

Н.М. СУРЯДНА

Мелітопольський державний педагогічний університет
E-mail: suryadna@mediana.net.ua

**МЕЙОТИЧНІ
ХРОМОСОМИ ЗЕЛЕНИХ ЖАБ
(*RANA ESCULENTA COMPLEX*)
З ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ**



Вперше описані мейотичні хромосоми *R. ridibunda*, *R. lessonae* та їх гіbridної форми *R. esculenta* з території України. Ці хромосоми з'єднані в діакінезі частіше двома, рідко однією або трьома хіазмами в 13 бівалентів. Біваленти з однією хіазмою у *R. ridibunda* характерні тільки для крупних, у *R. lessonae* тільки для дрібних хромосом. Три хіазми у батьківських видів характерні тільки для дрібних хромосом. У гіbridної форми *R. esculenta* хромосоми з двома, однією та трьома хіазмами характерні як для крупних, так і дрібних хромосом. У гіbridної форми *R. esculenta* частота хіазм у порівнянні з батьківськими видами помітно зменшується, що, можливо, вказує на порушення нормального ходу мейозу. Частота хіазм гіbridної форми зі східної та південної частин України майже однакова, але типи хромосом відрізняються. У східному регіоні хромосоми гіybridної форми представлені двома або однією хіазмою, у південному — двома, однією або трьома хіазмами.

© Н.М. СУРЯДНА, 2004

Вступ. Порівняльна каріологія завжди була одним з прогресивних наукових методів еволюційно-генетичних досліджень, який успішно використовується такими важливими біологічними дисциплінами, як генетика, цитологія, систематика, і за допомогою нього можна виявити будь-які зміни числа хромосом та їх структури.

Особливий інтерес з цієї точки зору представляє видовий комплекс зелених жаб, до якого на території України входять два гібридизуючих види: озерна *R. ridibunda* Pall, 1771 та ставкова *R. lessonae* Camerano, 1882 жаби, а також гіbridна форма, якій деякі дослідники іноді надають статус виду — єстествена жаба *R. esculenta* Linnaeus, 1758 [1, 2]. Головною особливістю цього комплексу є напівклональне розмноження, тобто у мейозі, як правило, успадковується тільки один із батьківських геномів, і при схрещуванні гібридів або відтворюються батьківські види, або (при зворотному схрещуванні) знову утворюються гібриди, які у даному регіоні визначені як алодиплоїди [3, 4].

У попередній роботі нами детально вивчені міtotичні хромосоми та описані каріотипи зелених жаб з території України [5]. Метою даного дослідження є вивчення особливостей мейотичних хромосом батьківських видів зелених жаб та їх гіbridної форми. Головним завданням роботи було описати морфологію хромосом мейозу та визначити частоту хіазм бівалентів кожної генетичної форми.

Крім того, ми мали намір провести більш детальний аналіз каріотипу гіbridної форми з метою виявлення додаткових особливостей її мейотичних хромосом. Оскільки відтворення гіybridної форми *R. esculenta* на сьогодні не має досить чіткого цитогенетичного обґрунтування на рівні мейозу, будь-які додаткові результати відносно цього питання, на наш погляд, будуть представляти певний інтерес.

Матеріал і методи. Матеріалом для даного дослідження стали мейотичні хромосоми стадії діакінезу. Для аналізу використано 22 пластинки з бівалентами *R. esculenta* ($n = 13$, Одеська обл., Кілійський р-н, окол. м. Вилкове; Дніпропетровська обл., Новомосковський р-н, окол. с. Орловщина; Київська обл., Барішевський р-н, окол. м. Барішевка; Вінницька обл., Якушеницькі озера; Харківська обл., Зміївський р-н, с. Гайдари, р. Сів. Донець), 13 пластинок — *R. ridibunda* ($n = 6$, Запорізька обл.,

Мейотичні хромосоми зелених жаб...

Мелітопольський р-н, с. Тамбовка; Одеська обл., Ізмайлівський р-н, с. Ст. Некрасовка, о. Татару; Дніпропетровська обл., Новомосковський р-н, окол. с. Орловщина), 7 пластинок — *R. lessonae* ($n = 5$, Київська обл., Баришевський р-н, окол. м. Баришевка; Житомирська обл., окол. м. Житомира, р. Крошенка; Волинська обл., Ратнівський р-н, с. Заболоття). Видову приналежність визначали за зовнішньоморфологічними та каріологічними ознаками [5, 6].

Хромосомні препарати були приготовлені з сім'янників особин зелених жаб за методикою приготування препаратів з клітин кісткового мозку амфібій та забарвлені азур-еозином (за Романовським) [7]. Дослідження і фотографування проводили на мікроскопі «ЛЮМАМ-ІІ». Для обробки негативів використовували програму «Adobe Photoshop 6.0». Статистичну обробку проводили за допомогою програм «Statistica» та Microsoft «Excel».

Результати дослідження. Досліджені мейотичні хромосоми зелених жаб з'єднані на стадії діакінезу в 13 бівалентів. Останні представлені частіше двома, рідко однією або трьома хіазмами (рис. 1–3). Виділено дві групи — 5 крупних та 8 дрібних бівалентів, що відповідає морфології мітотичних хромосом. Міжвидове порівняння дозволило виявити особливості кожного таксону щодо кількості хіазм.

У *R. lessonae* частота хіазм має найбільше значення ($26,2 \pm 0,37$), середнє у *R. ridibunda* ($25,5 \pm 0,24$) та найменше ($24,7 \pm 0,25$) характерне для гіbridної форми *R. esculenta*. При перевірці достовірності відмінностей ($P = 0,05$) [8] виявилося, що за частотою хіазм гіbridна форма достовірно відрізняється від батьківських видів *R. lessonae* ($t = 2,13$) і *R. ridibunda* ($t = 3,64$), але між останніми різниця неістотна ($t = 0,19$).

Аналіз окремо кожної групи мейотичних хромосом показав, що як для крупних, так і для дрібних бівалентів гіybridної форми частота хіазм також має найменше значення і, відповідно, у *R. lessonae* — найбільше, у *R. ridibunda* — найменше (табл. 1).

Більшість крупних (90,2 %) і дрібних (96,2 %) хромосом *R. ridibunda* представлені двома хіазмами (кільцевидний тип біваленту) — 93,9 %. Більша частина мейотичних пластинок цього виду характеризується тільки такими хромосо-

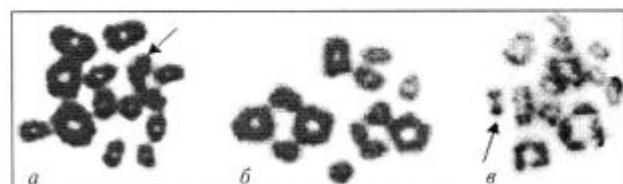


Рис. 1. Мейотичні хромосоми зеленої жаби *R. ridibunda*

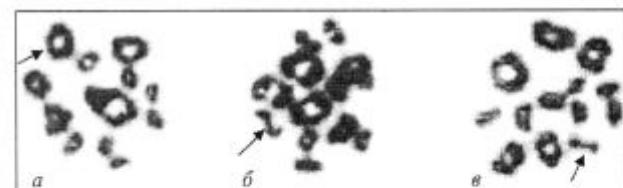


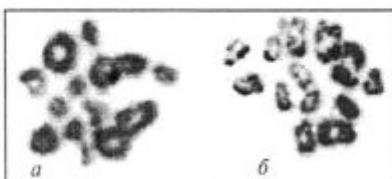
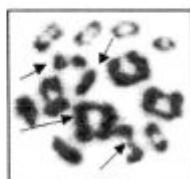
Рис. 2. Типи бівалентів ставкової жаби *R. lessonae*

мами (рис. 1, б). Рідко зустрічаються хромосоми з однією хіазмою (відкритий тип біваленту) — 4,4 % і вони в основному характерні для крупних бівалентів — 9,2 %, серед дрібних (відкритий тип біваленту) складає менше 2 % (рис. 1, а). Хромосоми з трьома хіазмами (біваленти типу «8») теж зустрічаються дуже рідко (1,7 %) і спостерігаються тільки у групі дрібних хромосом (рис. 1, в, табл. 2).

Мейотичні хромосоми *R. lessonae*, як і у *R. ridibunda*, з'єднані в діакінезі двома (92,8 %), однією (2,9 %) або трьома (4,3 %) хіазмами (табл. 2). З однією хіазмою у *R. lessonae* зустрічаються тільки серед групи дрібних хромосом (рис. 2, б). Їх відсоток від загального числа дрібних бівалентів дорівнює 5. Крупні хромосоми цього виду представлені тільки двома хіазмами (рис. 2, а). Три хіазми на бівалент (7,5 %) також

Таблиця 1
Частота хіазм мейотичних хромосом зелених жаб з території України

| Генетичні форми | Частота хіазм, $M \pm m$ | | |
|---|--------------------------|------------------|------------------|
| | Загальна | Крупні хромосоми | Дрібні хромосоми |
| <i>R. ridibunda</i> | $25,5 \pm 0,29$ | $9,5 \pm 0,14$ | $16,0 \pm 0,16$ |
| <i>R. lessonae</i> | $26,2 \pm 0,37$ | $10 \pm 0,00$ | $16,2 \pm 0,37$ |
| <i>R. esculenta</i> | $24,7 \pm 0,25$ | $9,2 \pm 0,12$ | $15,5 \pm 0,22$ |
| t-критерій | | | |
| <i>R. lessonae</i> — <i>R. esculenta</i> | | | 2,13 |
| <i>R. ridibunda</i> — <i>R. esculenta</i> | | | 3,64 |
| <i>R. ridibunda</i> — <i>R. lessonae</i> | | | 0,19 |

Рис. 3. Типи бівалентів гібридної форми *R. esculenta*Рис. 4. Мейотичні хромосоми гібридної форми *R. esculenta*: а — південний регіон; б — східний регіон

виявлені у групі дрібних хромосом (рис. 2, в), і зустрічаються вони частіше, ніж у *R. ridibunda*.

Мейотичні хромосоми гібридної форми *R. esculenta* (рис. 3) з двома хіазмами зустрічаються з частотою 85,7 % (рідше, ніж у вищеописаних видів). На відміну від батьківських видів у даної форми частіше спостерігаються біваленти з однією хіазмою — 11,8 %. Частота бівалентів з трьома хіазмами становить 2,5 %. Слід відзначити, що доля хромосом *R. esculenta* з трьома хіазмами має середнє значення, біваленти з однією хіазмою мають найбільший відсоток, а біваленти з двома — найменший у порівнянні з аналогічними показниками батьківських видів. Хромосоми з різною кількістю хіазм характерні як для крупних, так і для дрібних бівалентів, що спостерігається тільки у гібридної форми.

Відзначимо, що у *R. lessonae* і *R. ridibunda* хромосоми з різною кількістю хіазм зустрічаються на різних мейотичних пластинках, у той час як у *R. esculenta* такі біваленти ми можемо спостерігати на одній пластинці, тобто кожна мейотична пластинка гібридної форми може містити різні типи бівалентів.

При порівнянні мейотичних хромосом гібридної форми *R. esculenta* з різних регіонів України, а саме її східної (Харківська обл.) та пів-

денної (Одеська обл.) частини, виявилось, що частота хіазм має однакове значення як для східного ($25,25 \pm 0,48$), так і для південного ($25,33 \pm 0,33$) регіону, причому критерій не виходить за межі достовірності ($t = 0,13$). Але незважаючи на те, що частота хіазм майже однакова, типи хромосом дещо відрізняються. У гібридної форми, що мешкає у східному регіоні, більшість хромосом мають дві (96,2 %) або одну хіазму (3,8 %), у той час як хромосоми гібридної форми південного регіону більш різноманітні — мають дві (84,6 %), одну (10,3 %), а також три (5,1 %) хіазми (рис. 4).

Обговорення одержаних даних. В результаті проведеного дослідження нами встановлено, що для зелених жаб з території України характерно 13 бівалентів. Вони з'єднані в діакінезі двома, однією або трьома хіазмами. Відповідно до морфології міtotичних хромосом нами виділено дві групи хромосом — 5 крупних та 8 дрібних. В основному частота хіазм має більше значення у батьківських видів — *R. ridibunda* та *R. lessonae*. У гібридної форми (*R. esculenta*) кількість хіазм помітно зменшується. Цілком можливо, що два одинакових хромосомних набори будуть утворювати хіазми з досить низькою частотою.

Як ми вище згадували, гібридна форма утворюється шляхом гібридогенезу, або «кредитогенезу» [9, 10]. Також відомо, що у даному комплексі може відбуватися рекомбінація гібридної форми. Ці механізми видоутворення деякі дослідники тісно пов'язують з різними типами популяційної системи [11, 12]. Не виключено, що на ареалі *R. esculenta* для одних популяцій характерний кредитогенез, а у інших відбувається рекомбінація обох батьківських геномів. Тут ми не можемо не відзначити роботу іта-

Співвідношення наявності різної кількості хіазм у мейотичних хромосомах, %

| Кількість хіазм | Групи хромосом | | | | | | | | |
|-----------------|---------------------|--------|----------------|--------------------|--------|----------------|---------------------|--------|----------------|
| | <i>R. ridibunda</i> | | | <i>R. lessonae</i> | | | <i>R. esculenta</i> | | |
| | крупні | дрібні | загальне число | крупні | дрібні | загальне число | крупні | дрібні | загальне число |
| Одна | 9,2 | 1,9 | 4,4 | 0 | 5 | 2,9 | 14,6 | 10,3 | 11,8 |
| Дві | 90,8 | 96,2 | 93,9 | 100 | 87,5 | 92,8 | 83,6 | 86,9 | 85,7 |
| Три | 0 | 1,9 | 1,7 | 0 | 7,5 | 4,3 | 1,8 | 2,8 | 2,5 |

лійських вчених [13], які при досліджені хромосом типу лампових щіток в ооцитах гібридів (*R. epeirotica* × *R. ridibunda*, *R. ridibunda* × *R. esculenta*) встановили, що частота хіазм у бівалентах зменшується у порівнянні з батьківськими видами, отже відбувається рекомбінація батьківських геномів, тобто жоден з гібридів не є гібридогенетичним. Наші результати теж показують зменшення частоти хіазм, але ми не можемо з впевненістю стверджувати про наявність рекомбінації, бо на сьогодні відомо, що успадкування обох геномів у гібридної форми *R. esculenta* — явище досить рідкісне і може відбуватися лише у тому випадку, коли гібридна особина представлена гібридом F₁ [14, 15].

У роботі німецьких дослідників в результаті аналізу мейозу гібридних самців *R. esculenta* «гіпотеза виборчого виключення геному *R. lessonae*» [16] теж не була підтверджена. Однак ми не можемо спиратися на ці дані з точки зору порівняння зі своїми результатами, оскільки на той час, можливо, ще не було достатньо надійних діагностичних як генетичних, так і морфологічних ознак для визначення гібридної форми. На теперішній час багатьма методами доказано, що у Західній Європі рекомбінація батьківських геномів не відбувається [11, 17]. Крім того, частота рекомбінації самців зелених жаб мізерна у порівнянні з самками [18].

Отже, ми можемо зробити попередній висновок, що наші дані показують порушення нормального ходу мейозу гібридної форми, який проявляється у зниженні частоти хіазм.

Крім того, досить цікавим, на наш погляд, є те, що кожна проаналізована пластинка гібридної форми *R. esculenta* може бути представлена різними типами бівалентів, у той час як у батьківських видів біваленти з різною кількістю хіазм зустрічаються на різних мейотичних пластинках. Цей результат може свідчити про нестабільність процесу сперматогенезу у гібридної форми, оскільки відомо, що батьківські види мають значні генетичні відмінності [19].

Аналіз мейотичних хромосом гібридної форми *R. esculenta* зі східної та південної частин України не виявив тих чи інших закономірностей. Частота хіазм майже однакова, але типи хромосом дещо відрізняються. Так, у гібридної форми зі східного регіону хромосоми мають дві або одну хіазму, а з південного ре-

гіону — дві, одну та три хіазми на бівалент. Напевно це може бути пов'язано з різними типами популяційної системи комплексу зелених жаб. Вибірка з південної частини України представлена двома батьківськими видами і гібридною формою, а вибірка зі східної частини має гібридну форму та лише один батьківський вид — озерну жабу.

Висновки. Мейотичні хромосоми *R. ridibunda*, *R. lessonae* та їх гібридної форми *R. esculenta* з території України в основному представлені двома хіазмами. Хромосоми з однією хіазмою у *R. ridibunda* характерні тільки для крупних, у *R. lessonae* — тільки для дрібних. Три хіазми у батьківських видів представлені тільки дрібними хромосомами. У гібридної форми *R. esculenta* хромосоми з двома, однією та трьома хіазмами характерні як для крупних, так і для дрібних бівалентів, причому кожна її проаналізована пластинка може бути представлена різними типами бівалентів, у той час як у батьківських видів біваленти з різною кількістю хіазм зустрічаються на різних мейотичних пластинках. Можливо, ці відмінні особливості можуть стати діагностичними генетичними ознаками для батьківських видів та гібридної форми зелених жаб як з території України, так і для інших частин ареалу. У гібридної форми *R. esculenta* частота хіазм у порівнянні з батьківськими видами помітно зменшується, що, можливо, вказує на порушення нормального ходу мейозу. Частота хіазм гібридної форми зі східної та південної частин України майже однакова, але типи хромосом відрізняються. У східному регіоні хромосоми представлені двома або однією хіазмою, у південному — двома, однією або трьома хіазмами.

SUMMARY. In this work meiotic chromosomes of *R. ridibunda*, *R. lessonae* and their hybrid form *R. esculenta* of the Ukraine territory are described for the first time. These chromosomes are connected in diakinesis more often by two chiasma, rarely by one or three chiasma in 13 bivalents. Bivalents with one chiasma in *R. ridibunda* are typical only for large bivalents, in *R. lessonae* only for small ones. Three chiasma in parental species are typical only for small bivalents. In the hybrid form *R. esculenta* chromosomes with two, one and three chiasma are typical both for large bivalents, and for small ones. In the hybrid form (*R. esculenta*) chiasma frequency noticeably decreases, comparatively with parental species that, possibly, specifies the aberration of normal meiosis realization. The chiasma fre-

quencies of the hybrid form of the eastern and the southern parts of Ukraine are almost the same, but the types of chromosomes are different in such regions. In the eastern region chromosomes of the hybrid form are represented by two or one chiasma, in the southern region by two, one or three chiasma.

РЕЗЮМЕ. Впервые описаны мейотические хромосомы *R. ridibunda*, *R. lessonae* и их гибридной формы *R. esculenta* с территории Украины. Эти хромосомы соединены в диакинезе чаще двумя, редко одной или тремя хиазмами в 13 бивалентов. Биваленты с одной хиазмой у *R. ridibunda* характерны для крупных, у *R. lessonae* — для мелких. Три хиазмы у родительских видов характерны только для мелких хромосом. У гибридной формы *R. esculenta* хромосомы с двумя, одной и тремя хиазмами характерны как для крупных, так и для мелких хромосом. У гибридной формы *R. esculenta* частота хиазм по сравнению с родительскими видами заметно уменьшается, что, возможно, указывает на нарушение нормального хода мейоза. Частота хиазм гибридной формы из восточной и южной частей Украины почти не отличается, но типы хромосом — разные. В восточном регионе хромосомы гибридной формы представлены двумя или одной хиазмой, в южном — двумя, одной или тремя хиазмами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Цауне И. А. Кариосистематическое исследование зеленых лягушек комплекса *Rana esculenta* устья р. Лиелупе // Закономерности развития органического мира и научные основы его использования : Материалы V науч. конф. мол. ученых АН БССР. — Минск : Наука и техника, 1978. — С. 158—159.
- Berger L. Hybrids of B2 generation of European water frogs (*Rana esculenta* complex) // Ann. Zool. — 1976. — **33** (12). — P. 201—214.
- Berger L. Principles of studies of European water frogs // Acta zool. cracov. — 1988. — **31** (21). — P. 563—580.
- Морозов-Леонов С. Ю. Генетичні процеси в гібридних популяціях зелених жаб *Rana esculenta* L. complex України : Автореф. дис... канд. біол. наук. — Київ, 1998. — 16 с.
- Сурядна Н. Н. Материалы по кариологии зеленых лягушек (*Rana ridibunda* Pallas, 1771; *Rana lessonae* Camerano, 1882; *Rana esculenta* Linnaeus, 1758) с территории Украины // Вестн. зоологии. — 2003. — **37**, № 1. — С. 33—40.
- Таращук С. В. Схема морфометрической обработки представителей настоящих лягушек (Ranidae) : Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся // VII Всесоюз. герпетол. конф. — Киев, 1989. — С. 73—74.
- Макгрегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами животных. — М.: Мир, 1986. — С. 23—44.
- Лакин Г. Ф. Биометрия — М.: Высш. шк., 1968. — 287 с.
- Даревский И. С. Видообразование путем гибридизации у животных // Методы исследований в экологии и этологии. — Пущино, 1986. — С. 34—75.
- Tunner H. G. Die klonale Struktur einer Wasserfroschpopulation // Z. zool. Syst. und Evol. — 1974. — **12** (4). — P. 309—314.
- Vinogradov A. E., Borkin L. J., Gunther R., Rosanov J. M. Two germ cell lineages with genomes of different species in one and the same animal // Hereditas. — 1991. — **114**. — P. 245—251.
- Виноградов А. Е., Розанов Ю. М., Цауне И. А., Боркин Л. Я. Элиминация генома одного из родителей до премейотического синтеза ДНК у гибридогенного вида *Rana esculenta* // Цитология. — 1988. — **30**, № 6. — С. 691—697.
- Guerrini F., Bucci S., Raghianti M., Mancino G., Hotz H., Uzzell T.J., Berger L. Genomes of two water frog species resist germ line exclusion in interspecies hybrids // J. Exp. Zool. — 1997. — **279** (2). — P. 163—176.
- Vinogradov A. E., Borkin L. J., Günther R. Genome elimination in diploid and triploid *Rana esculenta* males: cytological evidence from DNA flow cytometry // Genome. — 1990. — **33**. — P. 619—627.
- Hotz H., Uzzell T. Interspecific hybrids of *Rana ridibunda* without germ line exclusion of a parental genome // Experientia. — 1983. — **39**, № 5. — P. 538—540.
- Günther R. Untersuchungen der Meiose bei Männchen von *Rana ridibunda* Pall., *Rana lessonae* Cam. und deren Bastardform «*Rana esculenta*» L. (Anura) // Biol. Zentr. — 1975. — **94** (3). — P. 277—294.
- Боркин Л.Я., Виноградов А.Е., Розанов Ю.М., Цауне И.А. Полуклональное наследование в гибридогенном комплексе *Rana esculenta*: доказательство методом проточной ДНК-цитометрии // Докл. АН СССР. — 1987. — **295**, № 5. — С. 1261—1264.
- Sumida M., Nishioka M. Sex-linked genes and linkage maps in amphibians // Comp. Biochem. Physiol. — 2000. — **125**, Part B. — P. 257—270.
- Heppich S. Hybridogenesis in *Rana esculenta*: C-band karyotypes of *Rana ridibunda*, *Rana lessonae* and *Rana esculenta* // Z. Zool. Syst. Evol. — 1978. — **16**. — P. 27—39.

Надійшла 12.06.03