

УДК 597.8:591.4(477)

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ И ДИАГНОСТИКА БУРЫХ ЛЯГУШЕК *RANA ARVALIS*, *R. TEMPORARIA* И *R. DALMATINA* (AMPHIBIA, RANIDAE) С ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ

В. Н. Песков¹, И. М. Коцержинская¹, В. В. Манило², Е. М. Писанец²

¹ Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины,
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев, 01601 Украина

² Национальный научно-природоведческий музей НАН Украины,
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев, 01601 Украина

Получено 12 июня 2002

Морфологическая дифференциация и диагностика бурых лягушек *Rana arvalis*, *R. temporaria* и *R. dalmatina* (Amphibia, Ranidae) с территории Украины. Песков В. Н., Коцержинская И. М., Манило В. В., Писанец Е. М. — Предложена дифференциация бурых лягушек фауны Украины по совокупности морфологических признаков. Установлен факт конвергентного сходства бурых лягушек Закарпатья. Проанализированы кариотипы *R. temporaria* и *R. dalmatina* и всех форм *R. arvalis*. Предложены диагностические функции, позволяющие со 100%-ной вероятностью определять особей всех трех видов.

Ключевые слова: дифференциация, диагностика, бурые лягушки, пропорции тела, кариотип, *R. arvalis*, *R. temporaria*, *R. dalmatina*.

Morphological Differentiation and Diagnostic of Brown Frogs *Rana arvalis*, *R. temporaria* и *R. dalmatina* (Amphibia, Ranidae) from the Territory of Ukraine. Peskov V. N., Kotserzhynska I. M., Manilo V. V., Pisanets E. M. — Differentiation of Ukrainian brown frogs by totality of morphological characters was studied. The fact of convergent similarity of Transcarpathian brown frogs was determined. Karyotypes of *R. temporaria*, *R. dalmatina* and all forms of *Rana arvalis* are described and compared. Diagnostic function, which allows to determine 3 brown frogs species with 100% reliability are proposed.

Key words: differentiation, diagnostic, brown frogs, body proportions, karyotypes, *R. arvalis*, *R. temporaria*, *R. dalmatina*.

Введение

На территории Украины обитают 3 вида бурых лягушек: травяная — *Rana temporaria* Linnaeus, 1758, прыткая — *R. dalmatina* Bonaparte, 1840 и остромордая — *R. arvalis* Nilsson, 1842 (Тарашук, 1959; Банников и др., 1977; Щербак, Щербань, 1980). Все 3 вида морфологически очень сходны, поэтому в начальном периоде изучения их часто путали как друг с другом, так и с иными видами этой группы, о чем свидетельствуют достаточно внушительные списки синонимов (Mertens, Wermuth, 1960; Кузьмин, 1999), а также ошибки в их определении, встречающиеся и до сих пор¹.

Начальным периодом изучения лягушек можно считать время с середины XVIII в. (когда в 1758 г. Линнеем был установлен род *Rana* и описаны некоторые виды лягушек) до середины XX в. (когда в зоологической систематике практически безраздельно господствовал сравнительно-морфологический метод). Характерным для изучения бурых лягушек Украины в этот период было ошибочное расширение ареала прыткой лягушки на территорию Прикарпатья (Хозацкий, 1950; Андреев, 1953; Тарашук, 1959) и даже центральных и южных районов Украины (Шарлемань, 1937), где встречаются длинноногие остромордые лягушки, которых и принимали за *R. dalmatina*.

¹ При обработке научных коллекций Зоологического музея ННПМ НАН Украины нами обнаружено 5 экз. *R. temporaria* и 75 экз. *R. dalmatina* из Закарпатской обл., ошибочно отнесенных к *R. arvalis*.

Начиная с 20-х гг. XX в. появляются первые исследования, в которых приводятся данные о хромосомных числах бурых лягушек Европы (Witschi, 1922; Volkau, 1923; Прокофьева, 1934 и др.). В более поздних работах (Gnillemin, 1967; Ullerich, 1967; Иванов, Мадянов, 1973; Белчева, Генова, 1974; Орлова и др., 1977; Графодатский и др., 1978 и др.) описана внешняя морфология хромосом, выявлено количество хромосомных плеч (основное число — NF), фиксируется наличие и локализация вторичных перетяжек, добавочных и спутничных хромосом и т. д. В результате этих исследований был установлен факт четкой дифференциации бурых лягушек на 2 группы — 24- и 26-хромосомные виды; показано, что кариотип относится к числу важных таксономических и диагностических признаков, особенно в тех случаях, когда возникают предположения о гибридизации видов, имеющих различные хромосомные наборы.

В последние десятилетия выполнен ряд исследований в области генетической дифференциации, таксономии и эволюции бурых лягушек (Mensi et al., 1992; Nishioka et al., 1992; Green, Borkin, 1993; Межжерин та ін., 1997). При этом получены противоречивые результаты относительно генетической дифференциации *R. arvalis*, *R. dalmatina* и *R. temporaria*. Так, по данным Д. М. Грина и Л. Я. Боркина (Green, Borkin, 1993), генетические различия (генетическая дистанция по Нею — Nei's D) между *R. arvalis* и *R. dalmatina* (Nei's D = 0,439—0,500) примерно такие же, как между *R. arvalis* и *R. temporaria* (Nei's D = 0,481—0,597) и более выраженные, чем между *R. dalmatina* и *R. temporaria* (Nei's D = 0,274—0,276). Совершенно противоположные данные приводят С. В. Межжерин и соавт. (1997), согласно которым генетических различий между *R. arvalis* и *R. temporaria* (Nei's D = 0,260—0,294) примерно в 2 раза меньше, чем между *R. arvalis* и *R. dalmatina* (Nei's D = 0,699—0,703), а также *R. dalmatina* и *R. temporaria* (Nei's D = 0,613—0,651). С данными С. В. Межжерина и соавт. (1997) хорошо согласуются результаты сравнения *R. arvalis*, *R. dalmatina* и *R. temporaria* по пропорциям тела, которые получены разными авторами с использованием различных статистических методов (Ищенко, Елькин, 1981; Песков, 1989; Peskov, Korolyova, 2003).

По современным представлениям (Щербак, Щербань, 1980; Кузьмин, 1999), на территории Украины обитает номинативный подвид травяной лягушки *R. t. temporaria*. Внутривидовая изменчивость *R. dalmatina* до сих пор не изучена, поэтому подвиды не выделяются; прыткая лягушка встречается только в Закарпатской обл. Остромордая лягушка в батрахофауне Украины представлена номинативным коротконогим подвидом *R. a. arvalis* Nilsson, 1842, который занимает весь ареал этого вида в пределах Украины, включая Закарпатье, и длинноногим подвидом *R. a. wolterstorffi* Fejérvágy, 1919, населяющим в пределах Украины территорию Закарпатской обл. Случаи совместного обитания *R. dalmatina*, *R. a. arvalis* и *R. a. wolterstorffi* в некоторых регионах Закарпатской обл., отмечаемые Н. Н. Щербаком, М. И. Щербанем (1980), существенно затрудняют диагностику остромордой и прыткой лягушек по признакам внешней морфологии. Сложность морфологической диагностики *R. arvalis* и *R. dalmatina*, в свою очередь, является источником ошибок, дискуссий и гипотез о валидности подвида *R. a. wolterstorffi*, его биологической природе, распространении, отношениях с *R. a. arvalis* и некоторыми другими подвидами.

Для успешного решения этих вопросов прежде всего необходимо разработать метод надежной диагностики остромордой, прыткой и травяной лягушек по признакам внешней морфологии. Учитывая существующие расхождения в оценке степени генетических различий между этими видами (Green, Borkin, 1993; Межжерин та ін., 1997), а также отсутствие специальных исследований их морфологической дивергенции в пределах Восточной Европы, важно еще раз детально проанализировать вопрос о степени и характере морфологических различий этих трех видов бурых лягушек. Наконец, до сих пор не проведен сравнительный анализ кариотипов бурых лягушек, обитающих на территории Украины, результаты которого могут оказаться важными для выяснения биологической природы и таксономического статуса *R. a. wolterstorffi*.

Материал и методы

В общей сложности морфометрически изучено 218, кариологически — 42 особи трех видов бурых лягушек фауны Украины; в качестве внешней группы для сравнения были взяты мелкие коротконогие остромордые лягушки из окр. Вильнюса, Литва (табл. 1).

Для изучения отбирали взрослых половозрелых животных, степень репродуктивной зрелости которых оценивали по общим размерам тела (Гончаренко, 1979; Кабардина, 2002), по его пропорциям (Peskov, Korolyova, 2003), а также по степени выраженности вторичных половых признаков (Кабардина, 2002). Лягушек измеряли штангенциркулем с точностью до 0,1 мм по общепринятой методике (Терентьев, Чернов, 1949; Банников и др., 1977) с некоторыми дополнениями: L — длина тела; L. с. и Lt. с. max — соответственно длина и максимальная ширина головы на уровне ротовых складок; Lt. с. tum. — ширина головы на уровне барабанных перепонки; D. г. п. — расстояние от ноздри до конца морды; Sp. п. — расстояние между ноздрями; D. г. о. — длина рыла (расстояние от глаза до конца морды); D. п. о. — расстояние от ноздри до глаза; L. о. — максимальная длина глаза; L. tum. — длина (поперечный диаметр) барабанной перепонки; L. tum. о. — расстояние от барабанной перепонки до заднего края глаза; Sp. ос. — ширина рыла (расстояние между уголками глаз); A — длина предплечья; M — длина кисти; D. р. m. — длина первого пальца кисти; Lt. m. — ширина кисти у основания; F — длина бедра; T — длина голени;

Таблица 1. Выборки, взятые для биометрического и кариологического анализа бурых лягушек фауны Украины

Table 1. Populations sampled for biometrical and karyotypic analysis of brown frogs of Ukrainian fauna

Локализация	Географические координаты	Страна, область	Коллекционный номер	Морфометрия, n	Кариотип, n
<i>R. temporaria</i> (n = 58)					
с. Дуброво Тячевского р-на	48°11'; 23°53'	Украина, Закарпатская	A-2798	2 ♀, 2 ♂	—
с. Королево Виноградовского р-на	48°9'; 23°8'	"-	A-617	2 ♀, ♂	—
с. Колочава Межгорского р-на	48°25'; 23°41'	"-	A-63	♂, 4 ♂	—
г. Ужгород, урочище Дубки	48°4'; 22°22'	"-	A-78	3 ♀	—
г. Ужгород, санат. Кооператор	- -	"-	A-1169	2 ♀, 4 ♂	—
урочище Дубки Ужгородского р-на	48°41'; 22°22'	"-	A-78	4 ♂	—
с. Невицкое Ужгородского р-на	48°40'; 22°22'	"-	A-933	♂, 5 ♂	—
с. Чинадиево Мукачевского р-на	48°29'; 22°50'	"-	A-1353	3 ♀, 4 ♂	—
спортлагерь «Скалка» Перечинского р-на	48°44'; 22°20'	"-	A-1345	3 ♀	—
с. Лоевое Надворнянского р-на	48°34'; 24°36'	Ивано-Франковская	A-949	4 ♀, 2 ♂	—
пгт Ворохта Надворнянского р-на	48°16'; 24°34'	"-	A-932	4 ♀, 3 ♂	—
с. Яремча Надворнянского р-на	48°27'; 24°33'	"-	A-601	—	♀, 3 ♂
<i>R. dalmatina</i> (n = 53)					
с. Гать Береговского р-на	48°19'; 22°38'	Украина, Закарпатская	A-610 A-1355 A-1462	10 ♀, 5 ♂ 2 ♀ ♀	3 ♀
с. Батрадь Береговского р-на	48°20'; 22°25'	"-	A-623 A-626	♂ ♀, ♂	—
г. Ужгород	48°37'; 22°17'	"-	A-582	♀	—
с. Барвинок Ужгородского р-на	48°34'; 22°21'	"-	A-2786	4 ♀	—
с. Камяницы Ужгородского р-на	48°41'; 22°24'	"-	A-2150	3 ♀	—
с. Королево Виноградовского р-на	48°9'; 23°8'	"-	A-2799	♀, 2 ♂	—
с. Н. Быстрый Хустского р-на	48°21'; 23°32'	"-	A-616	♂	—
с. Золотарево Хустского р-на	48°11'; 23°30'	"-	A-621	♀	—
с. Липецкая поляна Хустского р-на	48°20'; 23°21'	"-	A-1165	♀	—
с. Иза Хустского р-на	48°12'; 23°19'	"-	A-2149	♀	—
с. В. Водяное Раховского р-на	48°01'; 23°57'	"-	A-2797 A-2794	5 ♂ ♀, 2 ♂	—
с. Дуброво Тячевского р-на	48°11'; 23°53'	"-	A-2792	♂	—
с. Чинадиево Мукачевского р-на	48°29'; 22°50'	"-	A-1363	3 ♀	—
<i>R. arvalis</i> (n = 149)					
с. Антоновка, окр. г. Херсона	46°40'; 32°43'	Украина, Херсонская	A-937 A-1227	3 ♀, 10 ♂ ♀, 2 ♂	8 ♀, 5 ♂
с. Майдан Олевского р-на	51°4'; 27°24'	Житомирская	A-888	♂	—
оз. Свитязь, Любомльский р-н	51°30'; 23°52'	Волынская	A-918	3 ♀, ♂	—
оз. Перемут, Любомльский р-н	51°30'; 23°52'	"-	A-19	3 ♂	—
г. Чернигов	51°27'; 31°18'	Черниговская	A-1642	♀, 4 ♂	—
с. Роище Черниговского р-на	51°39'; 31°13'	"-	A-1639	♂	—
с. Халявин Черниговского р-на	51°35'; 31°17'	"-	A-1506	♀	—
с. Озеряны Бобровицкого р-на	50°41'; 31°27'	"-	A-2693	—	♀, 2 ♂
г. Ахтырка	50°18'; 34°54'	Сумская	A-1812	♀, ♂	—

Продолжение табл. 1

Локализация	Географические координаты	Страна, область	Коллекционный номер	Морфометрия, n	Карио-тип, n
с. Гуньки Кременчугского р-на	49°14'; 33°33'	Полтавская		—	♀
с. Филимоново					
Недрыгайловского р-на	50°50'; 34°3'	"-	A-1819	3 ♀, 3 ♂	—
г. Николаев	49°31'; 23°58'	Львовская	A-595	♂	
г. Рава-Русская Нестеровского р-на	50°13'; 23°37'	"-	A-1176	—	♀
с. Карпилówka Ракитнянского р-на	51°9'; 27°12'	Ровенская	A-1174	2 ♂	—
с. Гать Береговского р-на	48°19'; 22°38'	Закарпат-ская	A-611 A-1355 A-1163	6 ♀, 6 ♂ 6 ♀, ♂ 2 ♀, 2 ♂	♀, 9 ♂*
с. Батрадь, Береговского р-на	48°20'; 22°25'	"-	A-626	3 ♀	
с. В. Водяное Раховского р-на	48°01'; 23°57'	"-	A-2266	♀, 2 ♂	
с. Королево Виноградовского р-на	48°9'; 23°8'	"-	A-102	♀, ♂	
с. Шишловцы Ужгородского р-на	48°33'; 22°15'	"-	A-618	♀, 3 ♂	
с. Тягло Ужгородского р-на	48°34'; 22°23'	"-	A-2264	♂	
с. Матеево Виноградовского р-на	48°7'; 22°54'	"-	A-1224	♀	
п. Лесники, окр. Киева	50°18'; 30°31'	Киевская	A-1825	2 ♀, 3 ♂	
с. Масковцы Барышевского р-на	50°13'; 31°20'	"-	A-2479	—	2 juv
с. Заворичи Броварского р-на	50°42'; 31°8'	"-	A-1273	6 ♀, 8 ♂	
г. Вильнюс	54°41'; 25°17'	Литва	A-1794 A-1292 A-1287	3 ♀, 3 ♂ 3 ♀, 2 ♂ 5 ♂	5 ♂

* Из них: 6 ♂ *R. a. arvalis*; ♀ и 3 ♂ *R. a. wolterstorffi* (определение Н. Н. Щербака).

L. t. — длина предплюсны; L. p. — длина стопы; D. p. p. — длина первого пальца стопы; Lt. p. — ширина стопы у основания (на уровне пяточного бугра); C. int. и At. c. int. — длина и высота пяточного бугра соответственно; Cr. a. c., Cr. a. g. и Cr. a. t.-t. — толщина локтевого, коленного и голеностопного суставов соответственно; L. m. — длина верхней челюсти.

Для сравнения трех видов бурых лягушек по абсолютным значениям морфометрических признаков использовали дискриминантный анализ. Средние абсолютные и относительные значения морфометрических признаков сравнивали по t-критерию Стьюдента (Лакин, 1980). Все вычисления выполнены с использованием статистического пакета «Statistica», версия 5 (StatSoft, Inc., 2001, США).

Препараты хромосом готовили из костного мозга, крови и семенников предварительно колхицированных животных (0,1%-ный раствор колхицина из расчета 0,1 мл на 1 г массы тела животного) за 15 ч до приготовления препаратов по стандартной методике (Макгрегор, Варли, 1986). Для усиления митотической активности клеток использовали раствор фитогемагглютина по ранее описанной методике (Манило, 1989). Препараты окрашивали азури-эозином по Романовскому.

Результаты и обсуждение

Дифференциация лягушек по линейным размерам и пропорциям тела достаточно наглядно отражена в характере их распределения в пространстве двух первых канонических переменных (рис. 1), которые описывают 95% общей дисперсии 28 морфометрических признаков. Это свидетельствует об очень высоком уровне согласованности в варьировании большинства анализируемых морфометрических признаков у трех видов бурых лягушек.

Учитывая величину и знак нормированных нагрузок на первую каноническую переменную (табл. 2), можно утверждать, что особи с минимальными значениями этой переменной (а это все травяные лягушки) характеризуются наиболее крупными размерами тела и непропорционально большими значениями диаметра барабанной перепонки (L. tym), ширины морды (Sp oc.), длины кисти передней конечности (M), а также длины первых пальцев передней и задней конечностей. Некоторая диспропорциональность в развитии перечисленных при-

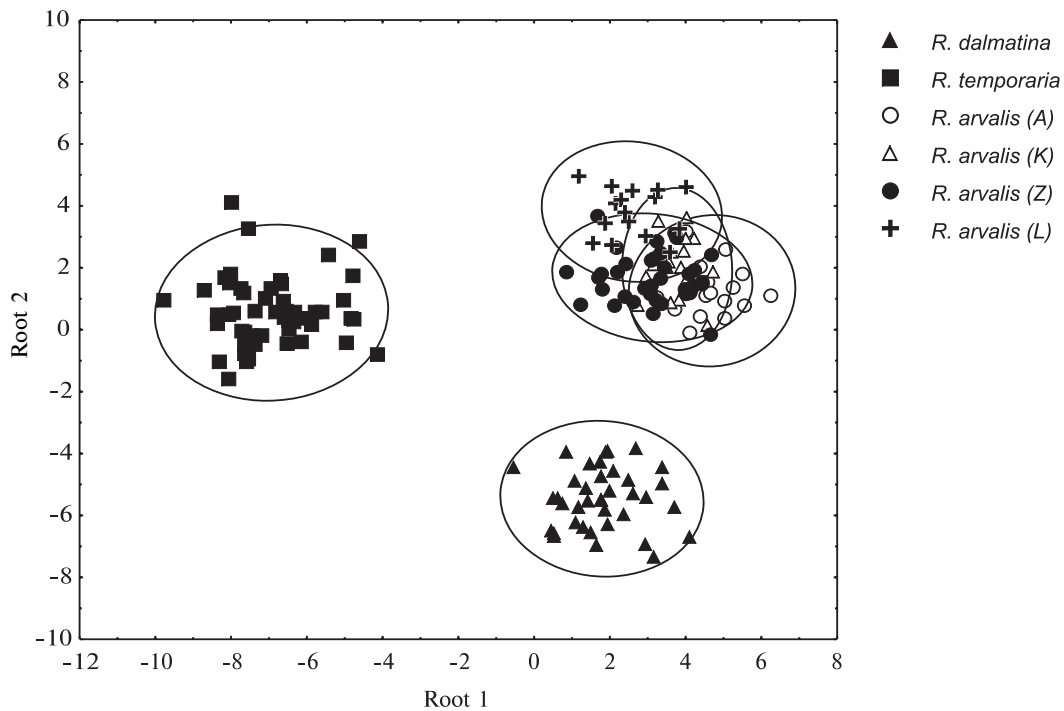


Рис. 1. Положение изученных экземпляров бурых лягушек трех видов в пространстве двух первых канонических переменных, вычисленных по 28 морфологическим признакам (*R. arvalis*: A – Антоновка Херсонской обл., K – Киевская обл., Z – Закарпатская обл., L – Литва, окр. Вильнюса).

Fig. 1. Scatterplot of canonical scores (Root 1 versus Root 2) computed for brown frog specimens using 28 morphological characters (*R. arvalis*: A – Antonivka, Kherson reg., K – Kyiv reg., Z – Transcarpathian reg., L – Lithuania, near Vilnius).

знаков свидетельствует о том, что травяные лягушки отличаются от остромордых и прытких не только большими размерами тела, но и некоторыми его пропорциями (табл. 3). Как видно из таблиц 3 и 4, травяные лягушки по сравнению с прыткими и остромордыми более широкоморды ($Sp. n./Sp. oc. = 0,53$), широкоголовы ($Lt. c./D. г. о. = 2,65$) и коротконоги ($L/T = 1,94$), но в то же время имеют более длинное предплечье ($T/A = 2,00$), а также более крупные первый палец задней конечности ($T/D. p. p. = 2,89$) и внутренний пяточный бугор ($D. p. p./C. int. = 3,46$ и $D. p. p./At. c. int. = 6,82$).

R. dalmatina и *R. arvalis*, напротив, близки по общим линейным размерам тела, однако хорошо различаются по его пропорциям, о чем свидетельствует характер их распределения вдоль 2-й канонической оси (рис. 1), которая характеризует изменчивость пропорций тела (табл. 2). Согласно величине и знаку нормированных нагрузок на вторую каноническую переменную, прыткие лягушки по сравнению с остромордыми характеризуются более вытянутой мордой ($D. г. о.$ и $D. п. о.$), крупной барабанной перепонкой, большей длиной бедра, голени и кисти передней конечности, но меньшими значениями расстояния от барабанной перепонки до заднего края глаза и высоты внутреннего пяточного бугорка. Еще нагляднее эти различия проявляются при сравнении остромордых и прытких лягушек по относительным значениям перечисленных признаков (табл. 3 и 4).

Таким образом, *R. temporaria* отличается от двух других видов прежде всего по общим размерам тела и в меньшей степени по его пропорциям, в то время как *R. dalmatina* и *R. arvalis*, напротив, хорошо дифференцируются по пропорциям головы и задних конечностей, что отмечалось и ранее (Ищенко, Елькин, 1981;

Таблица 2. Факторные нагрузки трех первых канонических осей бурых лягушек с территории Украины
Table 2. Factor values of first three canonical axes from the territory of Ukraine

Признак	1	2	3
L	-0,324	-0,064	-0,223
L. с.	-0,273	-0,053	-0,192
Lt. с. max	-0,309	-0,074	-0,193
Lt. с. tym.	-0,324	-0,039	-0,138
D. r. n.	-0,194	-0,060	-0,261
Sp. n.	-0,292	-0,114	-0,145
D. r. o.	-0,241	-0,142	-0,269
D. n. o.	-0,241	-0,160	-0,262
L. o.	-0,276	-0,103	-0,203
L. tym. o.	-0,243	0,305	-0,170
L. tym.	-0,361	-0,285	-0,165
Sp. oc.	-0,447	-0,099	-0,105
A	-0,315	-0,066	-0,247
M	-0,407	-0,168	-0,282
Lt. m.	-0,245	-0,015	-0,285
D. p. m.	-0,391	-0,127	-0,268
F	-0,231	-0,179	-0,295
T	-0,237	-0,259	-0,342
L. t.	-0,224	-0,128	-0,195
L. p.	-0,265	-0,061	-0,440
Lt. p.	-0,287	0,051	-0,235
D. p. p.	-0,412	-0,103	-0,325
C. int.	-0,108	0,027	-0,075
At. c. int.	0,072	0,140	-0,096
Cr. a. c.	-0,235	0,027	-0,112
Cr. a. g.	-0,274	-0,112	-0,200
Cr. a. t.-t.	-0,320	0,003	-0,270
L. m.	-0,289	-0,131	-0,232

Таблица 3. Изменчивость морфометрических индексов у бурых лягушек с территории Украинского Закарпатья

Table 3. Variability of morphometrical indexed of brown frogs from Ukrainian Transcarpathians

Признак	<i>R. arvalis</i>		<i>R. dalmatina</i>		<i>R. temporaria</i>	
	min-max	M ± m	min-max	M ± m	min-max	M ± m
Sp. n./Sp. oc.	0,52—0,71	0,61 ± 0,007	0,48—0,73	0,60 ± 0,008	0,45—0,66	0,53 ± 0,006
Lt. с./D. r. o.	2,13—2,54	2,35 ± 0,016	2,08—2,59	2,34 ± 0,019	2,27—3,25	2,65 ± 0,027
L/T	1,71—2,21	1,88 ± 0,021	1,53—1,73	1,66 ± 0,006	1,67—2,23	1,94 ± 0,015
L. tym. o./L. tym.	0,44—0,65	0,53 ± 0,008	0,20—0,42	0,30 ± 0,006	0,29—0,67	0,47 ± 0,011
D. p./C. int.	2,13—2,87	2,57 ± 0,032	2,51—3,47	2,95 ± 0,025	2,86—4,50	3,46 ± 0,036
Lt. p./T	0,18—0,24	0,22 ± 0,002	0,16—0,20	0,17 ± 0,001	0,20—0,25	0,22 ± 0,002
T/D. p. p.	3,00—3,81	3,34 ± 0,031	3,20—4,00	3,58 ± 0,022	2,60—3,35	2,89 ± 0,023
T/C. int.	6,68—10,08	8,55 ± 0,119	8,86—12,03	10,57 ± 0,094	8,07—14,27	10,02 ± 0,135
T/A	1,99—2,47	2,23 ± 0,021	2,19—2,71	2,42 ± 0,018	1,84—2,21	2,00 ± 0,013
D. p. p./At. c. int.	3,40—5,35	4,12 ± 0,061	4,10—7,00	5,22 ± 0,081	5,42—8,47	6,82 ± 0,097

Песков, 1989; Peskov, Korolyova, 2003). Исходя из того, что пропорции тела в большей степени детерминированы генетически, чем его общие линейные размеры (Никитюк, 1978; Atchley et al., 1981), можно предположить, что более точная оценка генетической дивергенции этих видов дана в работе С. В. Межжерина и соавт. (1997).

Таблица 4. Величина t-критерия Стьюдента при сравнении трех видов бурых лягушек с территории Украины по морфометрическим индексам

Table 4. T-Student value in comparison of three brown frogs species from the territory of Ukraine by morphometric indexes

Признак	<i>R. arvalis</i> — <i>R. dalmatina</i>	<i>R. arvalis</i> — <i>R. temporaria</i>	<i>R. dalmatina</i> — <i>R. temporaria</i>
Sp. n./Sp. oc.	0,94	8,68	7,00
Lt. c./D. r. o.	0,40	−9,56	−9,39
L/T	10,07	−2,32	−17,33
L. tym. o./L. tym.	23,00	4,41	−13,60
D. p./C. int.	−9,36	−18,48	−11,64
Lt. p./T	22,36	0,00	−22,40
T/D. p. p.	−6,31	11,66	21,68
T/C. int.	−13,30	−8,17	3,34
T/A	−6,87	9,31	18,92
D. p. p./At. c. int.	−10,80	−23,60	−12,70

Таблица 5. Величина квадратичных дистанций Махаланобиса, рассчитанных по абсолютным значениям морфометрических признаков при сравнении бурых лягушек с территории Украины

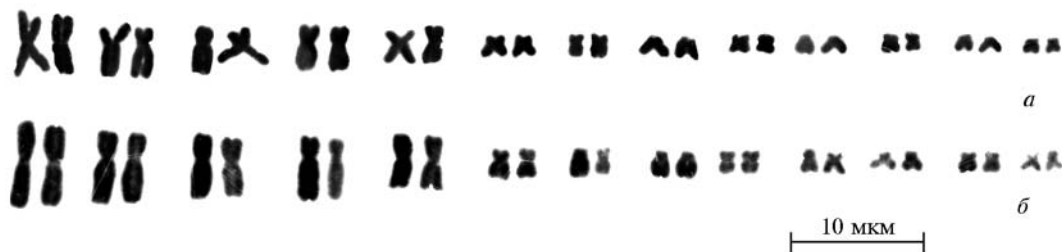
Table 5. Values of the Squared Mahalanobis Distances, estimated from the absolute values of morphometric characters by comparison of the brown frogs from the territory of Ukraine

Выборка	<i>R. dalmatina</i>	<i>R. temporaria</i>	<i>R. arvalis</i> (Херсонская обл.)	<i>R. arvalis</i> (Киевская обл.)	<i>R. arvalis</i> (Закарпатская обл.)	<i>R. arvalis</i> (Литва)
<i>R. dalmatina</i>	—	116,39	64,60	63,79	54,69	94,61
<i>R. temporaria</i>		—	146,79	123,26	106,66	112,52
<i>R. arvalis</i> (Херсонская обл.)			—	13,49	12,40	34,47
<i>R. arvalis</i> (Киевская обл.)				—	5,96	15,77
<i>R. arvalis</i> (Закарпатская обл.)					—	16,54
<i>R. arvalis</i> (Литва)						—

В целом, как видно из таблицы 5, среди трех изученных видов *R. temporaria* морфологически наиболее дифференцирована от двух других, а прыткая и остромордая лягушки морфологически более близки¹. Это подтверждается также практикой диагностики этих видов лягушек. Здесь же важно отметить то, что при сравнении прытких лягушек с остромордыми из 4 географических выборок наименьшие различия отмечены между прыткими и остромордыми лягушками из Закарпатской обл. (SqMD = 54,67). То же самое мы видим и при сравнении травяной и остромордой лягушек (табл. 5). Этот факт противоречит известному правилу Вори (Vaurie, 1951), согласно которому различия по какому-либо диагностическому признаку у близких видов в зоне их симпатрии больше, чем в других частях ареала. Напротив, согласно нашим данным, адаптация к одинаковым условиям обитания приводит к сближению (конвергенции) разных видов лягушек по совокупности признаков внешней морфологии.

Результаты дискриминантного анализа морфологической дифференциации *R. arvalis*, *R. dalmatina*, *R. temporaria*, а именно четкое разделение совокупной выборки лягушек на три видовые субвыборки без вычленения промежуточных форм, на наш взгляд, свидетельствуют о том, что на территории Украинского Закарпатья обитает три вида бурых лягушек, которые не гибридизируют между собой и не образуют гибридные формы.

¹ Степень и характер морфологической дифференциации остромордых лягушек в этой работе не анализируются. Этому будет посвящена отдельная публикация.

Рис. 2. Кариограммы: а – *R. dalmatina*; б – *R. temporaria*.Fig. 2. Karyograms: а – *R. dalmatina*; б – *R. temporaria*.

Сравнительное изучение кариотипов. Описание и сравнительное изучение кариотипов бурых лягушек с территории Украины проводится впервые.

R. dalmatina. Исследовано 35 метафазных пластин на препаратах костного мозга и селезенки от 3 самок из Закарпатской обл. Кариотип включает в себя 26 двуплечих хромосом ($2n = 26$, $NF = 52$), которые достаточно четко делятся на 2 размерные группы: 5 пар крупных и 8 мелких. Крупные хромосомы по размерам почти в 2 раза больше мелких. Самые крупные гомологи 1-й пары, а также крупные хромосомы 4-й и 5-й пар являются метацентриками, 2-я и 3-я пары – субметацентрики. Хромосомы 6-й и 8-й пар сходны по величине, размер остальных равномерно убывает. В морфологическом отношении они также неоднородны: 6-я, 9-я, 11-я и 13-я пары – метацентрики, 7-я, 10-я и 11-я – субметацентрики и только одна – 8-я пара – имеет субтелоцентрический тип строения. Хромосомная формула – $14V + 10sV + 2sT$ (рис. 2, а). Вторичные перетяжки (обнаружены только на нескольких метафазных пластинках) локализованы на коротком плече 3-й и длинном плече 5-й пар хромосом. Половые хромосомы не идентифицированы.

R. temporaria. Исследованы 32 метафазные пластинки на препаратах костного мозга, селезенки и семенников от 3 ♂ и ♀ из Ивано-Франковской обл. Все они имеют характерный для данного вида кариотип ($2n = 26$, $NF = 52$). Все хромосомы по размеру делятся, как и у предыдущего вида, на 2 группы: 5 пар крупных и 8 пар мелких хромосом. Самые крупные хромосомы 1-й пары являются четкими метацентрами. К метацентрам можно отнести также хромосомы 5-й и 9-й пар, которые имеют практически равные плечи. Хромосомы 2-й, 3-й, 4-й пар, а также все мелкие хромосомы, за исключением 8-й субтелоцентрической пары, относятся к субметацентрам. На большинстве метафазных пластин на длинном плече 10-й пары отмечены вторичные перетяжки. На препаратах семенников делящиеся клетки с четкими наборами хромосом отсутствовали. Половые хромосомы не идентифицированы. Хромосомная формула – $6V + 18sV + 2sT$. (рис. 2, б).

R. arvalis. Исследовано 60 метафазных пластин на препаратах костного мозга и семенников от 6 ♂ из Закарпатья, 37 – на препаратах костного мозга от самки из Львовской обл., 13 – на препаратах крови от самки из Полтавской обл., 16 – на препаратах крови от 2 неполовозрелых особей из Киевской обл., 34 – на препаратах крови и костного мозга от 2 ♂ и ♀ из Черниговской обл., 42 – на препаратах костного мозга от 5 ♂ из окр. Вильнюса. Все они имеют кариотип, состоящий из 24 двуплечих хромосом ($2n = 24$, $NF = 48$). В отличие от двух предыдущих видов отсутствует четкое деление хромосом по размерному признаку. Морфологическая характеристика: 1-я, 5–7-я, 10-я и 12-я пары являются метацентрами, 2–4-я пары – субметацентрами, а 8-я, 9-я и 11-я – субтелоцентрами. Хромосомная формула – $12V + 6sV + 6sT$ (рис. 3, а). На препа-

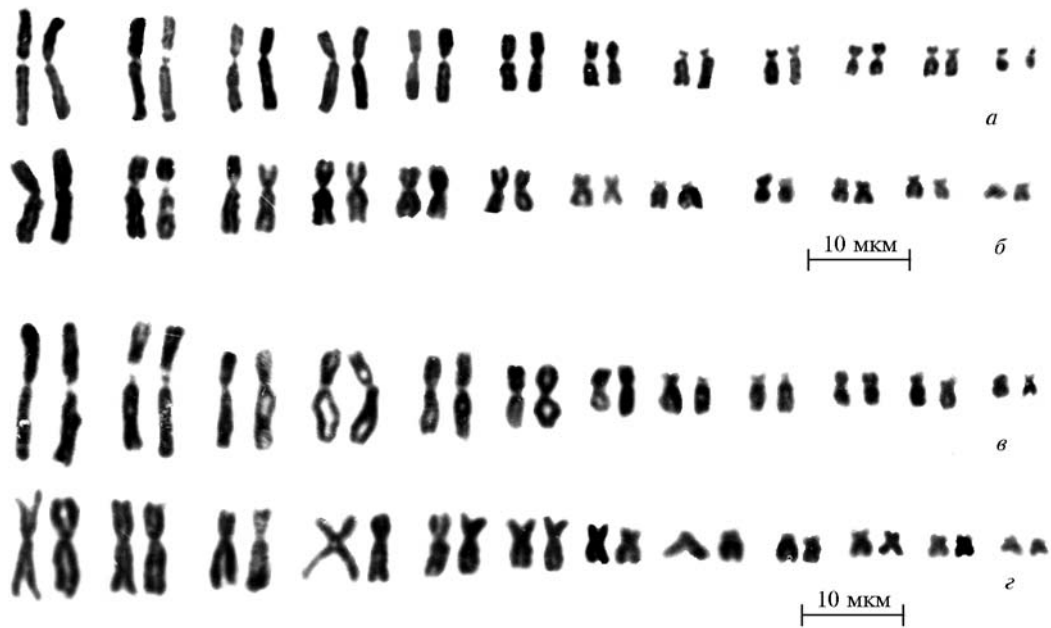


Рис. 3. Кариограммы: а – *R. arvalis*; б – *R. arvalis* (Херсон); в – *R. a. arvalis* (Литва); г – *R. a. wolterstorffi*.

Fig. 3. Karyograms: а – *R. arvalis*; б – *R. arvalis* (Kherson); в – *R. a. arvalis* (Lithuania); г – *R. a. wolterstorffi*.

ратах семенников отмечены делящиеся клетки на стадии диакинеза и метафазы-II мейоза с 12 хромосомами. Половые хромосомы не выявлены. На некоторых метафазных пластинках была обнаружена вторичная перетяжка на коротком плече 2-й пары хромосом в прицентромерном районе (рис. 3, а).

R. arvalis (с. Антоновка, Херсонской обл.). Кариотип остромордых лягушек этой популяции специально включен в сравнительное изучение, поскольку здесь отмечены самые длинноногие особи этого вида (Тарашук, 1984). Исследовано 34 метафазные пластинки на препаратах костного мозга и селезенки и 134 делящиеся клетки на препаратах семенников от 5 ♂ и 8 ♀. Кариотип по всем анализируемым признакам идентичен описанному выше (рис. 3, в). Вторичные перетяжки обнаружены на некоторых метафазных пластинках на коротком плече в прицентромерном районе 2-й пары хромосом (рис. 3, в).

R. a. wolterstorffi. Исследовано 32 метафазные пластинки на препаратах костного мозга, селезенки и 16 – на препаратах семенников от 3 ♂ и ♀ из Закарпатской обл. Кариотип как по количеству хромосом, так и по их морфологии

Таблица 6. Морфометрическая классификация бурых лягушек с территории Украины: групповые коэффициенты классификационных функций

Table 6. Morphometric classification of brown frogs from the territory of Ukraine: group classification function coefficients

Переменная или константа	Коэффициент		
	<i>R. arvalis</i>	<i>R. dalmatina</i>	<i>R. temporaria</i>
L/T	456,68	447,58	472,48
L. tym. o./L. tym	34,81	-34,67	29,80
T/D. p. p.	183,92	187,45	177,40
T/A	153,12	173,28	136,50
D. p. p./C. int.	128,65	132,76	150,06
Константа	-1082,98	-1108,26	-1119,31

полностью идентичен описанному выше, но вторичные перетяжки нами не обнаружены.

Результаты изучения кариотипа бурых лягушек с территории Украины свидетельствуют о том, что по количеству хромосом и их морфологическим характеристикам кариотипы всех трех видов не отличаются от таковых, описанных из различных точек ареалов этих видов другими авторами (Ullerich, 1967; Иванов, Мадянов, 1973; Белчева, Генова, 1974; Орлова и др., 1977 и др.). Кариотип всех изученных *R. arvalis* с территории Украины и Литвы совершенно одинаков и не несет в себе признаков внутривидовой дифференциации этого вида. На территории Украинского Закарпатья не обнаружено бурых лягушек с какими-либо промежуточными характеристиками кариотипа, которые могли бы указывать на реальное существование гибридизации между *R. arvalis* и *R. dalmatina* и подтверждали бы гипотезу Н. Н. Щербака и М. И. Щербаня (1980) о гибридном происхождении *R. a. wolterstorffi*.

Диагностика бурых лягушек. Однозначная диагностика всех трех видов бурых лягушек фауны Украины возможна на основании сравнительного изучения электрофоретической подвижности белков (Green, Borkin, 1993; Межжерин та ін., 1997), однако широкое использование этого метода пока невозможно по ряду причин, основными из которых являются его трудоемкость, а также необходимость значительных финансовых и временных затрат. По этим же причинам вряд ли целесообразно рекомендовать для диагностики этих видов цитогенетический метод, который, к тому же, уступает биохимическому в разрешающей способности и зачастую связан с необходимостью умерщвления животных. Кроме того, оба названных метода неприменимы к огромным научным коллекциям, хранящимся в различных фондохранилищах. И, напротив, вряд ли можно диагностировать самцов прыткой лягушки по отсутствию внутренних резонаторов на живом материале. По всем этим причинам проблема разработки методов морфологической диагностики остромордой, травяной и прыткой лягушек продолжает оставаться весьма актуальной.

Для диагностики бурых лягушек Закарпатья использованы 5 морфометрических индексов, составленных с учетом таблиц 3 и 4. Поэтому классификационные функции, разработанные для каждого из трех видов, построены с учетом этих 5 индексов (табл. 6). Используя эти функции, можно со 100%-ной вероятностью определить видовую принадлежность каждой отдельной взрослой особи бурых лягушек фауны Украины. Подробные рекомендации по использованию классификационных функций на примере идентификации лесных мышей рода *Sylviaemus* можно найти в работе Е. И. Лашковой и И. И. Дзевекина (2002).

В процессе идентификации важно также использовать традиционные признаки внешней морфологии (окраску спины и живота, пропорции задних конечностей и т. д.), отсутствие внутренних резонаторов у самцов прыткой лягушки (Банников и др., 1977; Боркин, 1986; Щербак, Щербань, 1980 и др.), а при необходимости и кариологические данные.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что *R. arvalis*, *R. dalmatina* и *R. temporaria*, обитающие на территории Украины, хорошо дифференцируются как по общим размерам тела (*R. temporaria*), так и по его пропорциям (*R. dalmatina* и *R. arvalis*), но для этого важно использовать не отдельные признаки, а их совокупность, чтобы оценить соразмерность (пропорциональность) их развития в структуре единого целостного фенотипа. Преимущество интегрального подхода по сравнению с дифференциальным анализом отдельных морфологических признаков в изучении бесхвостых амфибий неоднократно подчеркивалось многими авторами (Bosch, Marquez, 1996; Kabardina, 1999).

По результатам дискриминантного анализа, получено четкое разделение совокупной выборки, состоящей из особей трех видов, на три видовые субвыборки без вычленения каких-либо промежуточных форм, что, по нашему мнению, свидетельствует об отсутствии гибридизации между ними. Этот вывод подтверждается также результатами сравнительного изучения кариотипов *R. dalmatina*, *R. temporaria* и всех форм *R. arvalis* с территории Украины и *R. a. arvalis* с территории Литвы; в последнем случае не отмечено также признаков внутривидовой дифференциации кариотипа остромордой лягушки. Установлен интересный факт конвергентного сходства остромордых лягушек Закарпатья с лягушками двух других видов, свидетельствующий о фенотипическом сближении трех разных видов рода *Rana*, обитающих в одних и тех же условиях внешней среды.

Для однозначной диагностики каждой отдельной особи травяной, остромордой и прыткой лягушек достаточно использовать 5 морфометрических индексов, включенных в соответствующие дискриминантные классификационные функции.

- Андреев И. Ф. Амфибии и рептилии Прикарпатья // Учен. зап. — Кишинев : Изд-во ун-та, 1953. — 8. — С. 257—270.
- Банников А. Г., Даревский И. С., Ищенко В. Г. и др. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР. — М. : Просвещение, 1977. — 415 с.
- Белчева Р. Г., Генова Г. К. Кариотипы греческой (*Rana graeca*), травяной (*R. temporaria*), и прыткой (*R. dalmatina*) лягушек // Зоол. журн. — 1974. — 53, вып. 10. — С. 1518—1523.
- Боркин Л. Я. Систематика бурых лягушек Палеарктической Азии : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1986. — 24 с.
- Гончаренко А. Е. Зависимость размеров некоторых земноводных от их возраста // Вестн. зоологии. — 1979. — 13, № 4. — С. 79—82.
- Графодатский А. С., Григорьев О. В., Исаенко А. А. Дифференциальная окраска хромосом четырех видов амфибий // Зоол. журн. — 1978. — 57, вып. 8. — С. 1279—1281.
- Иванов В. Г., Мадянов Н. Н. Сравнительная кариология лягушек рода *Rana* // Цитология. — 1973. — 15, № 7. — С. 920—927.
- Ищенко В. Г., Елькин Ю. А. О степени морфологической удаленности и сходства бурых лягушек фауны СССР // Герпетол. исследования в Сибири и на Дальнем Востоке. — Л. : Зоол. ин-т АН СССР, 1981. — С. 103—106.
- Кабардина Ю. А. Формирование межвидовых различий по морфометрическим признакам травяной, *Rana temporaria*, и остромордой, *R. arvalis*, лягушек // Зоол. журн. — 2002. — 81, № 2. — С. 221—233.
- Кузьмин С. Л. Земноводные бывшего СССР. — М. : Товарищество научных исследований КМК, 1999. — 298 с.
- Лакин Г. Ф. Биометрия : Учебное пособие для биологич. спец. вузов. — 3-е изд., перераб. и доп. — М. : Высш. шк., 1980. — 293 с.
- Лашкова Е. И., Дзверин И. И. Одонтометрическая изменчивость и идентификация видов лесных мышей, *Sylvaeemus* (Muridae, Rodentia) фауны Украины // Вестн. зоологии. — 2002. — 36, № 3. — С. 25—33.
- Макрегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами. — М. : Мир, 1986. — 262 с.
- Манило В. В. Кариологическое исследование рептилий // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. — Киев, 1989. — С. 100—109.
- Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю., Пионтковська О. А. Алозимна мінливість видів амфібій Східних Карпат // Біорізноманіття Карпатського біосферного заповідника. — Київ, 1997. — С. 352—367.
- Никитюк Б. А. Факторы роста и морфофункционального созревания организма. — М. : Наука, 1978. — 144 с.
- Орлова В. Ф., Бахарев В. А., Боркин Л. Я. Кариотипы некоторых бурых лягушек Евразии и таксономический анализ кариотипов всей группы // Тр. Зоол. ин-та АН СССР : Герпетологический сб. — Л., 1977. — 74. — С. 81—103.
- Песков В. Н. Сравнительный анализ морфологической конституции тела бурых лягушек фауны Украины // Вопр. герпетологии : Автореф. докл. VII всесоюз. герпетол. конф. (Киев, 26—29 сент. 1989 г.). — Киев, 1989. — С. 191—192.
- Прокофьева А. А. Исследование морфологии хромосом некоторых рыб и амфибий // Докл. АН СССР, нов. сер., — 1934. — 1, № 2. — С. 80—84.
- Таращук В. І. Земноводні та плазуни. — К. : Вид-во АН УРСР, 1959. — 246 с. — (Фауна України; Т. 7).
- Таращук С. В. Об изменчивости остромордой лягушки (*Rana arvalis*) на территории Украины // Вестн. зоологии. — 1984. — 18, № 5. — С. 80—82.

- Терентьев П. В., Чернов С. А.* Определитель пресмыкающихся и земноводных. — М. : Сов. наука, 1949. — 340 с.
- Хозицкий Л. И.* К фауне земноводных и пресмыкающихся Восточных Карпат // Изв. Всесоюз. геогр. об-ва. — 1950. — **82**, вып. 1. — С. 89—92.
- Шарлемань М. В.* Зоогеография УРСР. — К. : Вид-во АН УРСР, 1937. — 235 с.
- Шербак Н. Н., Шербань М. И.* Земноводные и пресмыкающиеся Украинских Карпат. — Киев : Наук. думка, 1980. — 268 с.
- Achley W. R., Rutledge J. J., Cowley D. E.* Genetic components of size and shape. 2. Multivariate covariance patterns in the rat and mouse skull // *Evolution*. — 1981. — **35**, N 6. — P. 1037—1055.
- Bolkay S. I.* Ueber die Herkunft und verwandtschaftlichen Beziehungen der sьдеуропдischen Braunfrьsche zu einander und zu den ьbrigen nьrdlichen Braunfrьschen // *Glas. Zemal. Muzeja Hercegovini (Bull. Mus. Bosnia Hercegovina)*, Sarajevo. — 1923. — **35**. — P. 113—122.
- Bosch J., Marquez R.* Discriminant functions for sex identification in two midwife toads (*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*) // *J. Herpetol.* — 1996. — **6**, N 4. — P. 105—109.
- Gnillemin C.* Caryotypes de *Rana temporaria* (L.) et de *Rana dalmatina* (Bonaparte) // *Chromosoma*. — 1967. — **21**, Hf. 2. — S. 189—197.
- Green D. M., Borkin L. J.* Evolutionary relationships of Eastern Palearctic Brown Frogs, genus *Rana*: paraphyly of the 24-chromosome species group and the significance of chromosome number change // *Zool. J. Linnean Society*. — 1993. — **109**. — P. 1—25.
- Kabardina Y. A.* The formation and adaptive value of dimorphic morphometric characters in common frog, *Rana temporaria* L. // *Current studies in Herpetology*. — 1999. — P. 197—208.
- Mensi P., Lattes A., Macario B. et al.* Taxonomy and evolution of European brown frogs // *Zool. J. Linnean Society*. — 1992. — **104**. — P. 293—311.
- Mertens R., Wermut H.* Die Amphibien und Reptilien Europas. — Frankfurt am Main : Kramer, 1960. — 264 S.
- Nishioka M., Sumida M., Borkin L. J., Wu Z.* Genetic differentiation of 30 populations of 12 brown frog species distributed in the Palearctic region elucidated by the electrophoretic method // *Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol. (Hiroshima Univ.)*. — 1992. — **11**. — P. 109—160.
- Peskov V. N., Korolyova D. S.* Morphological differentiation and diagnostic of *Rana arvalis*, *R. temporaria* and *R. dalmatina* // 12th Ordinary Meet. Soc. Europaea Herpetol. (SEN). — S.-Petersburg, 2003. — P. 127.
- Ullerich F.-H.* Weitere Untersuchungen ьber Chromosomenverhьltnisse und DNS-Gehalt bei Anuren (Amphibia) // *Chromosoma*. — 1967. — **21**, Hf. 4. — S. 345—368.
- Vaurie C.* Adaptive differences between two sympatric species of nuthatches (*Sitta*) // *Proc. X Int. Congr. Upsala*, 1951. — P. 163—166.
- Witschi E.* Chromosomen und Geschlecht bei *Rana temporaria* // *Z. ind. Abstam.-u. Vererbungslehre*. — 1922. — **27**, Hf. 3—4. — S. 253—255.