УДК: 597.822(515)

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ИЗМЕНЧИВОСТИ *NANORANA PARKERI* (AMPHIBIA, DICROGLOSSIDAE) ИЗ ТИБЕТА

Е. М. Писанец¹, А. М. Писанец²

¹ Национальный научно-природоведческий музей НАН Украины, Украина, Киев, 01030, ул. Б. Хмельницкого 15, e-mail zoomus@museumkiev.org ² Мелитопольский педагогический университет, Мелитополь, 72312, ул. Ленина, 20, e-mail pma seminis@mail.ru

Предварительные материалы по изменчивости Nanorana parkeri (Amphibia, Dicroglossidae) из Тибета. Писанец Е. М., Писанец А. М. – Приведены материалы по морфологии и кариологии высокогорной или тибетской лягушки, Nanorana parkeri (Stejneger, 1927) с территории Тибета (КНР). Особенности внешней морфологии Nanorana parkeri из проанализированных выборок в общем соответствуют известным характеристикам этих земноводных в других участках ареала. Хромосомный набор представлен 26 двуплечими хромосомами (2n = 26), 5 пар крупных и 8 пар мелких хромосом, 6-я пара хромосом характеризуется присутствием вторичной перетяжки только на одном из гомологов. Специфика строения кариотипа, и в первую очередь, гетероморфность 6-й пары хромосом, позволяет предполагать отличия в кариотипах амфибий этого вида в разных участках ареала и указывает на перспективность исследований в этом направлении.

Ключевые слова: амфибии, хромосомы, систематика, Тибет, лягушки.

The Preliminary Data of *Nanorana parkeri* Variability from Tibet, China (Amphibia, Dicroglossidae). Pisanets E. M., Pisanets A. M. – The morphology and karyology of Xizang plateau frog, *Nanorana parkeri* (Stejneger, 1927) from Tibet, China were studied. The morphological affinity of these frogs and *Nanorana parkeri* from the other parts of area was found. One specimen (male) studied have a karyotype of 2n = 26, with five larger and eight smaller chromosome pairs. The 6th pair has a secondary constriction only in one of homologous. This karyotype peculiarity suggest the karyotype differs in the frogs from the different parts of the area. The heteromorphy of 6-th pair chromosomes pointed out on the perspective of this kind of investigation.

Key words: amphibia, chromosome, systematics, Tibet, frog.

Летом 2005 г. во время экспедиционных работ в Тибете (Китай), были обнаружены две популяции высокогорной или тибетской лягушки (английское название: Xizang plateau frog) – *Nanorana parkeri* (Stejneger, 1927). Таксономический статус этих амфибий в последнее время часто становился предметом дискуссий (Scott, 2005; Ohler, Dubois, 2006 и др.), сведения же по изменчивости и распространению продолжают оставаться ограниченными, что и послужило причиной проведения исследования кариотипа и внешней морфологии животных из этого региона.

Материал и методы

Материал был собран 10.07. 2005 г. в 100—150 км к северу от г. Лхасы, столицы Тибетского автономного округа (Китайская Народная Республика), в двух точках по дороге между населенными пунктами Reting и Zhighan (рис. 1). Место сбора № 1 (9 взрослых, 1 полувзрослая, 3 личинки — рис. 2, 3) представляет собой водоем на высоте 3991 м с развитой водной растительностью, глубиной 1—1,5 м, диаметром около 50—60 м, его координаты 30° 04, 709' с. ш. и 91° 35,676' в. д. Место сбора № 2 (1 взрослая самка, 1 личинка) — небольшой придорожный ручей шириной 20—40 см и глубиной до 10—15 см (30° 00, 336' с. ш. и 91° 58,395' в. д., высота 3967 м).

При характеристике внешней морфологии были использованы следующие размерные показатели: длина тела (L.), ширина головы (Lt. c.), расстояние от глаза до конца морды (D. г.-о.), расстояние от ноздри до конца морды (D. г.-п.), ширина рыла (измерялось между внутренними



Рис. 1. Точки сбора *Nanorana parkeri* (1, 2 – номера мест сбора). Fig. 1. The localities (1, 2) of *Nanorana parkeri* studied.





Рис. 2. Биотоп *Nanorana parkeri* в Тибете. Fig. 2. The *Nanorana parkeri* biotope in Tibet.

Рис. 3. Половозрелый самец *Nanorana parkeri*. Fig. 3. The adult male of *Nanorana parkeri*.

краями у переднего края глаза) (Lt. r.), длина глаза (L. o.), дистанция от ноздри до переднего края глаза (D. n.-o.), длина бедра (F.), длина голени (T.), длина дополнительной голени (L. c. s.), длина первого пальца задней ноги (D. h.), длина четвертого пальца задней ноги (D. q.), длина внутреннего пяточного бугра (L. t. ci.) (Писанец, 2007; Писанець, 2007). Кроме этого, для анализа также были привлечены морфологические признаки (см. далее), которые использовались в исследованиях этой группы методами кладистики (Scott, 2005; Ohler, Dubois, 2006).

Хромосомные препараты приготовлены из клеток костного мозга одного самца (место сбора № 1), предварительно колхицинированного животного по стандартной методике (Макгрегор, Варли, 1986). Окраска хромосом сделана азур-эозином по Романовскому.

Результаты исследования

Данные по изменчивости размеров внешнеморфологических признаков лягушек приведены в таблице 1.

Все отловленные лягушки характеризовались окраской верхней стороны тела зелено-коричневатых или серо-зеленых тонов с нечетко выраженной спинной пятнистостью и хорошо различимыми, неправильной формы пятнами на боках тела (здесь и далее описаны признаки, использованные в исследованиях *Nanorana parkeri* с привлечением методов кладистики; Scott, 2005; Ohler, Dubois, 2006), светлая срединная полоса и шеврон отсутствуют, брюшная сторона однотонного грязно-белого цвета или же с сетчатым рисунком, пятна-

| Признаки | Место сбора № 1, самцы, п = 9 | | | | | Место сбора |
|-------------|-------------------------------|--------|--------|-----------|-------|-------------|
| | М (средняя) | Minmin | Maxmax | Std. Dev. | ±m | n = 1 |
| L | 39,0 | 32,1 | 43,4 | 3,57 | 1,189 | 32, 1 |
| lt. c. | 12,0 | 10,0 | 13,7 | 1,22 | 0,408 | 10,0 |
| D. ro. | 5,9 | 5,0 | 6,6 | 0,53 | 0,177 | 5, 1 |
| D. rn. | 3,8 | 3,0 | 4,3 | 0,51 | 0,171 | 3,1 |
| Lt. r. | 5,4 | 4,8 | 5,8 | 0,41 | 0,135 | 4,9 |
| L. o. | 4,7 | 4,1 | 5,1 | 0,33 | 0,110 | 4,4 |
| F. | 16,2 | 12,9 | 18,0 | 1,68 | 0,562 | 12,9 |
| Τ. | 15,9 | 12,3 | 17,9 | 1,83 | 0,610 | 12.3 |
| L*0,5 / F+T | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0,02 | 0,007 | 0,59 |
| L. c. s. | 10,1 | 8,1 | 11,2 | 0,98 | 0,327 | 8,1 |
| D. h. | 5,9 | 4,4 | 6,8 | 0,75 | 0,249 | 4.4 |
| D. q. | 10,3 | 7,9 | 12,1 | 1,22 | 0,408 | 7,9 |
| L. t. ci. | 1,7 | 1,3 | 2,1 | 0,24 | 0,081 | 1,7 |

Таблица. 1. Показатели изменчивости признаков внешней морфологии Nanorana parkeri Table 2. Data of variability of external morphology characters of Nanorana parkeri

полосы на верхней части конечностей не развиты; спинно-боковые складки имеются (у фиксированных экземпляров не видны), зрачок округлый, барабанные перепонки не выражены; зубы только в верхней челюсти, язык в задней части с вырезкой, его наибольшая ширина меньше, чем длина; 1-й палец на передних конечностях примерно такой же длины, как и второй, на 1-м пальце и на внутренней стороне 2-го развиты черного (или темно-коричневого) цвета брачные мозоли, наибольшей длины на передних лапах достигет 3-й палец, нижняя часть «ладони» передних конечностей гранулярная, бугор на вентролатеральной поверхности запястья имеется; внешние резонаторы у самцов отсутствуют, железы на верхней части бедра и голени не отмечены, плавательная перепонка между пальцами на задних конечностях развита хорошо и достигает почти ³/4 самого длинного пальца, тарзальной складки нет, внешний тарзальный бугор отсутствует, внутренний – имеется; внутренний пяточный бугор небольшой и почти в 2—3 раза меньше длины 5-го пальца на задних конечностях.

В обоих водоемах были обнаружены личинки (рис. 4, 5). Присутствие в них взрослых амфибий только этого вида принято как косвенное свидетельство принадлежности личинок к *Nanorana parkeri*, хотя это допущение требует дополнительной проверки.

Все личинки имели на левой стороне туловища антриовентрикулярное отверстие, направленное снизу вверх и спереди назад. Обращает на себя внимание отличие в форме и размерах туловища головастиков из первого водоема (первые три слева) по сравнению с личинкой из второго (крайняя справа). Вместе с тем все личинки характеризовались сходным строением ротового аппарата (рис. 4). Так, у всех он был представлен роговым клювом с небольшими зубцами, окруженными тремя губными рядами сверху (у всех верхний – сплошной, два снизу – прерывистых) и тремя снизу (у личинок из первого водоема все сплошные, у головастика из второго – верхний прерывистый, нижние цельные).

Анализ метафазных пластинок показал, что их хромосомный набор представлен 26 двуплечими хромосомами (2n = 26). В кариотипе представлена группа из 5 пар крупных хромосом и 8 мелких (рис. 6).

Морфологически гомологи характеризуются как метацентрики и субметацентрики (m — метацентричкая хромосома, sm — субметацентрическая хромосома). Группа крупных хромосом: 1 — m, 2 — sm, 3 — sm, 4 — sm, 5 — m; группа мелких хромосом: 6 — sm, 7 — m, 8 — sm, 9 — sm, 10 — m, 11 — sm, 12 sm, 13 — m. На одном гомологе 6-й пары имеются вторичные перетяжки



Рис. 4. Личинки из места сбора \mathbb{N} 1 (первые три слева) и \mathbb{N} 2 (последняя справа) (см. также текст). Fig. 4. Tadpoles of the locality N 1 (three of the left) and N 2 (one of the right) (see also text).

Рис. 5. Особенности строения ротового диска головастиков из места сбора № 1 (А—В) и № 2 (Г) водоемов (см. описание в тексте).

Fig. 5. The peculiarities of larvae oral morphology in tadpoles in the 1st (A–B) and 2nd localities (Γ) (see also text).



Рис. 6. Хромосомный набор *Nanorana parkeri* (стрелкой показана хромосома со вторичной перетяжкой). Fig. 7. The karyotyp of *Nanorana parkeri* (the arrows pointed out in chromosome secondary constrictions).

(отмечено на 12 из 13 проанализированных метафазных пластинок, на одной метафазной пластинке хромосомы со вторичной перетяжкой не обнаружены).

Обсуждение результатов

Наши материалы по изменчивости 13 размерных признаков позволяют получить представление об основных параметрах внешней морфологии *Nanorana parkeri* и предположить, что половой диморфизм по ним, вероятно, не выражен (для более определенных выводов необходимы дополнительные данные и, в первую очередь, по самкам).

Сравнение остальных морфологических признаков с характеристиками этого вида в работах, выполненных с привлечением методов кладистики показало, что данные по изменчивости животных из наших выборок в общем соответствует характеристикам *Nanorana parkeri* из других участков ареала (Scott, 2005; Ohler, Dubois, 2006). Стоит обратить внимание на вышеотмеченные отличия между личинками из первого и второго водоемов. Ограниченность материала позволяет сделать только предположение, что разница в размерах и в форме тела может быть связана с возрастом. Незначительные различия в строении ротового аппарата обусловлены, скорее всего, индивидуальной изменчивостью.

Нам известно только одно описание кариотипа животных этого вида (Wu, 1984; приводится по Fei et al., 2006), сделанное на животных из более южной выборки (окр. г. Лхасы), и эти данные по количеству хромосом и их морфологии не отличаются от наших. Вместе с тем использование этим автором такой же методики окраски, показало наличие вторичных перетяжек на длинных плечах обеих хромосом 6-й пары гомологов и спутничных хромосом (в 7% случаев) на коротких плечах 7-й пары.

Результаты нашего исследования указали на другие особенности кариотипа: во-первых, вторичная перетяжки была только на одном из гомологов 6-й пары хромосом и, во-вторых, спутничные участки на 7-й паре гомологов отсутствовали. Даже несмотря на использование только тотальной окраски хромосом полученные данные представляют исключительный интерес, так как они служат косвенным доказательством гетероморфности 6-й пары хромосом у этого вида (прямое подтверждение этому может быть получено при окраске азотнокислым серебром).

Особо следует отметить, что отличия в количестве ядрышковых организаторов на гомологичных хромосомах (их местанахождение обычно связывают с расположением вторичной перетяжки), представляют собой не совсем обычное явление для земноводных, хотя оно и отмечалось ранее (Schmid, 1982). Эти отличия связывают с дупликацией или с утерей ядрышковых организаторов одним из гомологов (Schmid, 1982; Silva et al., 1999), существованием половых хромосом (Schmid et al., 1983), или же с возникновением полиплоидов за счет гибридизации и отличиями во вторичных перетяжках у родительских видов (Писанец, 1990; Odierna et al., 2004).

Результаты работы дают основание для заключения, что особенности внешней морфологии *Nanorana parkeri* из проанализированных выборок в общем соответствуют характеристикам этих земноводных в других участках ареала. Вместе с тем выявленный факт специфики строения кариотипа и, в первую очередь, гетероморфность 6-й пары хромосом, позволяет предполагать отличия в кариотипах амфибий этого вида в разных участках ареала и указывает на перспективность исследований в этом направлении.

Автор выражает признательность С. Н. Литвинчуку за помощь и критические замечания при подготовке этой публикации.

Макгрегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами животных. - М.: Мир, 1986. - 268 с.

- Писанец Е. М. Амфибии Украины (справочник-определитель земноводных Украины и сопредельных территорий). К. : Зоологический музей ННПМ НАН Украины, 2007. 312 с.
- *Писанець Є. М.* Земноводні України (посібник для визначення амфібій України та суміжних територій). К.: Вид. Раєвського, 2007. 192 с.
- *Писанец Е. М.* Новые данные по кариологии Bufo viridis-complex (Amphibia, Bufonidae) и вопросы происхождения азиатских тетраплоидных жаб // Герпетол. исследования. 1991. 1. Р. 41–50.
- Fei Liang, Hu Shuqin, Ye Changyuan and Huang Yongzhao et al. General acccounts of Amphibia. Gymnophiona and Urodela (Fauna Sinica. Amphibia; vol.1). – Beijing, China: Scince Press, 2006. – P. 112–471 + 16 Pl.
- Odierna G., Aprea G., Capriglione T., Castellano S., Balletto S. Evidence for chromosome and Pst I satellite DNA family evolutionary stasis in the Bufo viridis group (Amphibia, Anura) // Chromosome Research. – 2004. – 12. – P. 671–681.
- *Ohler A., Dubois A.* Phylogenetic relationships and generic taxonomy of the tribe Paini (Amphibia, Anura, Ranidae, Dicroglossidae), with diagnoses of two genera // Zoosystema. 2006. **28** (3). P. 769–784.

- Schmid M. Chromosome Banding in Amphibia. VII. Analysis of the Structure and Variability of NORs in Anura // Chromosoma (Berl.). – 1982. – 87. – P. 327–344.
- Schmid M., Haaf T., Beatrix G., Sims S. Chromosome banding in Amphibia VIII. An unusual XY[XX-sex chromosome system in Gastrotheca riobambae (Anura, Hylidae) // Chromosoma (Berl). 1983. 88. P. 69–82.
- Scott E. A phylogeny of ranid frogs (Anura: Ranoidea: Ranidae), based on a simultaneous analysis of morphological and molecular data // Cladistics. 2005. 21. P. 507-574.
- Silva A. P. Z., Haddad C. F. B., Kasahara S. Nucleolus organizer regions in Physalaemus cuvievi (Anura, Leptodactylidae), with evidence of a unique case of Ag-NOR variability // Hereditas. 1999. 131. P. 135-141.