

С. В. Межжерин, С. Ю. Морозов-Леонов, О. В. Ростовская,
Л. Ю. Соболенко

Реконструкция реколонизации ареала вида на основе анализа географической изменчивости аллозимов *Ldh-B* прудовой лягушки *Rana esculenta* (= *lessonae*)

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины И. А. Акимовым)

Географічний аналіз мінливості алелів локусу *Ldh-B* ставкової жаби *Rana esculenta* (= *lessonae*) показав істотну генетичну диференціацію в меридіональному напрямі, обумовлену наявністю двох центрів відновлення ареалу, що відповідають західноєвропейському та південноуральському льодовиковим рефугіюмам. Найімовірніше, реколонізація являла собою потужні міграційні потоки східної форми у межі мешкання західної. Ця обставина підтверджується фактом широкої інтрогресії алеля *Ldh-B*^{Ls(64)}, характерного для східної форми, в західні популяції виду, і явно обмеженим розповсюдженням гена *Ldh-B*^{Lf(88)}, властивого західній формі, у східному напрямку. У результаті на межі Західної та Центральної України утворилась різка перехідна зона частот алелів, що чітко відповідає межах територій з різним ступенем континентальності клімату. В цілому структура *R. esculenta* (= *lessonae*) відповідає моделі двох вікарних видів з різними потенціалами до розселення і широкою однією направленою інтрогресією генів.

Западнопалеарктические зеленые лягушки, образующие гибридный комплекс прудовой (*R. esculenta* (= *lessonae*)) и озерной (*R. ridibunda*) лягушек, давно стали модельным объектом эволюционно-генетических исследований позвоночных животных. Важным аспектом этих изысканий является генетико-географический анализ. В результате были получены доказательства генетической неоднородности как одного, так и другого вида лягушек, реализовавшиеся в описание восьми новых для науки таксонов, идентифицированных в местах послеледниковых рефугиумов [1–3]. Вместе с тем вопросы структуры ареалов номинативных видов, имеющих обширное распространение, во многом остаются открытыми. Причем каждый из видов имеет свою историю расселения и, соответственно, особенности распространения. Прудовая лягушка приурочена к лесной зоне Европы, лимитирующим фактором ее продвижения на юг является отсутствие в безлесных зонах подходящих условий для зимовки. Озерная лягушка — экспансивный вид с южным ареалом, простирающимся от Западной Европы до Восточного Казахстана. В местах совместного проживания, где имеет место их гибридизация, она вытесняет прудовую лягушку, постепенно расширяя ареал на север.

Накопившиеся на сегодня данные свидетельствуют о том, что формирование ареалов этих видов сопровождалось внутривидовой гибридизацией, что привело к обширным интрогрессиям генов, свойственным различным географическим формам. Особенно актуальными являются генетико-географические исследования прудовой лягушки *R. esculenta*. В отличие от озерной лягушки, подробно исследованной на всем ее ареале [3, 4], генетическая

структура поселений *R. esculenta* в целом осталась малоизученной, так как последние филогеографические исследования этого вида [5, 6] касались южно- и западноевропейских популяций.

Универсальным генным маркером в систематике зеленых лягушек является полиморфный у обоих видов локус *Ldh-B*, аллели которого к тому же видоспецифичны. Показано [7], что у прудовых лягушек особи-носители гомозиготного генотипа $Ldh-B^{LsLs(64/64)}$, свойственного восточноевропейским популяциям, характеризуются более высокой выживаемостью и темпами созревания, чем альтернативного им генотипа $Ldh-B^{LfLf(88/88)}$, встречающегося в поселениях этого вида западноевропейского региона. Это обстоятельство придает особую значимость широкому геногеографическому исследованию, результаты которого и приведены в данной работе.

Материалом для построения геногеографической карты изменчивости частот аллелей локуса *Ldh-B* прудовой лягушки, кодирующего сердечную субъединицу фермента лактатдегидрогеназы, послужили как оригинальные данные по территории Украины, так и имеющиеся в литературе сведения [3, 7–11], касающиеся генетической структуры популяций западной, южной и северной Европы. Следует подчеркнуть, что во всех случаях оценка частот аллелей авторами проводилась не только по особям прудовой лягушки, но и по гибридам *R. esculenta* × *R. ridibunda*, большей частью являющихся аллодиплоидами. Это позволило посчитать частоты аллелей в геномах *R. esculenta* с южного предела распространения вида (Нижнего Дуная, Нижнего Днепра, Северского Донца), где были обнаружены только гибриды. Всего для исследования использованы 685 особей прудовых лягушек и 1615 гибридов. Это в общей сложности дало по Украине 2985 гаплоидных наборов, на основании которых и определялись частоты генов в конкретных поселениях лягушек.

Если в восточной и северной части ареала прудовой лягушки (в Швеции, европейской части России, а также Центральной и Восточной Украине) отмечен только один аллель $Ldh-b^{Ls(64)}$, кодирующий продукт с низкой электрофоретической подвижностью, то в западной части (в популяциях водоемов Италии, Румынии, Швейцарии, Германии, Польши) локус *Ldh-B* был полиморфен и представлен еще одним аллелем $Ldh-b^{Lf(88)}$, кодирующим продукт с высокой электрофоретической подвижностью.

Полиморфным данный локус был и в Западной Украине, в частности в популяциях равнинной части Закарпатской области, Волыни (окрестности городов Луцка и Шацка), Предкарпатья (г. Моршин), Западного Подолья (серия выборок из Тернопольской области из водоемов бассейна верхнего Днестра). Здесь частота “западного” аллеля $Ldh-B^{Lf(88)}$ в среднем составила 0,31, что отвечает уровню полиморфизма локуса в популяциях западноевропейских стран, где частота этого аллеля варьировала от 0,1 до 0,5. Однако уже на верхнем течении Южного Буга в популяциях Винницкой области его частота падает на порядок до 0,03, а восточнее в бассейне Днепра и Северского Донца он не отмечается вообще (рис. 1).

Таким образом, особенностями распространения аллелей локуса *Ldh-B* в популяциях *R. esculenta* (= *lessonae*) является, во-первых, четко выраженный меридиональный характер изменчивости, во-вторых, резкий переход от полиморфного состояния локуса к мономорфному, происходящий на границе бассейнов речных систем Западной и Центральной Украины.

Вероятнее всего, в результате одного из последних оледенений исходный ареал прудовой лягушки был разделен на два рефугиума: западноевропейский (западный) и южноуральский (восточный). Популяции в этих изолятах были разделены достаточно долго для того,

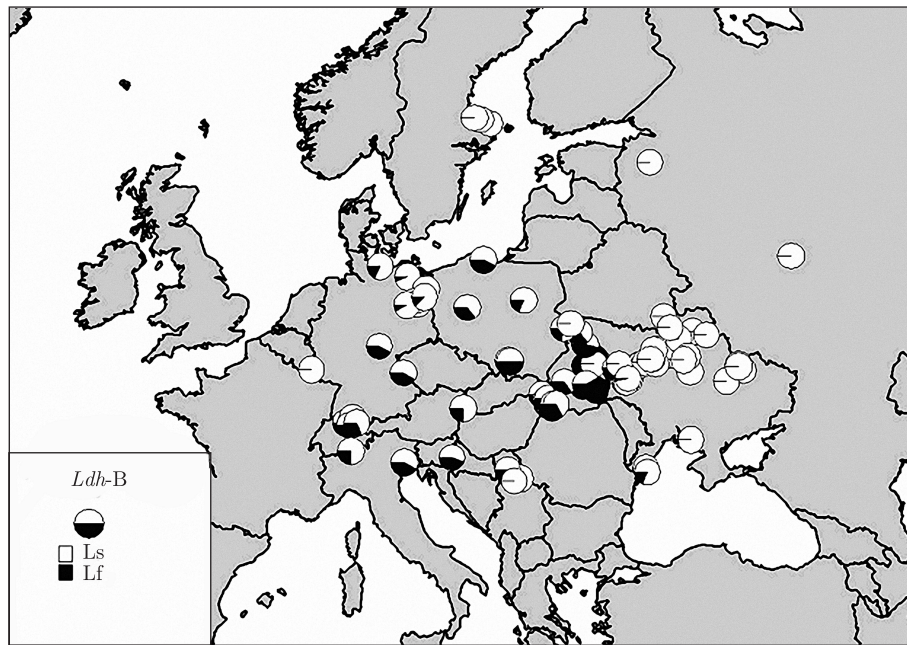


Рис. 1. Частоты аллелей локуса *Ldh-B* в популяциях *R. esculenta* (= *lessonae*)

чтобы накопить фиксированные генные различия, в частности по локусу *Ldh-B*, но недостаточно для того, чтобы прийти к репродуктивной изоляции. В результате после воссоединения ареала особи восточноевропейского очага стали активно мигрировать в западном направлении, что привело к гибридизации с лягушками западноевропейского очага и формированию полиморфных популяций, тогда как миграции особей-носителей западного гена остановились в междуречье бассейна Днестра и Южного Буга. Последнее вызывает особый интерес, поскольку остаются неясными причины столь явного ограничения “диффузии” гена *Ldh-B*, свойственного западноевропейской форме прудовой лягушки, в восточном направлении. Эти ограничения, хотя и не связаны с явными географическими преградами, оказались очень надежными, поскольку “не пускали” гены западной формы на восток на протяжении тысяч поколений. В этой связи необходимо подчеркнуть, что палеарктические западные и восточные формы, биотипы и викарные виды характеризуются разным потенциалом к расселению [12, 13], который у восточных представителей сильнее, чем у западных, что также подтверждают результаты данного исследования. Причина этого очевидна — восточноевропейские виды, адаптированные к континентальному климату, засушливому жаркому лету и холодной морозной зиме, мигрируя на запад, легко осваиваются в более мягких условиях, тогда как продвижение западных видов на восточные территории гораздо проблематичнее. И в данном случае особи восточной формы смогли не только распространиться по всему западному ареалу этого вида, но и проникнуть на север Европы, на Скандинавский полуостров (рис. 2), тогда как западные остановились на рубеже Западной и Центральной Украины. Именно в этой части территории Украины располагается изотерма средних годовых минимумом температуры, равная $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ [14], а как раз по линии фазового перехода генных частот проходит изогипса летних осадков на уровне 480 мм (рис. 3). Следует подчеркнуть, что для прудовой лягушки, ведущей полуназемный образ жизни и зимующей на суше, лимитирующими факторами распространения как раз и должны быть низкие зим-

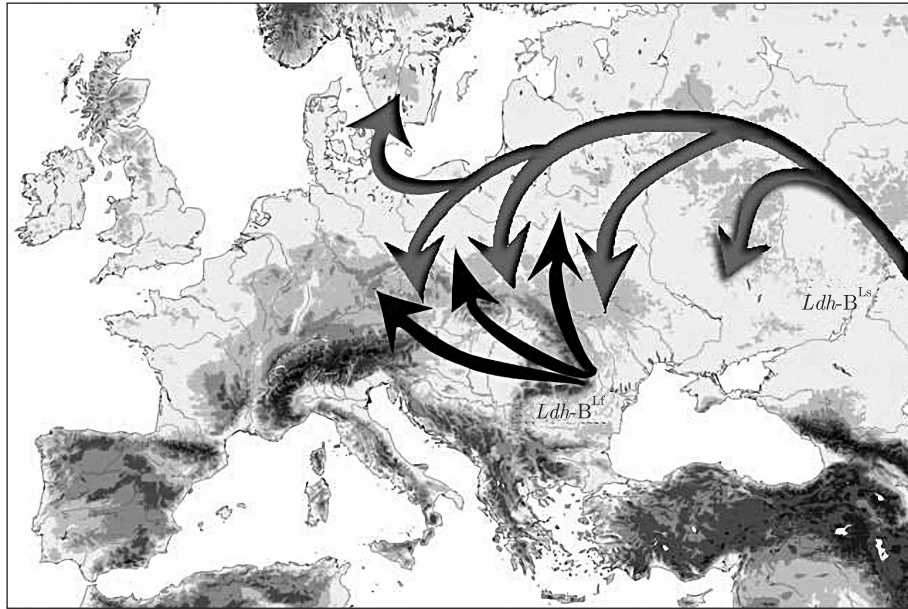


Рис. 2. Характер и направления реколонизационных путей в пределах современного ареала *R. esculenta* (= *lessonae*)

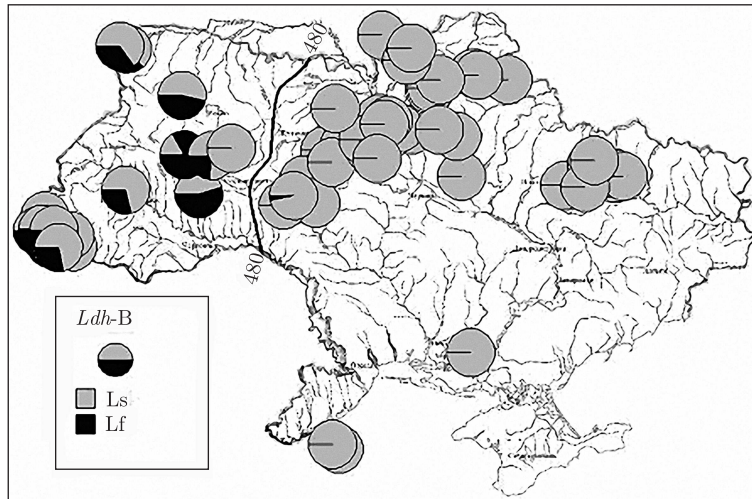


Рис. 3. Переходная зона в частотах аллелей локуса *Ldh-B* и положение изогеты летних осадков [14] в пределах Украины

ние температуры и невысокая влажность в летний период. Симптоматично, но влажность и температура часто являются факторами формирования границ ареалов видов, на жизнедеятельность которых не имеют непосредственного влияния, например на географию зон гибридизации алловидов синантропных домашних мышей в Евразии [15], которые как раз и проходят по границам, разделяющим территории с влажным океаническим климатом и сухим континентальным.

Эксперименты показали, что потомство прудовых лягушек, имеющих генотипы $Ldh-B^{LsLs(64/64)}$ восточной формы, характеризуются, по сравнению с особями

с *Ldh-B*^{Lflf(88/88)}, имеющими генотипы западной формы, повышенной жизнеспособностью и раньше проходят онтогенез [7]. Авторы работы [7] считают, что причиной феномена является не физиологическое действие конкретных продуктов этих генов, а то обстоятельство, что они маркируют определенные группы генов, которые сформировались, как сейчас очевидно, в процессе автономного существования восточной и западной форм. Если действительно восточная форма *R. esculenta* является более жизнеспособной, чем западная, то можно ожидать, что в ближайшее время даже в Западной Европе “восточные” гены, которые здесь уже встречаются чаще “западных”, постепенно вытеснят их вообще.

1. Hotz H., Uzzell T. Biochemically detected sympathy of two water frog species: two different cases in the Adriatic Balkans (Amphibia, Ranidae) // Proc. Acad. Nat. Sci. Phila. – 1982. – **134**. – P. 50–79.
2. Межжерин С. В. Новый вид зеленых лягушек *Rana terentievi* sp. nova (Amphibia, Ranidae) из Южного Таджикистана // Докл. АН Украины. – 1992. – № 5. – С. 154–157.
3. Beerli P. Genetic isolation and calibration of an average protein clock in western Palearctic water frogs of the Aegean region // Inaugural-Dissertation zur Erlangung der philosophischen Doktorwurde vorgelegt der philosophischen Fakultät II der Universität Zürich. – Zürich, 1994. – 94 p.
4. Межжерин С. В., Песков В. Н. Биохимическая изменчивость и генетическая дифференциация популяций озерной лягушки *Rana ridibunda* Pall. // Цитология и генетика. – 1992. – **26**, № 1. – С. 43–48.
5. Zeisset I., Beebe T. J. C. Two classes of north European pool frogs *Rana lessonae* identified by cytochrome b sequences analysis // Herpetol. J. – 2007. – **17**. – P. 255–260.
6. Canestrelli D., Nascetti G. Phylogeography of the pool frog *Rana* (Pelophylax) *lessonae* in the Italian peninsula and Sicily: Multiple refugia, glacial expansions and nuclear-mitochondrial discordance // J. Biogeography. – 2008. – **35**, No 10. – P. 1923–1936.
7. Hotz H., Semlitsch R. D. Differential performance among *LDH-B* genotypes in *Rana lessonae* tadpoles // Evolution. – 2000. – **54**, No 5. – P. 1750–1759.
8. Günther R., Hahnel S. Untersuchungen über den Genfluss zwischen *Rana ridibunda* und *Rana lessonae* sowie die Rekombinationsrate bei der Bastardform *Rana* “*esculenta*” (Anura, Ranidae) // Zool. Anz. – 1976. – **197**, H. 1/2. – S. 23–38.
9. Günther R., Koref-Santibanez S. Die *Ldh-B*-Isoenzyme von Wasserfröschen (Anura, Ranidae) aus verschiedenen Teilen Europas und Mittelasiens // Ibid. – 1983. – **210**, H. 5/6. – S. 369–374.
10. Günther R., Plotner J., Tetzlaff I. Zu einigen Merkmalen der Wasserfrosche (*Rana* synkl. *esculenta*) des Donau-Deltas // Salamandra. – 1991. – **27**, H. 4. – S. 246–265.
11. Sjogren P. Genetic variation in relation to demography of peripheral pool frog populations (*Rana lessonae*) // Evol. Ecol. – 1991. – **5**. – P. 248–271.
12. Межжерин С. В., Гарбар Д. А., Гарбар А. В. Ресистематика моллюсков рода *Planorbarius* (Gastropoda, Pulmonata) фауны Украины: опыт решения проблемы на основе геногеографического подхода // Доп. НАН України. – 2006. – № 9. – С. 170–175.
13. Межжерин С. В., Гарбар А. В., Коршунова Е. Д. и др. Генетическая изменчивость и филогеография двух видов пресноводных легочных моллюсков (Gastropoda, Pulmonata) фауны Украины // Вісн. укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2008. – **6**, № 1. – С. 82–87.
14. Природа Украинской ССР. Климат / В. Н. Бабиченко, М. Б. Барабаш, К. Т. Логвинов и др. – Киев: Наук. думка, 1984. – 232 с.
15. Межжерин С. В., Котенкова Е. В., Михайленко А. Г. Гибридные зоны // Домовая мышь / Ред. Е. В. Котенкова, Н. Ш. Булатова. – Москва: Наука, 1994. – С. 37–50.

S. V. Mezhzherin, S. Yu. Morozov-Leonov, O. V. Rostovskaya,
L. Yu. Sobolenko

Reconstruction of species area recolonization based on the geographical variation analysis of *Ldh*-B allozymes of a pond frog *Rana esculenta* (= *lessonae*)

The geographical analysis of the alleles Ldh-B gene within the pool frog Rana esculenta (= lessonae) showed a substantial genetic differentiation in the meridional direction, caused by the presence of two area renewal centers corresponding to the West European and South Ural glacial refugia. It is most probable that the recolonization was powerful migratory streams of the east form into the area limits of the western one. This circumstance is confirmed by the fact of the wide introgression of the Ldh-B^{Ls(64)} allele characteristic of the east form into western populations of this species and by the obviously limited distribution of Ldh-B^{Lf(88)} gene incident to the western form in the eastern direction. As a result, on the Western and Central Ukraine border, a sharp transitional area appeared in frequencies of alleles, expressly answering the scopes of territories with the different degrees of climate continentalness. In general, the structure of R. esculenta (= lessonae) corresponds to the model of two allospecies with different potentials prior to the settling and the wide one-direction introgression of genes.