

**ЯК ОЦІНИТИ ПОПУЛЯЦІЙНИЙ ВАНТАЖ,
ЩО ПОВ'ЯЗАНИЙ З ГЕМІКЛОНАЛЬНОЮ
ГІБРИДИЗАЦІЄЮ В ПОПУЛЯЦІЙНИХ СИСТЕМАХ
PELOPHYLAX ESCULENTUS COMPLEX?**

Михайлова О.В., Усова О.Є., Шабанов Д.А.

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

Їстівні жаби, *Pelophylax esculentus* є геміклональними міжвидовими гібридами. У порівнянні з представниками батьківських видів їх відтворення стикається з низкою складнощів: порушеннями розвитку гонад, виробництвом анеуплоїдних і нежиттєздатних гамет, аномаліями личинкового розвитку і т.д. Дані, необхідні для оцінки популяційного вантажу геміклональності, наразі є фрагментарними. Показано, що серед пуголовків у змішаних популяціях часто зустрічаються мозаїчні особини з анеуплоїдними клітинами. Диплоїдні самки гібридних особин відрізняються від самок батьківського виду (*Pelophylax ridibundus*) дещо вищою швидкістю росту і меншою тривалістю життя.

Ключові слова: *Pelophylax esculentus*, їстівні жаби, Сіверсько-Донецький центр різноманіття зелених жаб, гібридизація, мозаїчність, анеуплоїдія, геміклональні популяційні системи, життєздатність.

How to assess the population load, related with hemiclinal hybridization in *Pelophylax esculentus* complex population systems? Mykhailova O. V., Usova O. E., Shabanov D. A. — Water frogs, *Pelophylax esculentus*, are hemiclinal interspecific hybrids. As compared to individuals of parental species their reproduction faces difficulties: gonad development abnormalities, production of aneuploid and unlivable gametes, larval development abnormalities, etc. To date the data, which are necessary to assess the population load of hemiclinality, are fragmentary. It is revealed, that mosaic individuals with aneuploid cells often occur among tadpoles in mixed populations. Diploid hybrid females differ from parental species female (*P. ridibundus*) with their higher growth rate, but shorter lifetime.

Key words: *Pelophylax esculentus*, edible frogs, Seversko-Donetsky center of diversity of green frogs, hybridization, mosaicism, aneuploids, hemiclinal inheritance, hemiclinal population systems, survival.

ВСТУП

Гібридогенний комплекс зелених жаб (*Pelophylax esculentus* complex) є моделлю для вивчення геміклонального спадкування. До цього комплексу входять два батьківських види: *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882), ставкові жаби, і *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), озерні жаби. При схрещуванні ці види утворюють напівклональні

гібриди, що відомі під ім'ям *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758), їстівних жаб. У типовому випадку у *P. esculentus* в гамети переходить лише один з батьківських геномів (хромосомних наборів), який передається з покоління у покоління без рекомбінації [9]. Вивчення міжвидової гібридизації та геміклонального спадкування є міждисциплінарною проблемою, розв'язання якої вимагає застосування комплексу різноманітних методів [6].

Особливий інтерес викликає знайдений у Східній Україні Сіверсько-Донецький центр різноманіття зелених жаб [5]. У геміклональних популяційних системах (ГПС) зелених жаб цього центру спільно мешкають представники одного з батьківських видів (*P. ridibundus*), а також диплоїдні і триплоїдні представники *P. esculentus*. Другий батьківський вид, *P. lessonae*, у даному центрі відсутній. Усі геноми *P. lessonae* у складі генотипів *P. esculentus* передаються в цьому центрі клонально. Залишається невивченим те, як такий незвичайний спосіб популяційного відтворення впливає на життєздатність ГПС жаб.

Таким чином, метою даної роботи є розгляд методів, що дозволяють визначити, наскільки особливості геміклонального спадкування зменшують ефективність популяційного відтворення в ГПС *P. esculentus* complex.

Основна частина. Геміклональне спадкування у міжвидових гібридів є наслідком характерної аномалії їх гаметогенезу [9]. У батьківських видів зелених жаб, як і в інших видів, схрещування яких породжує геміклональні гібриди, спостерігається певний рівень міжвидової диференціації. У таких гібридів цілком нормально проходить мітоз, гібридні особини мають життєздатність, що близька до нормальної (і іноді перевершує її завдяки гетерозису). Тим не менше, відмінності батьківських геномів є такими, що порушують мейоз у міжвидових гібридів. Однак геміклональні міжвидові гібриди виявляються здатними до розмноження. Найпоширеніший механізм, що його забезпечує, наступний. При розмноженні клітин зародкової лінії в них відбувається елімінація одного з батьківських геномів. Геном іншого виду подвоюється, і в мейозі відбувається поділ клітин, що мають два однакових геноми. Внаслідок цього гамети, що утворюються, несуть однакові геноми, що належать до одного з батьківських видів — клональні геноми.

Аналогічно може відбуватися і гаметогенез триплоїдних гібридів, за тим винятком, що для них стає необов'язковим подвоєння клональних геномів.

Геміклональне спадкування може впливати на різні етапи популяційного відтворення жаб по-різному. Для вивчення цього впливу необхідно визначити, яким чином і на яких етапах воно може проявлятися. Виділяють наступні етапи онтогенезу жаб:

I. Утворення гонад і заселення їх клітинами зародкової лінії.

II. Гаметогенез.

III. Утворення пар і нерест.

IV. Розвиток ікри.

V. Личинковий розвиток та метаморфоз.

VI. Постметаморфний пререпродуктивний період.

VII. Репродуктивний період.

Розглянемо ці етапи детальніше.

I (утворення гонад). У багатьох джерелах зазначено, що утворення гонад у *P. esculentus* стикається зі складнощами [7, 9]. Неодноразово реєструвалося, що гібридні жаби мають дрібні, асиметричні та морфологічно аномальні гонади. Особливо ці ефекти є характерними для гібридів F1, що утворюються при схрещуванні батьківських видів.

Особливості розвитку гонад у жаб з Сіверсько-Донецького центру різноманіття до цього часу систематично не вивчалися.

II (гаметогенез). Особливості гаметогенезу у гібридних зелених жаб з Сіверсько-Донецького центру різноманіття вивчалися різноманітними методами. Для досліджень гаметогенезу самців різними авторами було застосовано каріоаналіз шляхом вивчення ізольованих метафазних платівок [1] та каріоаналіз у роздавлених препаратах [3]. Розпочато дослідження гаметогенезу самок шляхом вивчення хромосом типу лампових щіток [8].

На цей час отримані результати носять якісний, а не кількісний характер. Втім, можна стверджувати, що у багатьох клітинних лініях гібридів гаметогенез порушується. Наслідком таких порушень є утворення значної кількості анеуплоїдних гамет.

У деяких випадках кладки ікри складаються з різних за розмірами ікринок [7]. Вірогідно, ці ікринки мають різну плідність.

III (нерест). За літературними даними [7] та власними спостереженнями авторів, самці гібридних жаб під час нересту поведуться більш агресивно, ніж самці *P. ridibundus*. Це може призводити до того, що вони запліднюють відносно більшу кількість кладок ікри під час нересту.

Надійні дані щодо відносної плодючості самиць *P. ridibundus* і *P. esculentus* (в усякому разі — для Сіверсько-Донецького центру різноманіття зелених жаб) до цього часу відсутні.

IV (розвиток ікри). За літературними даними [7] та власними спостереженнями авторів у деяких кладок з природних місцеперебувань відбувається розвиток лише частини ікринок. Невідомо, що є причиною цього феномену — низька якість сперматозоїдів самця, нежиттєздатність ікринок або невідповідність геномів ікринок та сперматозоїдів.

V (личинковий розвиток). Відомо, що на личинковий етап розвитку безхвостих амфібій припадає значна частина їх загальної смертності. Вірогідно, деякі з аномалій, які пов'язані з геміклональним спадкуванням у гібридних жаб, можуть виявлятися на стадії пуголовків та внаслідок дії природного добору бути відсутніми на подальших стадіях.

У липні 2011 р. ми зібрали у заплаві Сіверського Донця в околицях біостанції Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна (с. Гайдари Зміївського району Харківської області) 15 пуголовків зелених жаб. Ці пуголовки були зібрані з місць спільного нересту *P. ridibundus* і *P. esculentus*. Ми вивчили соматичні тканини (ділянки хвостового плавця) цих пуголовків за допомогою каріоаналізу у роздавлених препаратах за методикою В.В. Клименка [3].

Серед 15 досліджених тварин триплоїдів не знайдено, але 3 особини виявилися хромосомними мозаїками (рис. 1): в їх тканинах знаходилися як диплоїдні (26 хромосом), так і анеуплоїдні клітини (від 22 до 36 хромосом). Цей результат свідчить про значно вищу мінливість хромосомних наборів у тканинах пуголовків, ніж у дорослих особин.



Рис. 1. Хромосомні набори різних клітин одного пуголовка.

А. Метафаза; диплоїдний набір хромосом (26).

Б. Метафаза; анеуплоїдний набір хромосом (36). В. Анафаза; анеуплоїдний набір дочірніх хромосом у двох дочірніх ядрах (44)

VI (пререпродуктивний період). Дані про склад генотипів жаб різного віку з Сіверсько-Донецького центру різноманіття, що були накопичені за останні роки, вказують, що під час постметаморфного пререпродуктивного розвитку відбувається відсів певних форм [3]. Так, серед цьогогорічок (жаб після метаморфозу, що зібрані до першої зимиwлі) були знайдені тетраплоїдні *P. esculentus*, а також *P. lessonae*. У старших вікових класах такі жаби не знайдені. Відсів таких форм також свідчить про наявність популяційного вантажу, який є наслідком геміклональної гібридизації.

VII (репродуктивний період). Для порівняння життєздатності геміклональних гібридів та особин батьківських видів можна застосувати дані скелетохронологічного визначення віку жаб [3]. Розглянемо (рис.2; рис. 3) дані щодо віку та розміру 95 статевонезрілих самок з Сіверсько-Донецького центру різноманіття (41 *P. esculentus* та 54 *P. ridibundus*).

Як можна побачити на рис. 2, серед особин віком до 5 років переважають *P. esculentus*, а серед старших, ніж 5 років — *P. ridibundus*. За критерієм χ^2 Пірсона ця різниця є значущою ($p=0,035$).

Як видно на рис. 3, дві порівнювані групи жаб дуже подібні за темпами росту, але самки *P. esculentus* ростуть дещо швидше, ніж самки *P. ridibundus*. Якщо кількість ікринок, що продукує самка, пов'язана з її розмірами, цей ефект може дещо нівелювати меншу тривалість життя гібридних особин.

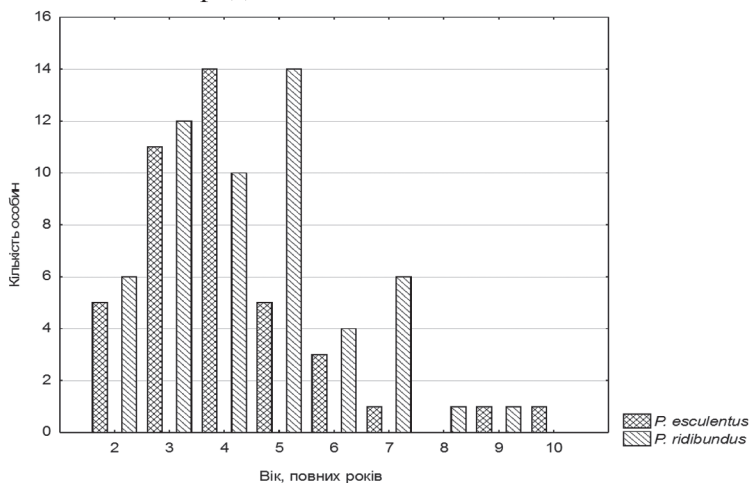


Рис. 2. Розподіл за віком у самок серед диплоїдних гібридів (*P. esculentus*) та представників батьківського виду (*P. ridibundus*)

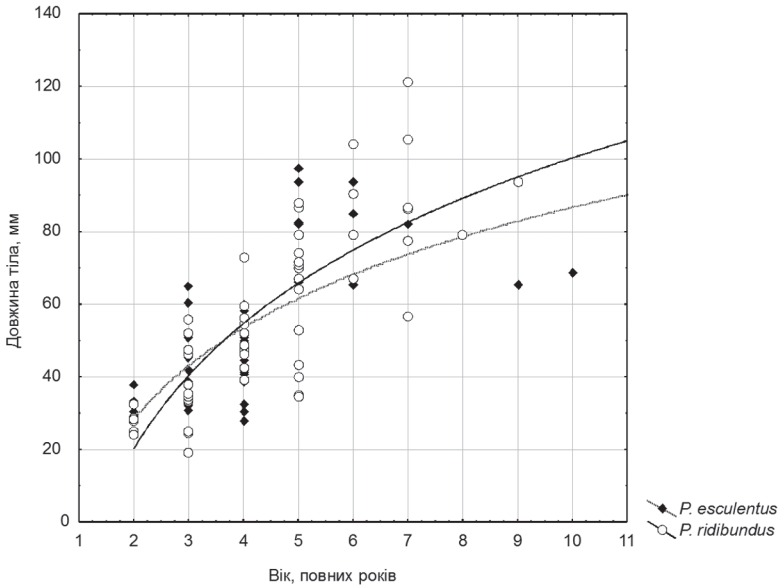


Рис. 3. Залежність розміру від віку у самок диплоїдних гібридів (*P. esculentus*) та представників батьківського виду (*P. ridibundus*)

ВИСНОВКИ

Популяційний вантаж геміклональності може проявлятися на різних етапах онтогенезу жаб. Його коректна кількісна оцінка потребує цілого комплексу досліджень. Втім, навіть сучасні, значною мірою фрагментарні дані дають змогу стверджувати, що на усіх розглянутих етапах (крім нересту, на якому певну перевагу можуть мати гібридні самці) наслідком міжвидової гібридизації та геміклонального спадкування є додаткова смертність гібридних особин та їх потомства.

Література

1. Манило В. В. Исследование кариотипа съедобной лягушки (*Rana kl. esculenta*) из Харьковской области Украины / Манило В. В. Радченко В. И., Коршунов А. В. // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. — 2007. — Вип. 21. — С. 68—73.
2. Михайлова О. В. Мозаичність соматических тканей у головастиков представителей *Pelophylax esculentus* complex из окрестностей биостанции ХНУ / Михайлова О. В. // “Біологія: від молекули до біосфери”. Матеріали VI Міжнародної конференції молодих науковців. — Харьков, 2011. — с. 252-253.

3. Михайлова О. В. Изучение сперматогенеза у диплоидных *Pelophylax esculentus* (Amphibia, Anura) при помощи кариоанализа в раздавленных препаратах / Михайлова О. В., Кечеджи А. Е., Шабанов Д. А. // Праці Українського герпетологічного товариства. — 2001. — № 3. — С. 120–127.

4. Усова Е. Е. Определение естественной смертности половозрелых зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex; Amphibia, Ranidae) с использованием скелетохронологии / Усова Е. Е. // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. — 2010. — Вип.12 (№920). — С. 104–110.

5. Шабанов Д. А. Якi ж зелені жаби населяють Харківську область? Термінологічний і номенклатурний аспекти проблеми / Шабанов Д. А., Коршунов О. В., Кравченко М. О. // Біологія та валеологія. — Вип. 11. — Харків: ХДПУ, 2009. — С. 164–125.

6. Шабанов Д.А. Зеленые лягушки: жизнь без правил или особый способ эволюции? / Шабанов Д.А., Литвинчук С.Н. // Природа. — 2001. — №3. — С. 29–36.

7. Berger L. European green frogs and their protection. Poznan: Fundacja Biblioteka Ekologiczna, / Berger L./ — 2008. — 72 P.

8. Cytological maps of lampbrush chromosomes of European water frogs / [Dedukh D., Masepa G., Shabanov D., et all.] // 18th International Chromosome Conference, 2011, Manchester, UK. Speaker abstracts. — P. 48–49.

9. Plötner J. Die Westpaläarktischen Wasserfrösche. / Plötner J. — Bielefeld, 2005. — 160 S.

Как оценить популяционный груз, связанный з гемиклональной гибридизацией в популяционных системах *Pelophylax esculentus* complex? Михайлова О. В., Усова Е. Е., Шабанов Д. А. — Съедобные лягушки, *Pelophylax esculentus*, являются гемиклональными межвидовыми гибридами. В сравнении с представителями родительских видов их воспроизводство сталкивается с рядом сложностей: нарушениями развития гонад, производством анеуплоидных и нежизнеспособных гамет, аномалиями личиночного развития и т.д. Данные, необходимые для оценки популяционного груза гемиклональности, в настоящее время фрагментарны. Показано, что среди головастиков в смешанных популяциях часто встречаются мозаичные особи с анеуплоидными клетками. Диплоидные самки гибридных особей отличаются от самок родительского вида (*P. ridibundus*) несколько более высокой скоростью роста и меньшей продолжительностью жизни.

Ключевые слова: *Pelophylax esculentus*, съедобные лягушки, Северско-Донецкий центр разнообразия зеленых лягушек, гибридизация, мозаичность, анеуплоиды, гемиклональные популяционные системы, жизнеспособность.