изменяется в пределах 1–4. При этом в популяциях данного бассейна численное преобладание двух массовых полуклонов – № 7 ($Ldh-B^{100}-Alb^{92}-Es-1^{100}-Es-5^{100}$) и № 11 ($Ldh-B^{100}-Alb^{96}-Es-1^{100}-Es-5^{100}$) хорошо заметно. Суммарная частота этих полуклонов

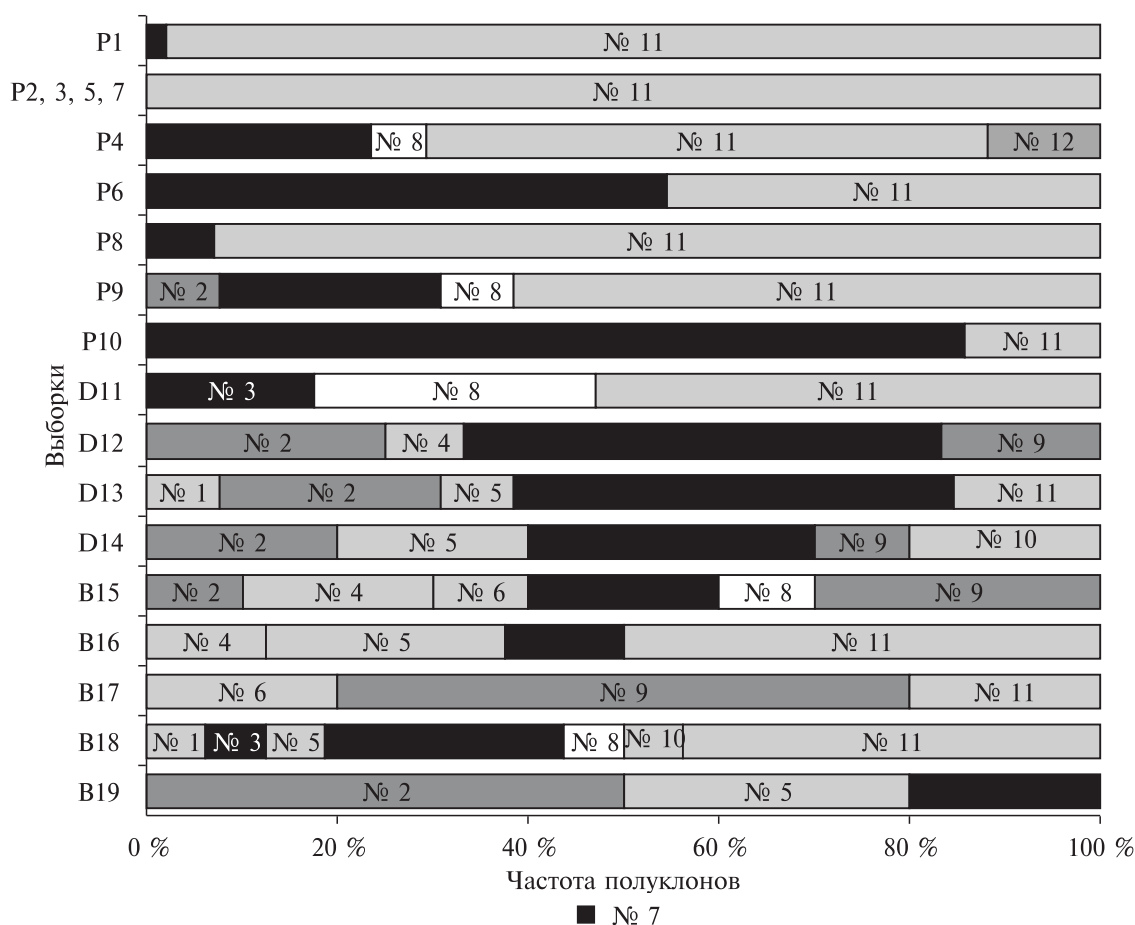


Рис. 2. Полуклональное разнообразие гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в выборках из бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг. № 1–12 – номера полуклонов

в популяциях бассейна Припяти колеблется в пределах 0,81–1,00. В популяциях P2, P3, P5, P7 полуклон № 11 фиксирован.

В популяциях из бассейна Днестра (II) идентифицировано 10 полуклонов. Количество полуклонов в отдельных популяциях изменяется в пределах 3–5. Суммарная частота полуклонов № 7 и 11 в популяциях бассейна Днестра колеблется в пределах 0,30–0,62.

Полуклональная структура гибридной формы из бассейна Южного Буга (III) сходна с таковой из бассейна Днестра. В популяциях бассейна Южного Буга идентифицировано 11 полуклонов. Количество полуклонов в отдельных популяциях изменяется в пределах 3–7. Суммарная частота полуклонов № 7 и 11 в популяциях данного бассейна колеблется в пределах 0,20–0,69.

*Селективная нейтральность полуклональной изменчивости гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в популяциях изученного региона.* Ни в одной из выборок не было выявлено достоверных различий между наблюдаемым и ожидаемым распределениями гаплотипов у данной гибридной формы. Также не выявлено достоверных различий между наблюдаемыми и ожидаемыми значениями гетерозиготности и индекса полуклонального разнообразия (табл. 1).

Распределения полуклонов в популяциях разных бассейнов. Межбассейновые различия полуклональной структуры гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* наглядно продемонстрированы анализом частоты массового полуклона № 11 ($Ldh-B^{100}-Alb^{96}-Es-I^{100}-Es-5^{100}$). Частота данного полуклона демонстрирует четкую тенденцию к снижению в направлении

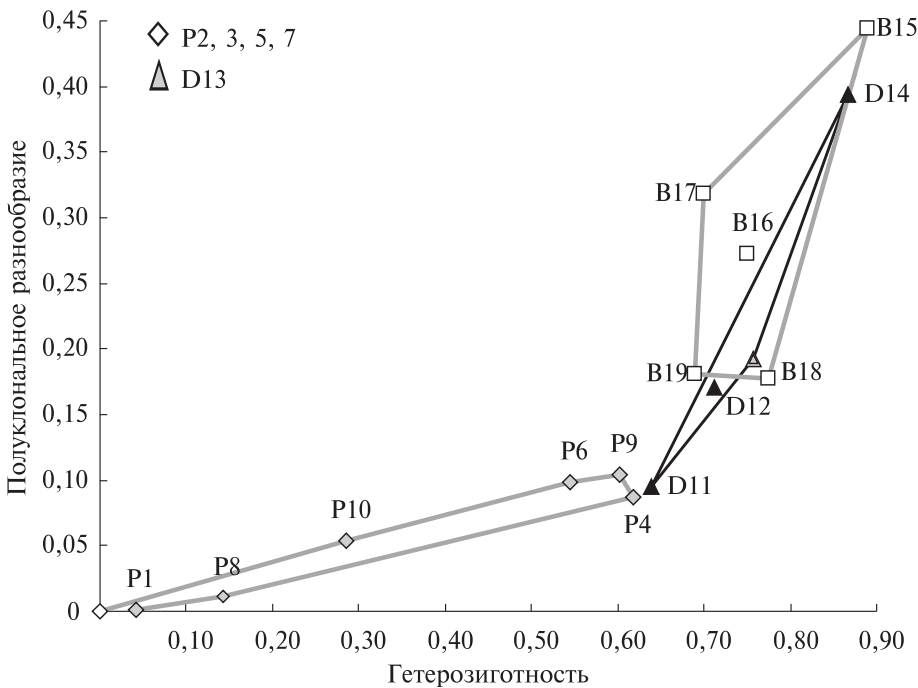


Рис. 3. Значения показателей генетического разнообразия гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в выборках бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг. 1–19 — номера выборок (см. «Материал и методы»)

от северных популяций к южным. Данный полуклон, будучи численно преобладающим в популяциях бассейна Припяти (имея среднюю частоту 0,83), в популяциях бассейнов Днестра и Южного Буга имеет частоту примерно в 4 раза ниже (0,21–0,24) ($P > 0,999$).

Распределение полуклонов бассейна Припяти (I) достоверно ($P > 0,999$) отличается от таковых для бассейнов Днестра и Южного Буга (II, III). При этом распределения полуклонов бассейнов II и III достоверных различий не показали. Единственный полуклон из популяций бассейна Припяти, не выявленный в двух других бассейнах — № 12 (частота 0,01). Частота полуклонов, не выявленных в популяциях бассейна Припяти, составляет 0,25 для бассейна Днестра и 0,41 для бассейна Южного Буга (табл. 1).

Генетическая изменчивость наследуемого генома гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в пределах изученного региона. Популяции бассейна Припяти (I) характеризуются самым низким средним уровнем наследственной изменчивости (табл. 1, рис. 3). Полуклональная гетерозиготность для данного бассейна в целом равна 0,29 и варьирует в пределах 0,00 (P2, P3, P5, P7) — 0,62 (P4). Индекс полукло-

нального разнообразия в целом равен 0,00 и варьирует в пределах 0,00–0,11 (P9).

Гибридная форма в популяциях других бассейнов (II–III) обладает более высоким уровнем генетической изменчивости (табл. 1, рис. 3). Полуклональная гетерозиготность данной гибридной формы в бассейнах II–III примерно в 3 раза выше, чем в бассейне Припяти, и равна 0,84–0,86 ($P > 0,999$). Минимальное значение полуклональной гетерозиготности для популяций бассейнов II–III выше максимального для популяций бассейна I и составляет 0,64 (D11). Максимальный уровень генетической изменчивости гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в бассейнах II–III выявлен в популяции B15 ($H_{hem} = 0,89$, $G_{eff} = 0,44$).

Уровень генетической изменчивости наследуемого генома гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* и видовой состав гибридных популяций. Данная гибридная форма была моноклональна (представлена единичным полуклоном № 11) только в тех популяциях, где отсутствует родительский вид *P. ridibundus* (табл. 1). Во всех остальных популяциях, где этот родительский вид был выявлен, наследуемый геном этой гибридной формы был

Полуклональное разнообразие гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus*

Таблица 2. Аллельные частоты полиморфных диагностических генов наследуемого генома в выборках гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* бассейнов Припять, Днестра и Южного Буга

Популяции													
Аллель	I. Припять										Суммарно		
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	Hybr	P. rid.	
											Hybr	P. rid.	
<i>Ldh-B</i>													
77													0,04
81									0,08			0,01	0,09
100	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,92	1,00		0,99	0,87
Нехр	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00		0,02	0,24
<i>Alb</i>													
92	0,02			0,24		0,55		0,07	0,31	0,86		0,14	0,41
96	0,98	1,00	1,00	0,76	1,00	0,45	1,00	0,93	0,69	0,14		0,86	0,59
Нехр	0,04	0,00	0,00	0,39	0,00	0,55	0,00	0,14	0,46	0,29		0,24	0,49
<i>Es-1</i>													
91				0,06						0,08		0,01	0,01
96													
100	1,00	1,00	1,00	0,82	1,00	1,00	1,00	1,00	0,92	1,00		0,98	0,99
110				0,12								0,01	
Нехр	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00		0,04	0,02
<i>Es-5</i>													
100	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00		1,00	1,00
n	48	8	11	17	8	11	17	14	13	7		154	184
Аллель	II. Днестр					III. Южный Буг							
	D11	D12	D13	D14	Суммарно		B15	B16	B17	B18	B19	Суммарно	
					Hybr	P. rid.						Hybr	P. rid.
<i>Ldh-B</i>													
77						0,01							0,09
81	0,18	0,33	0,38	0,40	0,31	0,39	0,30	0,38	0,00	0,19	0,80	0,35	0,27
100	0,82	0,67	0,62	0,60	0,69	0,60	0,70	0,63	1,00	0,81	0,20	0,65	0,64
Нехр	0,31	0,48	0,51	0,53	0,44	0,50	0,47	0,54	0,00	0,33	0,36	0,46	0,52
<i>Alb</i>													
92	0,00	0,75	0,77	0,50	0,46	0,45	0,40	0,13	0,20	0,31	0,70	0,37	0,54
96	1,00	0,25	0,23	0,50	0,54	0,55	0,60	0,88	0,80	0,69	0,30	0,63	0,46
Нехр	0,00	0,41	0,38	0,56	0,51	0,50	0,53	0,25	0,40	0,46	0,47	0,48	0,50
<i>Es-1</i>													
91	0,47		0,08		0,17		0,10			0,19		0,08	0,04
96		0,25	0,08	0,10	0,10	0,31	0,50	0,13	0,60			0,14	0,12
100	0,53	0,75	0,85	0,90	0,73	0,69	0,40	0,88	0,40	0,81	1,00	0,78	0,83
Нехр	0,53	0,41	0,29	0,20	0,44	0,43	0,64	0,25	0,60	0,33		0,37	0,29
<i>Es-5</i>													
96				0,20	0,04	0,05	0,10		0,20	0,06		0,06	0,09
100	1,00	1,00	1,00	0,80	0,96	0,95	0,90	1,00	0,80	0,94	1,00	0,94	0,91
Нехр	0,00	0,00	0,00	0,36	0,08	0,09	0,20	0,00	0,40	0,13	0,00	0,12	0,16
n	17	12	13	10	52	84	10	8	5	16	10	49	138

поликлональным независимо от частоты особей родительского вида. Корреляция между частотой озерной лягушки в популяции (Prid) и полуклональной гетерозиготностью (Hhem) гибридной формы недостоверна ($r = 0,52$, $P < 0,95$).

Изменчивость диагностических генов наследуемого генома у гибридной формы Pelophylax esculentus-ridibundus. Ген *Ldh-B* у гибридной формы в данном регионе представлен двумя аллелями. Аллель *Ldh-B*⁷⁷, выявленный в выборках озерной лягушки из всех трех бассейнов, не обнаружен у гибридной формы (табл. 2).

В популяциях гибридной формы бассейна Припяти фиксирован аллель *Ldh-B*¹⁰⁰, за исключением популяции P9. В целом для гибридных лягушек из данного бассейна частота аллеля *Ldh-B*¹⁰⁰ равна 0,99, в бассейнах Днестра и Южного Буга она варьирует в широких пределах — от 0,20 (B10) до 1,00 (B17). Ожидаемая гетерозиготность Нехр этого гена в популяциях гибридной формы бассейна Припяти варьирует в пределах 0,00–0,15, составляя в среднем 0,02, что почти в 12 раз меньше, чем для объединенной выборки озерной лягушки (0,24) (табл. 2, $P > 0,999$). Ожидаемая гетерозиготность Нехр гена *Ldh-B* в популяциях гибридной формы бассейнов Днестра и Южного Буга варьирует в пределах 0,00–0,53, составляя в среднем 0,44 (Днестр)—0,46 (Южный Буг), не демонстрируя достоверных отличий от средних значений, вычисленных для симпатрических популяций озерной лягушки (табл. 2).

Ген *Alb* также представлен двумя аллелями. Средняя частота численно преобладающего аллеля *Alb*⁹⁶ составляет в бассейне Припяти 0,86 (0,14–1,00 в отдельных популяциях). В бассейнах Днестра и Южного Буга средняя частота этого аллеля равна 0,54–0,63 соответственно. В отдельных популяциях из этих бассейнов частота данного аллеля колеблется в пределах 0,23 (D13) — 1,00 (D11) (табл. 2). Ожидаемая гетерозиготность Нехр этого гена у гибридной формы бассейна Припяти варьирует в пределах 0,00–0,55, составляя в среднем 0,24, что примерно 2 раза меньше, чем для объединенной выборки озерной лягушки (0,49) (табл. 2, $P > 0,999$). Значения этого показателя для гена *Alb* в популяциях гиб-

ридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* из других бассейнов равны 0,51 (Днестр) — 0,48 (Южный Буг), что практически совпадает со значением для озерной лягушки (0,50).

Ген *Es-1* в популяциях бассейна Припяти представлен тремя аллелями. Аллель *Es-1*⁹¹ обнаружен только в популяциях P4 и P9 с низкой частотой (0,06–0,08), аллель *Es-1*¹¹⁰ выявлен только в популяции P4 с частотой 0,12. Численно преобладающий аллель *Es-1*¹⁰⁰ выявлен во всех популяциях данного бассейна с частотой 0,82–1,00 (в целом для бассейна его частота равна 0,98) (табл. 2). В популяциях бассейнов Днестра и Южного Буга ген *Es-1* представлен также тремя аллелями. Аллель *Es-1*⁹⁶, отсутствующий в популяциях бассейна Припяти, представлен со средней частотой 0,10–0,14. Частота аллеля *Es-1*¹⁰⁰ колеблется в пределах 0,40–1,00, будучи в целом 0,73 для бассейна Днестра и 0,78 для бассейна Южного Буга (табл. 2).

Ген *Es-5* в популяциях бассейна Припяти представлен единственным аллелем *Es-5*¹⁰⁰, частота которого в популяциях бассейнов двух других рек колеблется в пределах 0,80 (B17) — 1,00. Средняя частота этого аллеля составляет 0,96 в популяциях бассейна Днестра и 0,94 в популяциях бассейна Южного Буга (табл. 2).

Популяции гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* бассейна Припяти достоверно отличаются от популяций из бассейнов Днестра и Южного Буга по частотам аллелей генов *Ldh-B*, *Alb*, *Es-1* (кроме аллеля *Es-1*¹¹⁰) и *Es-5*. Средние частоты аллелей изученных генов данной гибридной формы ни в одном из случаев не демонстрируют достоверных различий между популяциями бассейнов Днестра и Южного Буга.

Обсуждение. Полуклональное разнообразие гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в пределах изученного региона. В пределах изученного нами региона моноклональность данной гибридной формы оказалась локальным явлением, выявленным лишь в некоторых популяциях бассейна Припяти, что отчасти совпадает с результатами других исследователей [17, 18]. Это позволяет утверждать, что для гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* в целом характерна поликлональная структура, как и для других (полу)клональных

форм гибридного происхождения, известных для позвоночных [26] и насекомых [27–29].

Деградация поликлональной структуры наследуемого генома гибридной формы Pelophylax esculentus-ridibundus и возможный механизм ее компенсации. Некоторые из изученных популяций, имея поликлональную генетическую структуру, близки к моноклональному состоянию. Таковы популяции P1, P8 (табл. 1, рис. 2). В выборках из этих популяций полуклон № 7 представлен единичными особями. Такой полуклон скорее всего исчезнет из популяции в течение нескольких ближайших поколений в силу стохастических процессов [30]. Это позволяет предположить, что моноклональность гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* может быть следствием исчезновения из популяции именно редких полуклонов. Дополнительным аргументом в поддержку такой гипотезы может быть тот факт, что во всех моноклональных популяциях был зафиксирован именно полуклон № 11, имеющий наивысшую частоту в целом для популяций бассейна Припяти. Поэтому можно предположить, что динамика генетической структуры гибридной формы *Pelophylax esculentus-ridibundus* в случае полуклонального воспроизводства проходит через три стадии – А) поликлональность; В) поликлональность, близкая к моноклональности; С) моноклональность.

Примечательно, что во всех популяциях, где гибридная форма *Pelophylax esculentus-ridibundus* оказалась моноклональной, не была обнаружена озерная лягушка *P. ridibundus*. Гибридизация родительских видов (которая возможна лишь при наличии особей озерной лягушки) является причиной появления в популяции гибридов F1 *P. esculentus-ridibundus*, которые несут наследуемый геном с относительно высоким уровнем генетической изменчивости, присущим родительскому виду в данном регионе (табл. 2). Как известно, гибридные особи *P. esculentus-ridibundus* из бассейнов Тисы и Днепра наследуют именно геном озерной лягушки [31]. Это позволяет предположить, что наличие особей этого родительского вида в симпатрии с гибридной формой *P. esculentus-ridibundus* позволяет компенсировать утрату редких полуклонов.

Второй родительский вид (прудовая лягушка *P. esculentus*), без которого появление гибридов F1 невозможно, был обнаружен не во всех проанализированных выборках. Он отсутствует в выборках P2, P3, P5, где гибридная форма *P. esculentus-ridibundus* моноклональна. Также прудовая лягушка не выявлена в выборках D13, D14, B16, где данная гибридная форма поликлональна (табл. 1). Однако это не может служить надежным доказательством отсутствия особей прудовой лягушки в соответствующих популяциях. Этот вид, как известно, способен к сезонным миграциям порой на большие дистанции и поэтому не всегда может быть выявлен в водоемах, где успешно размножается [32].

Межбассейновая дифференциация гибридной формы Pelophylax esculentus-ridibundus. Сравнение данных по поликлональной структуре гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* в пределах изученного региона показывает, что частота ее полуклонов из бассейна Тисы, выявленных также в бассейнах I–III, составляет всего 0,12 [21]. Таким образом, несомненно независимое происхождение гибридной формы из бассейна Тисы и из бассейнов рек, проанализированных в настоящей работе. Сравнительный анализ генетической изменчивости гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* для трех изученных бассейнов дает не столь простую картину. При практически полной идентичности этой гибридной формы из двух бассейнов (Днестра и Южного Буга) гибридная форма из бассейна Припяти имеет в целом обедненную генетическую структуру. При этом в северной части бассейна Припяти (P1–P7) расположены преимущественно популяции с минимальным уровнем генетической изменчивости (среднее значение $H_{hem} = 0,21$). При этом лишь в 3 из 7 этих популяций обнаружены особи озерной лягушки. Популяции из южной части бассейна Припяти (P8–P10) имеют более высокий средний уровень полуклональной гетерозиготности ($H_{hem} = 0,51$, $P > 0,99$). Особи озерной лягушки обнаружены во всех этих популяциях (табл. 1). При этом средняя частота особей озерной лягушки в группах выборок P1–P7 и P8–P10 практически одинакова (0,33–0,34). Поэтому мож-

но предположить, что массовая гибридизация озерной и прудовой лягушек может успешно реализоваться даже при наличии немногочисленных особей озерной лягушки.

Выводы. Гибридная форма *P. esculentus-ridibundus* из популяций бассейнов рек Припять, Днестр и Южный Буг в целом имеет поликлональную структуру. Часть популяций этой гибридной формы из бассейна Припяти являются моноклональными. При этом географическое распространение таких популяций является мозаичным. Уровень внутривидовой изменчивости гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* в популяциях изученного региона изменяется в широких пределах. Континуум такой изменчивости является практически непрерывным, за исключением моноклональных популяций. Гибридная форма из бассейна Припяти имеет в целом обедненную полуклональную структуру. В двух других бассейнах *P. esculentus-ridibundus* генетически идентична. Отсутствие массовых полуклонов, имеющих локальное распространение, позволяет полагать общее происхождение гибридной формы во всех трех изученных бассейнах. При этом гибридная форма *P. esculentus-ridibundus* из бассейна Тисы произошла независимо от гибридной формы из бассейнов Припяти, Днестра и Южного Буга.

Таким образом, генетическая структура гибридной формы *P. esculentus-ridibundus* из популяций бассейнов Припяти, Днестра и Южного Буга может быть охарактеризована как смесь моноклональных и поликлональных популяций. При этом популяции гибридной формы, где повторная гибридизация родительских видов не происходит, имеют тенденцию к деградации исходной поликлональной структуры вплоть до утраты исходной поликлональности и перехода в моноклональное состояние.

Автор искренне признателен коллегам — доктору биологических наук, профессору С.В. Межжерину, к.б.н. О.Д. Некрасовой, к.б.н. Л.И. Разводовской, к.б.н. О.В. Ростовской за неоценимую помощь в сборе первичного материала, его лабораторной обработке, интерпретации полученных данных и подготовке рукописи данной статьи.

HEMICLONE DIVERSITY IN THE HYBRID FORM *PELOPHYLAX ESCULENTUS-RIDIBUNDUS* (AMPHIBIA, RANIDAE) FROM THE PRYPYAT, DNESTR AND SOUTHERN BOUG RIVERS BASINS

S. Yu. Morozov-Leonov

I.I. Schmalhausen Institute of Zoology,
15, B. Khmelnytskoho str., Kyiv-30, 01601 Ukraine
E-mail: morleone2000@yahoo.com

The hemiclone structure of the *Pelophylax esculentus-ridibundus* hybrid form from the Pripyat, Dniester and Southern Boug rivers basins is analyzed. The inter-basin and inter-population differences in the inherited genome variation level are demonstrated. The genetic diversity level of the *P. esculentus-ridibundus* inherited genome in the Pripyat basin is significantly lower than in the other two basins. In this case only in the Pripyat basin monoclone populations of this hybrid form have been identified. There were no significant differences in the genetic variability level of this hybrid form between the populations of the Dniester and Southern Boug basins. The relationship between the variability level of the inherited genome of the hybrid form and the potentially possible multiple hybridization of parental species is analyzed.

НАПІВКЛОНАЛЬНА МІНЛИВІСТЬ ГІБРИДНОЇ ФОРМИ *PELOPHYLAX ESCULENTUS-RIDIBUNDUS* (AMPHIBIA, RANIDAE) ІЗ БАСЕЙНІВ РІЧОК ПРИП'ЯТЬ, ДНІСТЕР ТА ПІВДЕННИЙ БУГ

С.Ю. Морозов-Леонов

Проаналізовано напівклональну структуру гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* басейнів річок Прип'ять, Дністер та Південний Буг. Продемонстровано міжбасейнові та міжпопуляційні відмінності рівня мінливості геному, що успадковується. Рівень генетичного різноманіття геному, що успадковується, *P. esculentus-ridibundus* у басейні Прип'яті достовірно нижчий, ніж в інших двох басейнах. При цьому тільки у басейні Прип'яті виявлено моноклональні популяції даної гібридної форми. Достовірних відмінностей рівня генетичної мінливості даної гібридної форми між популяціями басейнів Дністра та Південного Бугу не виявлено. Проаналізовано зв'язок між рівнем мінливості геному, що успадковується, гібридної форми та потенційною можливістю повторної гібридизації батьківських видів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Gutekunst, J., Andriantsoa, R., Falckenhayn, C., Hanna, K., Stein, W., Rasamy, J. and Lyko, F. Clonal

- genome evolution and rapid invasive spread of the marbled crayfish, *Nat. Ecol. Evol.*, 2018, vol. 2, pp. 567–73. doi: 10.1038/s41559-018-0467-9.
2. Haileselassie, T.H., Mergeay, J., Weider, L.J., Sommaruga, R., Davidson, T.A., Meerhoff, M., Arndt, H., Jürgens, K., Jeppesen, E., and De Meester, L., Environment not dispersal limitation drives clonal composition of Arctic *Daphnia* in a recently deglaciated area, *Mol. Ecol.*, 2016, vol. 25, no. 23, pp. 5830–42. doi: 10.1111/mec.13843.
 3. Hasegawa, E., Watanabe, S., Murakami, Y., and Ito, F., Adaptive phenotypic variation among clonal ant workers, *Royal Society Open Science*, 2018, vol. 5, no. 2, pp. 170816–37. doi: 10.1098/rsos.170816.
 4. Käch, H., Mathé-Hubert, H., Dennis, A.B., and Vorburger, C., Rapid evolution of symbiont-mediated resistance compromises biological control of aphids by parasitoids, *Evol. Appl.*, 2018, vol. 11, no. 2, pp. 220–30. doi: 10.1111/eva.12532.
 5. Elzinga, J.A., Jokela, J., and Shama, L.N.S., Large variation in mitochondrial DNA of sexual and parthenogenetic *Dahlica triquetrella* (Lepidoptera: Psychidae) shows multiple origins of parthenogenesis, *BMC Evol. Biol.*, 2013, no. 13, pp. 90–8. doi: 10.1186/1471-2148-13-90.
 6. Bonandin, L., Scavariello, C., Mingazzini, V., Luchetti, A., and Mantovani, B., Obligatory parthenogenesis and TE load: *Bacillus* stick insects and the R2 non-LTR retrotransposon, *Insect Science*, 2017, vol. 24, no. 3, pp. 409–17. doi: 10.1111/1744-7917.
 7. Dagan, Y., Kosman, E., and Ben-Ami, F., Cost of resistance to trematodes in freshwater snail populations with low clonal diversity, *BMC Ecol.*, 2017, no. 17, pp. 40–7. doi: 10.1186/s12898-017-0152-x.
 8. Gibson, A.K., Delph, L.F., and Lively, C.M., The two-fold cost of sex: Experimental evidence from a natural system, *Evol. Letters*, 2017, vol. 1, no. 1, pp. 6–15. doi: 10.1002/evl3.1.
 9. Cole, C.J., Taylor, H.L., Neaves, W.B., Baumann, D.P., Newton, A., Schnittker, R., and Baumann, P., The second known tetraploid species of parthenogenetic tetrapod (Reptilia: Squamata: Teiidae): description, reproduction, comparisons with ancestral taxa, and origins of multiple clones, *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 2017, vol. 161, no. 8, pp. 285–321. doi: 10.3099/MCZ37.1.
 10. Manríquez-Morán, N.L., Cruz, F.R., and Murphy, R.W., Genetic variation and origin of parthenogenesis in the *Aspidoscelis cozumela* complex: evidence from mitochondrial genes, *Zool. Sci.*, 2014, vol. 31, no. 1, pp. 14–9. doi: 10.2108/zsj.31.14.
 11. Vergun, A.A., Martirosyan, I.A., Semyenova, S.K., Omelchenko, A.V., Petrosyan, V.G., Lazebny, O.E., Tokarskaya, O.N., Korchagin, V.I., and Ryskov, A.P., Clonal diversity and clone formation in the parthenogenetic Caucasian rock lizard *Darevskia dahli*, *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 3, e91674. doi: 10.1371/journal.pone.0091674.
 12. Ryskov, A.P., Osipov, F.A., Omelchenko, A.V., Semyenova, S.K., Girnyk, A.E., Korchagin, V.I., Vergun, A.A., and Murphy, R.W., The origin of multiple clones in the parthenogenetic lizard species *Darevskia rostombekowi*, *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 9, e0185161. doi: 10.1371/journal.pone.0185161.
 13. Morgado-Santos, M., Carona, S., Vicente, L., and Collares-Pereira, M.J., First empirical evidence of naturally occurring androgenesis in vertebrates, *Royal Society open science*, 2017, no. 4, pp. 170200–7. doi: 10.1098/rsos.170200.
 14. Zhang, J., Sun, M., Zhou, L., Li, Z., Liu, Z., Li, X.Y., Liu, X.L., Liu, W., and Gui, J.F., Meiosis completion and various sperm responses lead to unisexual and sexual reproduction modes in one clone of polyploid *Carassius gibelio*, *Scientific Reports*, 2015, no. 5, pp. 10898. doi: 10.1038/srep10898.
 15. Warren, W.C., García-Pérez, R., Xu, S., Lampert, K.P., Chalopin, D., Stöck, M., Loewe, L., Lu, Y., Kuderna, L., Minx, P., Montague, M. J., Tomlinson, C., Hillier, L.W., Murphy, D.N., Wang, J., Wang, Z., Garcia, C.M., Thomas, G.C.W., Volff, J.N., Farias, F., Aken, B., Walter, R.B., Pruitt, K.D., Marques-Bonet, T., Hahn, M.W., Kneitz, S., Lynch, M., and Schartl, M., Clonal polymorphism and high heterozygosity in the celibate genome of the Amazon molly, *Nature ecology and evolution*, 2018, vol. 2, no. 4, pp. 669–79. doi: 10.1038/s41559-018-0473-y.
 16. Egan, A.N., Vatanparast, M. and Cagle, W. Parsing polyphyletic *Pueraria*: Delimiting distinct evolutionary lineages through phylogeny, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2016, no 104, pp. 44-59. doi: 10.1016/j.ympev.2016.08.001.
 17. Pagano, A., Lesbarreres, D., Crivelli, A., Veith, M., Lode, T., and Schmeller, D.S., Geographical and ecological distributions of frog hemiclones suggest occurrence of both «General Purpose Genotype» and «Frozen Niche Variation» clones, *Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 2008, vol. 46, no. 2, pp. 162–8. doi: 10.1111/j.1439-0469.2007.00439.x.
 18. Hotz, H., Guex, G.-D., Beerli, P., Semlitsch, R.D., and Pruvost, N B.M., Hemiclone diversity in the hybridogenetic frog *Rana esculenta* outside the area of clone formation: the view from protein electrophoresis, *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research*, 2008, vol. 46, no. 1, pp. 56–62. doi: 10.1111/j.1439-0469.2007.00430.x.
 19. Vorburger, Ch. Non-hybrid offspring from matings between hemiclinal hybrid waterfrogs suggest occasional recombination between clonal genomes,

- Ecology Letters*, 2001, no. 4, pp. 628–36. doi: 10.1046/j.1461-0248.2001.00272.x.
20. Vorburger, Ch. Fixation of deleterious mutations in clonal lineages: evidence from hybridogenetic frogs, *Evolution*, 2001, vol. 55, no. 11, pp. 2319–32. doi: 10.1111/j.0014-3820.2001.tb00745.x.
 21. Morozov-Leonov, S.Yu., Hemiclone diversity in the hybrid form *Pelophylax esculentus-ridibundus* (Amphibia, Ranidae) from the Tisa river drainage, *Cytology and genetics*, 2017, vol. 51, no. 6, pp. 69–77. (In Russian). doi: 10.3103/S0095452717060093.
 22. Mezhzherin, S.V., Peskov, V.N., Biochemical variability and genetic differentiation of the marsh frog *Rana ridibunda* Pall. populations, *Cytology and genetics*, 1992, vol. 26, no. 1, pp. 43–8 (In Russian).
 23. Parker, E.D., Ecological implications of clonal diversity in parthenogenetic morphospecies, *American Zoologist*, 1979, no. 19, pp. 753–62.
 24. Nei, M., Roychoudhury, A.K., Sampling variances of heterozygosity and genetic distance, *Genetics*, 1974, vol. 76, no. 2, pp. 379–90.
 25. Dorken, M.E., Eckert, C.G. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae), *J. Ecol.*, 2001, no. 89, pp. 339–50. doi: 10.1046/j.1365-2745.2001.00558.x.
 26. Quattro, J.M., Avise, J.C., and Vrijenhoek, R.C., Mode of origin and sources of genotypic diversity in triploid gynogenetic fish clones (*Poeciliopsis*: Poeciliidae), *Genetics*, 1992, no. 130, pp. 621–8.
 27. Nibouche, S., Fartek, B., Mississipi, S., Delatte, H., Reynaud, B., and Costet, L., Low genetic diversity in *Melanaphis sacchari* aphid populations at the worldwide scale, *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 8, e106067. doi: 10.1371/journal.pone.0106067.
 28. Wang, X.Y., Yang, X.M., Lu, B., Zhou, L.H., and Wu, K.M., Genetic variation and phylogeographic structure of the cotton aphid, *Aphis gossypii*, based on mitochondrial DNA and microsatellite markers, *Scientific Reports*, 2017, no. 7, pp. 1920–93. doi: 10.1038/s41598-017-02105-4.
 29. Zhao, C., Yang, X.M., Tang, S.H., Xu, P.J., Bian, W.J., Wang, X.F., Wang, X.W., and Ren, G.W., Population genetic structure of *Myzus persicae nicotianae* (Hemiptera: Aphididae) in China by microsatellite analysis, *Genetics and Molecular Research*, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 17159–69. doi: 10.4238/2015.
 30. Fisher, R.A., *The genetical theory of natural Selection*. Oxford: Clarendon Press, 1930.
 31. Morozov-Leonov, S.Yu., Mezhzherin, S.V., Nekrasova, O.D., Kurtyak, F.F., Shabanov, D.A., and Korshunov, A.V., Inheritance of parental genomes by a hybrid form *Rana «esculenta»* (Amphibia, Ranidae), *Rus. J. Genet.*, 2009, vol. 45, no. 4, pp. 488–95 (In Russian). doi: 10.1134/S1022795409040061.
 32. Eiler, A., Löfgren, A., Hjerne, O., Nordén, S., and Saetre, P., Environmental DNA (eDNA) detects the pool frog (*Pelophylax lessonae*) at times when traditional monitoring methods are insensitive, *Scientific Reports*, 2018, no. 8, pp. 5452–60. doi: 10.1038/s41598-018-23740-5.

Поступила 16.04.18