

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА

СТРУС ВАСИЛИНА ОРЕСТІВНА

УДК: 597.581:575.17+591.9(577.8+577.54)

**МОРФОМЕТРИЧНЕ, ФЕНЕТИЧНЕ ТА ГЕНЕТИЧНЕ
РІЗНОМАНІТТЯ ЗЕЛЕНИХ ЖАБ (*PELOPHYLA*)
З РІЗНИХ ПОПУЛЯЦІЙНИХ СИСТЕМ**

03.00.08 – зоологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Львівському національному університеті імені Івана Франка
Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, доцент

Хамар Ігор Степанович,

Львівський національний університет імені Івана Франка

Міністерства освіти і науки України,

м. Львів

декан біологічного факультету

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, доцент

Шабанов Дмитро Андрійович,

Харківський національний університет

імені В. Н. Каразіна,

м. Харків

професор кафедри зоології та екології тварин

кандидат біологічних наук,

Гассо Віктор Якович

Дніпровський національний університет імені Олеся

Гончара, м. Дніпро

доцент кафедри зоології та екології

Захист відбудеться «__» _____ 2019 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 64.051.17 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-26

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий «__» _____ 2019 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

Ковальова М. К.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Загальновідомо, що земноводні групи зелених жаб здатні до гібридизації (Berger, 1964; Tunner, 1974). Європейська частина ареалу роду *Pelophylax* налічує 21 вид (American Museum of Natural History. Amphibian Species of the World 6.0, an Online Reference. *Pelophylax* Fitzinger, 1843), і ці види здатні між собою гібридизувати. Гібридизація зелених жаб є потенційно потужною силою еволюції, оскільки створює індивідів з генетичним поєднанням двох видів (Christiansen et al., 2009; Spolsky et al., 1986). На території України поширені два види: жаба озерна (*Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771)) і жаба ставкова (*Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882)) та їхній гібрид – жаба їстівна (*Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758)) (Berger, 1964; Tunner, 1974).

Систематичні дослідження зелених жаб на території України проводять з кінця XIX – початку XX ст. (Никольский, 1891; Браунер, 1904; Платонов, 1926; Терентьев и др., 1936; Хозацкий, 1950). Найбільш ретельно вивченою є територія сходу України, а саме Сіверсько-Донецький центр різноманіття зелених жаб (Шабанов и др., 2006; Коршунов, 2008; Кравченко, 2013; Dedukh et al. 2013; Усова, 2014; Hoffmann et al., 2015; Бірюк, 2017). Стосовно заходу України в літературі характерні фауністичні описи (Страутман та ін., 1958; Кушнирук, 1968; Татаринов, 1972, 1973, 1989; Горбань, 2003, 2007, 2009), які вказують на наявність і поширення зелених жаб на цій території. Під час вивчення популяцій зелених жаб заходу України такі класичні методи зоології, як морфометричний і фенетичний описи, не застосовані достатньо повно та залишають багато простору для роботи. Стосовно цієї території немає жодної роботи з оцінки генетичного різноманіття зелених жаб.

Будь-які системні дослідження починаються з опису поширення виду, його метричного та фенетичного різноманіття. Саме такий аналіз зелених жаб є актуальним на території заходу України. Отримавши такі фундаментальні дані, можна буде порівняти межі мінливості земноводних із інших описаних територій. Як з точки зору вивчення групи зелених жаб, так і для популяційної екології важливим є насичення досліджуваної території інформацією про поширення популяційних систем, їхню структуру, мінливість і зв'язок з середовищем проживання.

Саме тому наша робота має на меті описати морфометричне, фенетичне та генетичне різноманіття зелених жаб на території заходу України у поєднанні з вивченням генетичної структури геміклональних популяційних систем. Також значна частина дослідження присвячена комплексній оцінці впливу різних чинників (хімічне забруднення водойми, різні регіони походження, типи популяційних систем) на морфометричне та фенетичне різноманіття зелених жаб.

Дисертаційну роботу виконано на базі кафедри зоології біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

Мета та завдання досліджень. Метою роботи було оцінити морфометричне, генетичне та фенетичне різноманіття представників гібридогенного комплексу зелених жаб і встановити його залежність від регіону походження, типу популяційної системи та ступеня антропогенної трансформації оселищ.

Завдання досліджень:

1. На основі аналізу мікросателітних послідовностей ядерної ДНК описати генетичну мінливість у популяціях зелених жаб; проаналізувати видовий склад і генетичну структуру зелених жаб з різних водойм.

2. Обрати найінформативніші морфометричні проміри для характеристики різноманіття зелених жаб і встановити їхні характерні значення та цінність для визначення таксономічної групи, зрілості й статі особин; за діагностичними алелями мікросателітних локусів перевірити морфометричне визначення таксономічної належності досліджених особин.

3. Встановити вплив таксономічної належності, статі й зрілості особин на фенетичне різноманіття зелених жаб; описати фенотипи зелених жаб досліджуваної території.

4. Встановити вплив антропогенної трансформації та хімічного забруднення середовища на стан індикаторних ознак жаб, а також на стійкість їхнього розвитку, оцінену за стійкістю сперматогенезу жаби озерної.

5. Визначити залежність рівня різноманіття жаб від їхнього походження з одного або різних зоогеографічних районів, типів популяційних систем та категорій трансформованості оселищ.

Об'єкт дослідження – зелені жаби роду *Pelophylax*: жаба озерна – *Pelophylax ridibundus*, жаба ставкова – *Pelophylax lessonae* та гібридного походження жаба їстівна – *Pelophylax esculentus*.

Предмет дослідження – особливості морфометричного, фенетичного та генетичного різноманіття зелених жаб (*Pelophylax*) із різних типів популяційних систем.

Методи дослідження:

1. Польовий збір матеріалу для морфометричного, фенетичного та генетичного аналізу різноманіття, а також відбір проб води для аналізу її хімічного складу.

2. Камеральний морфогенетичний опис зібраного матеріалу.

3. Генетичний аналіз мікросателітної ДНК.

4. Статистичне опрацювання генетичного матеріалу з використанням пакетів програм GenePop 4.7.0, Micro-Checker, Structure 2.3.4, Structure Harvester, Clumpp, BAPS 6.0, NewHybrids1.1, GenAlEx 6.503.

5. Гідрохімічний аналіз відібраних проб води.

6. Каріологічний аналіз клітин сім'яників і кишківника жаби озерної.

7. Статистичне опрацювання матеріалу за допомогою t-test Стьюдента, тесту Колмогорова–Смірнова, тесту Краскела–Уолліса, дисперсійного аналізу, мультиномінальної (GLZ multinominal) і біномінальної (GLZ binomial) генералізованих лінійних моделей.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведене у роботі комплексне вивчення групи зелених жаб є першим дослідженням на території Львівської та Волинської областей.

Уперше проведено:

- аналіз різноманіття основних таксономічно важливих морфометричних і фенетичних ознак зелених жаб, відібраних із досліджуваної території;

- генетичний аналіз за десятима ядерними мікросателітними локусами зелених жаб із водойм Львівської та Волинської областей;
- аналіз генетичної структури популяцій земноводних, відібраних з смт Нижанковичі, Шацького національного природного парку та орнітологічного заказника «Чолгинський»;
- оцінку сперматогенезу самців жаби озерної, відібраних із водойм, різних за класом якості води;
- аналіз компонентів різноманіття зелених жаб.

Встановлено:

- поширення популяцій батьківських видів і геміклональних популяційних систем (ГПС) на території Львівської та Волинської областей;
- генетичну структуру популяції жаби озерної, відібраної з смт Нижанковичі;
- генетичну структуру ГПС зелених жаб, відібраних із водойм Шацького національного природного парку та орнітологічного заказника «Чолгинський»;
- поширені фенотипи зелених жаб, відібраних із водойм Львівської та Волинської областей;
- що якість води у водоймі не впливає на стійкість сперматогенезу та корелює із розміром сім'яників самців жаби озерної;
- що передавання клонального геному в межах геміклональної популяційної системи не сприяє морфометричному та фенетичному різноманіттю гібридних особин.

Уперше з'ясовано:

- генетичне різноманіття зелених жаб, відібраних із водойм смт Нижанковичі, Шацького національного природного парку та орнітологічного заказника «Чолгинський»;
- морфометричне та фенетичне різноманіття зелених жаб, відібраних на території Львівської та Волинської областей;
- типи популяційних систем, поширених у водоймах із різним рівнем антропогенного навантаження.

Перевірено:

- точність визначення таксономічної належності особин групи зелених жаб (за допомогою аналізу мікросателітної ДНК) з використанням морфофенетичних ознак;
- вплив таксономічної належності, статевої зрілості й статі особин на прояв фенетичних ознак;
- вплив географічного розташування, особливостей оселищ і складу популяційних систем на різноманіття зелених жаб.

Підтверджено:

- діагностичну вагомість мікросателітних локусів *Rrid059A* та *RIcA1b5* для визначення видової належності ставкової та озерної жаб;
- трапляння жаби ставкової у водоймах із низьким рівнем антропогенного навантаження;
- припущення щодо найбільшої поліморфності жаби озерної та найменшого фенетичного різноманіття жаби ставкової.

Здійснено порівняння:

- морфометричного та фенетичного різноманіття зелених жаб, відібраних із водойм Львівської, Волинської областей і Сіверсько-Донецького центру різноманіття зелених жаб (Харківська область);
- стійкості сперматогенезу у самців жаби озерної, відібраних із водойм з різним класом якості води;
- різноманіття зелених жаб, відібраних із водойм з різним хімічним складом води, з різних оселищ, зоогеографічних районів та типів популяційних систем.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані під час роботи результати представляють важливе значення для вдосконалення та розроблення сучасних загальнобіологічних теорій гібридного утворення видів. Також описані результати морфометричного, фенотипного та алельного різноманіття можна використовувати для встановлення видової належності особин групи зелених жаб. Частина матеріалу зберігається в колекціях Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка. Теоретичні та практичні результати роботи використовують у викладанні загальних курсів зоологія хордових, екологія, великий практикум з зоології Львівського національного університету імені Івана Франка. Також результати роботи використовуються при проведенні навчальних практик із зоології, навчальних практик із зоології хордових та виробничих практик (III курс бакалаврат та I курс магістратура) Львівського національного університету імені Івана Франка (підтверджено актом впровадження).

Біоетична експертиза. Внаслідок проведення експертизи комісія з біоетики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка дійшла висновку, що дослідження, представлені у дисертації Струс В.О. «Морфометричне, фенетичне та генетичне різноманіття зелених жаб (*Pelophylax*) з різних популяційних систем», відповідають вимогам Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.1986 р.) і положенням з питань етики Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 1.03.2012 р.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем була зібрана значна частина матеріалу. З використанням сучасних статистичних методів аналізу здійснено обробку цього матеріалу. Написання публікацій і їхнє оформлення були здійснені дисертанткою особисто або за її безпосередньою участю.

Деякі публікації, що представляють розглянуті в дисертації теми, підготовані спільно з доц. к.б.н. І. С. Хамаром, доц. к.б.н. О. С. Решетиллом, с.н.с., к.б.н. М. М. Белоконом, с.н.с., к.б.н. Ю. С. Белоконом, к.б.н. Ю. М. Струсом, доц. к.б.н. І. В. Диким, к.б.н. Ю. М. Забитівським, доц. к.б.н. М. О. Кравченко, ст. викладачем к.б.н. О. В. Коршуновим, к.б.н. О. В. Бірюк, аспіранткою О. В. Мелешко, аспірантом Б. О. Андрійшин, студенткою М. В. Поворозник, студенткою А-А. О. Осієвою, студенткою Е. С. Пустоваловою, студенткою А. А. Бобровою, студентом Д. В. Єрмаковим, студенткою К. С. Тарасенко, студенткою К. Р. Степаненко.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були представлені на VIII, IX, XI і XII Міжнародних конференціях студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2012, 2013, 2015, 2016); VIII, IX і XI наукових конференціях «Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного

природного парку» (Львів, 2012, 2013, 2015); XII і XIII наукових конференціях «Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій» (Львів, 2016, 2017); науковій конференції «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии» (Ростов-на-Дону, 2013); Всеукраїнській зоологічній конференції «Фауна України на межі XX-XXI ст. Нові концепції зоологічних досліджень» (Харків, 2017); IX Міжнародній науковій конференції Zoocenosis–2017 «Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах» (Дніпро, 2017); Всеукраїнській науковій конференції, присвяченій 60-річчю функціонування високогірного біологічного стаціонару «Пожижевська» імені Костянтина Малиновського «Значення та перспективи стаціонарних досліджень для вивчення та збереження біорізноманіття» (Львів, 2018).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 21 наукову роботу, з яких – 7 статей (5 статей у виданнях, які входять до переліку наукових фахових видань України, 1 стаття у виданні, що входить до наукометричної бази Scopus, 1 стаття, яка додатково відображає наукові результати дисертації) та 14 тез наукових конференцій.

Структура й обсяг дисертації. Дисертаційна робота містить вступ, 8 розділів, висновки, список використаних джерел і 16 додатків. Повний обсяг роботи 376 сторінок (15,7 д.а.). Обсяг загального тексту дисертації 166 сторінок (6,8 д.а.). Робота ілюстрована 14 таблицями та 70 рисунками. Список використаних джерел містить 368 найменувань, із них 133 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** надається обґрунтування вибору теми дослідження, сформовано мету та поставлено завдання. Також наведено наукову новизну отриманих результатів та їхню практичну цінність, особистий внесок і публікації автора та наведено дані про впровадження результатів роботи.

В **огляді літератури** проводиться аналіз літературних джерел щодо історії досліджень, біології, екології, таксономії та класифікації зелених жаб. Проаналізовано дані щодо відтворення гібридних жаб та формування геміклональних популяційних систем (ГПС). У розділі описано характерні морфи зелених жаб, як імовірні індикатори забруднення водойм та проаналізовано можливості й використання сучасних генетичних методів у вивченні популяційної генетичної структури зелених жаб Європи.

Характеристика території досліджень. Відбір матеріалу проводили на території Львівської, Волинської та, для порівняння, Харківської областей (рис. 1). У роботі основними локалітетами відбору особин земноводних вибрано такі, що належать до чотирьох різних зоогеографічних районів, а саме: Поліський, Розточансько-Подільський, Лісостеповий, Карпатський (Решетило, 2013). Поліський район представлений трьома водоймами, а саме: озерами Пісочне, Луки та Світязь. Розточансько-Подільський район представлений водоймами ділянки Малеого Полісся – сіл Жовтанці й Перекалки, та водоймами Розточансько-Опільської ділянки – смт Івано-Франкове, смт Великий Любін і с. Чолгині. Лісостеповий район представлено водоймами Сіверсько-Донецького центру різноманіття зелених жаб, а саме: Коряків яр, Іськів став і заплава р. Сіверський Донець (околиці с. Гайдари, Зміївський р-н., Харківська обл.) (ці водойми компактно розташовані (Шабанов, 2014)). Карпатський

район представлений водоймами Західної передгірської ділянки, а саме смт Нижанковичі (рис. 1).

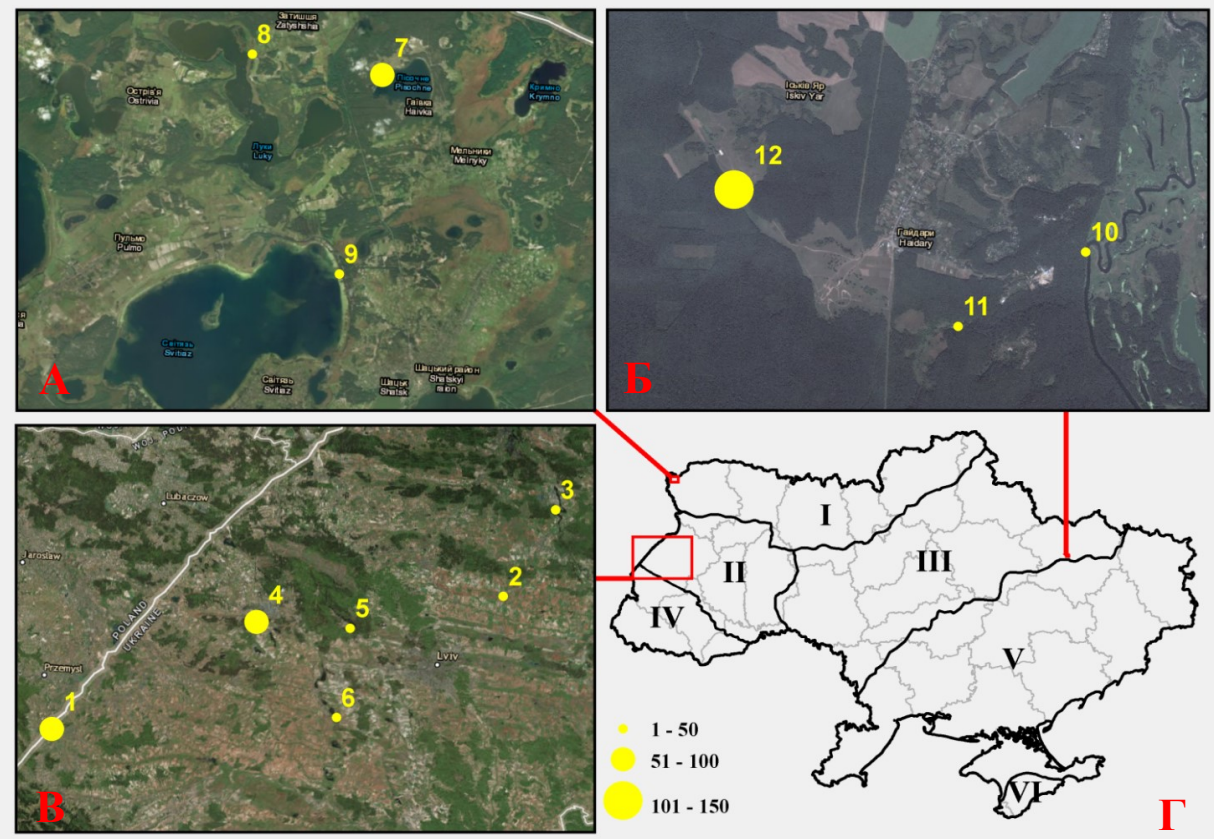


Рис. 1 Територія досліджень (А, Б та В) і зоогеографічне районування України (Г) (джерело меж зоогеографічних районів: Решетило О. С., 2013 та Національний атлас України, 2007): I – Поліський район, II – Розточансько-Подільський район, III – Лісостеповий район, IV – Карпатський район, V – Азово-Чорноморський степовий район, VI – Євксинський район. Точки відповідають місцям відлову та показують розмір вибірки: 1 – смт Нижанковичі, 2 – с. Жовтанці, 3 – с. Перекалки, 4 – с. Чолгині, 5 – смт Івано-Франкове, 6 – смт Великий Любінь, 7 – оз. Пісочне, 8 – оз. Луки, 9 – оз. Світязь, 10 – р. Сіверський Донець, 11 – Коряків яр, 12 – Іськів став

Ділянки, де відбирали матеріал, названо населеними пунктами, на території яких (або поруч) розташовані водойми (рис. 1). Земноводні відібрані з водойм із різним антропогенним навантаженням, а саме: ставки загального користування (смт Нижанковичі та с. Жовтанці, Львівська обл.); хвостосховища сірчаних кар'єрів (орнітологічний заказник «Чолгинський», с. Чолгині, Львівська обл.); канал зі стоками Добротвірської ТЕС (с. Перекалки, Львівська обл.); стави риборозплідних господарств (смт Великий Любінь та Івано-Франкове, Львівська обл.); водні об'єкти природно-заповідного фонду (озера Пісочне, Луки, Світязь (Шацький національний природний парк, Волинська обл.)), заплава річки Сіверський Донець, Іськів став і Коряків яр (Національний природний парк «Гомільшанські ліси», Харківська обл.).

Методи та матеріали дослідження. Земноводних відбирали за допомогою сачка та вручну. Кожну особину було визначено за комплексом

морфофенотипних ознак (Коршунов, 2010; Кравченко, 2013; Шабанов, 2014) та частково з використанням аналізу мікросателітної ДНК (Holm, 1979; Garner et al., 2000; Zeisset et al., 2000). Далі проводили опис за 24-ма морфометричними промірами (Банников и др., 1977; Лада и др., 1999; Борисовский и др., 2000; Куртяк, 2004; Сурядна, 2005; Писанець, 2007) та 11-ма фенотипними морфами (дорзомедіальна смуга; плямистість верхньої частини тіла; забарвлення спини, черева та горла; структура шкіри; рисунок задніх кінцівок; смуги на морді; колір звукового резонатора; наявність жовтих плям на гомілках і колір очей) (Платонов, 1926; Пашенко, 1955; Таращук, 1959; Ищенко, 1978; Некрасова, 2002; Сурядна, 2005; Шабанов и др., 2006; Микитинець та ін., 2007; Кравченко, 2012). У кожній особини відібрано слину для аналізу мікросателітної ДНК (Holm, 1979; Garner et al., 2000; Zeisset et al., 2000). Також паралельно з відловом земноводних відбирали проби води для аналізу хімічного забруднення досліджуваних водойм (Алекин, 1970). Усі аналізовані водойми було класифіковано за хімічним складом води на різні класи якості води (Романенко та ін., 2001). З кожного класу якості води відібрано самців жаби озерної для аналізу стійкості сперматогенезу (Бірюк, 2017). У Microsoft Office Excel 2010 було сформовано бази даних. Усі результати опрацьовано з використанням статистичних методів за допомогою цього ж програмного пакету, а також програмного пакету Statistica 8.0 фірми StatSoft і статистичного пакету R (Халафян, 2007; Quinn, et al., 2002). Генетична частина матеріалу аналізована з використанням програм GenePop 4.7.0 (Raymond et al., 1995; Rousset, 2008), Micro-Checker (van Oosterhout et al., 2004), Structure 2.3.4 (Pritchard, et al., 2000; Falush et al., 2007), Structure Harvester (Earl et al., 2012), Clumpp (Jakobsson et al., 2007), BAPS 6.0 (Corander et al., 2006, 2008, 2013), NewHybrids 1.1 (Anderson et al., 2002), GenAlEx 6.503 (Peakall et al., 2006, 2012).

Загалом відловлено 587 особин зелених жаб: жаба озерна – *Pelophylax ridibundus* (n=251), жаба ставкова – *Pelophylax lessonae* (n=69) та жаба їстівна – *Pelophylax esculentus* (n=267). Для аналізу стійкості сперматогенезу із водойм з різною якістю води відібрано 12 самців жаби озерної. Проаналізовано 950 метафазних пластинок клітин сім'яників жаби озерної. Із 91-ї особини виділено ДНК та проаналізовано за 10-ма ядерними мікросателітними локусами (Holm, 1979; Garner et al., 2000; Zeisset et al., 2000).

Результати дослідження та їхнє обговорення

Генетичне різноманіття зелених жаб *Pelophylax esculentus* complex. Аналіз мікросателітної ДНК проведено у 30 особин жаби озерної, відібраних із водойм смт Нижанковичі, 41 особини – із водойм орнітологічного заказника «Чолгинський» та 20 особин із Шацького національного природного парку. Для аналізу генетичного різноманіття зелених жаб ми вибрали 10 найбільш поширених і часто використовуваних локусів: *Rrid059A*, *Rrid082A*, *Rrid171A*, *RIcA1b5*, *RIcA18*, *RIcA19*, *Res5*, *Res14*, *Res16*, *Res22* (Garner et al., 2000; Zeisset et al., 2000; Hotz et al., 2001; Primmer et al., 2002; Hermaniuk et al., 2004; Pruvost et al., 2013; Doležálková et al., 2016, 2018; Herczeg et al., 2017). Алелі трьох з них (*Rrid059A*, *RIcA1b5*, *RIcA18*) за літературними даними описані як видоспецифічні (Hotz et al., 2001; Hermaniuk et al., 2004; Pruvost et al., 2013; Doležálková et al., 2016, 2018).

На досліджуваній території виявлено три видоспецифічні локуси. Це алель 103 п.о. локусу *Rrid059A* (для жаби ставкової), 123 п.о. локусу *RLCA1b5* (для жаби ставкової) та null-алель локусу *RLCA18* (для жаби озерної). Зважаючи на наявність у особин батьківських видів жаб нетипових алелей діагностичних локусів, описаних у літературних джерелах, нами було проведено уточнення таксономічної належності кількох особин зелених жаб.

Популяційна структура, аналізована за допомогою програм Structure 2.3.4 та BAPS 6.0, є подібною незалежно від кількості *K* (кількість кластерів, які виявляє програма). Найменш різноманітною є вибірка з смт Нижанковичі, де наявна виключно жаба озерна. Вибірка із орнітологічного заказника «Чолгинський» проявляє найбільшу внутрішньопопуляційну генетичну різноманітність. Менш різноманітною є вибірка із Шацького національного природного парку.

У вибірці із водойм орнітологічного заказника «Чолгинський», виявлено дві особини (№ 45, 75) гібридного походження першого покоління та три беккриси (рис. 2), два з яких – від схрещування з жабою озерною (№ 61, 64) та один – від схрещування з жабою ставковою (№ 69). Незважаючи на наявність гібридів у вибірці, більша її частина утворена чистими батьківськими видами. Очевидно, гібридизація зелених жаб на цій території є відносно недавнім явищем, або ж схрещування особин батьківських видів не завжди дає життєздатних гібридних особин, що цілком відповідає літературним даним (Berger et al., 1994; Plötner, 2005).

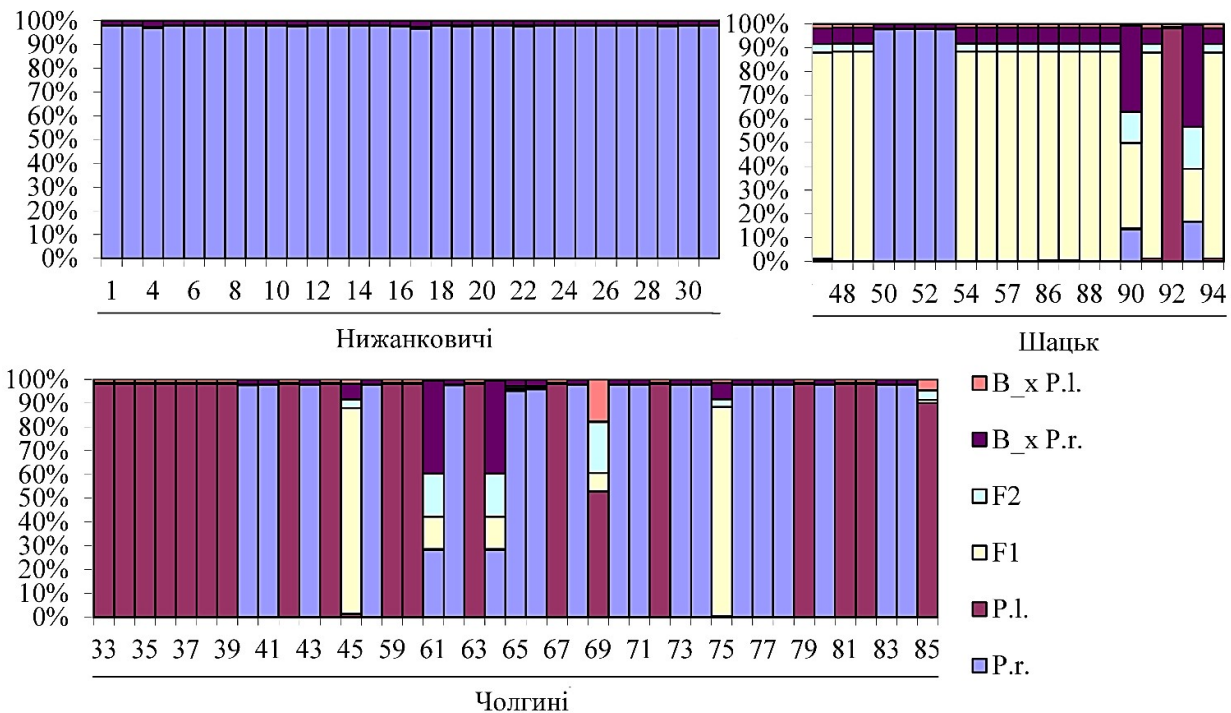


Рис. 2 Гістограма побудована із використанням NewHybrids 1.1 на результатах аналізу двох локусів (*Rrid095A* і *RLCA1b5*) особин, відібраних із водойм смт Нижанковичі, орнітологічного заказника «Чолгинський» і водойм Шацького національного природного парку (Шацьк). Різними кольорами на графіку представлено виділені програмою класи (P. r. – жаба озерна; P. l. – жаба ставкова; F1 – гібриди першого покоління; F2 – гібриди другого покоління; B_x P.r. – беккриси із жабою озерною; B_x P.l. – беккриси із жабою ставковою)

Діаметрально протилежна картина розподілу таксонів і гібридів у вибірці із водойм Шацького національного парку (оз. Пісочне та оз. Луки) – очевидною відмінністю є переважання гібридів першого покоління (№ 47-49, 54-58, 86-89, 91, 94) та беккросів із жабою озерною (№ 90, 93) над батьківськими видами (№ 50-53 – жаба озерна та № 92 – жаба ставкова) (рис. 2). Подальша доля двох згаданих геміклональних популяційних систем залежить від геному, який передається напівклонально (можливі варіанти клональних геномів: (R), (L) і одночасна наявність обох варіантів – (R) та (L)); від здатності до виживання особин батьківського виду, геном якого передається клонально (явище гібридолізу); від життєздатності гібридних особин; від можливих зовнішніх підмішувань та інше (Plötner, 2005; Кравченко и др., 2008).

Морфометричне різноманіття зелених жаб *Pelophylax esculentus* complex. Досліджувані локалітети містять різний таксономічний склад зелених жаб, утворюючи таким чином різні типи ГПС. Нами виявлено популяції жаби озерної у смт Нижанковичі, с. Перекалки та смт Івано-Франкове; RE-тип ГПС наявний у водоймах с. Жовтанці; R-E-Et-тип ГПС наявний у водоймах Коряків яр, заплаві р. Сіверський Донець та Іськів став; LE-тип виявлено в оз. Світязь; R-E-L-тип наявний у водоймах смт Великий Любінь, оз. Луки, оз. Пісочне та с. Чолгині.

Виявлено, що особини виду жаба озерна є найбільшими за довжиною тіла (табл. 1). Значно меншими є особини жаби ставкової. Особини жаби їстівної у своїх середніх значеннях довжини тіла займають проміжне місце між батьківськими видами, що відповідає тенденціям, описаним у літературі (Банников и др., 1977; Щербак и др., 1980; Борисовский и др., 2000; Писанець, 2007; Сурядна и др., 2008).

Таблиця 1

Середні значення довжини тіла (L.) досліджених таксономічних груп

Таксономічна група		n	M±m (мм)	Min-max (мм)	σ
Загальне	<i>P. ridibundus</i>	251	71,3±1,1	29,0 – 123,0	18
	<i>P. lessonae</i>	69	60,0 ±2,1	24,0 – 90,0	17,8
	<i>P. esculentus</i>	264	65,9±0,7	26,0 – 98,0	11,5
Самці	<i>P. ridibundus</i>	132	76,0±0,9	42,0 – 99,0	10,8
	<i>P. lessonae</i>	33	63,3±2,6	34,0 – 90,0	14,8
	<i>P. esculentus</i>	191	67,9±0,5	43,0 – 87,0	6,7
Самиці	<i>P. ridibundus</i>	93	74,4±1,8	43,0 – 123,0	17,8
	<i>P. lessonae</i>	21	69,2±2,1	43,0 – 81,1	9,8
	<i>P. esculentus</i>	49	71±1,4	51,0 – 98,0	10,1
Нестатевозрілі	<i>P. ridibundus</i>	26	36,5±1,4	29,0 – 55,0	7,2
	<i>P. lessonae</i>	15	35,2±2,5	24,0 – 60,0	9,6
	<i>P. esculentus</i>	24	40,1±2,3	26,0 – 57,0	11,1

Для зменшення кількості промірів без втрати їхньої інформативності проведено аналіз головних компонент (РСА) (Халафян, 2007), і на його

результатах сформовано 23 індекси. Також проаналізовано 40 індексів, які найчастіше описані в літературних джерелах (Банников и др., 1977; Таращук, 1985; Борисовский и др., 2000; Некрасова и др., 2001; Куртяк, 2004; Сурядна, 2005; Писанець, 2007; Микитинець и др., 2007; Ремінний, 2007; Межжерин и др., 2009; Стах та ін., 2014). Виявлено значущу різницю середніх значень між самцями та самицями за індексами L.c./L. і D.q./L. На відмінність між таксономічними групами вказують такі індекси як T./L. і D.q./L.

Під час аналізу різноманіття двох поширених індексів зелених жаб, а саме D.p./L.t.ci. та T./L.t.ci., виявлено збереження загальних тенденцій із тими, що описані у літературі (Таращук, 1985; Лада и др., 1999; Борисовский и др., 2000; Некрасова, 2002; Куртяк, 2004; Сурядна, 2005; Plötner, 2005; Писанець, 2007; Socha et al., 2010; Kierzkowski et al., 2013; Соболенко, 2014) – максимальними є середні значення описаних індексів у особин жаби озерної, тоді як мінімальними – такі ж середні значення у жаби ставкової. Середні значення індексів гібридних особин займають проміжне місце між батьківськими видами (рис. 3).

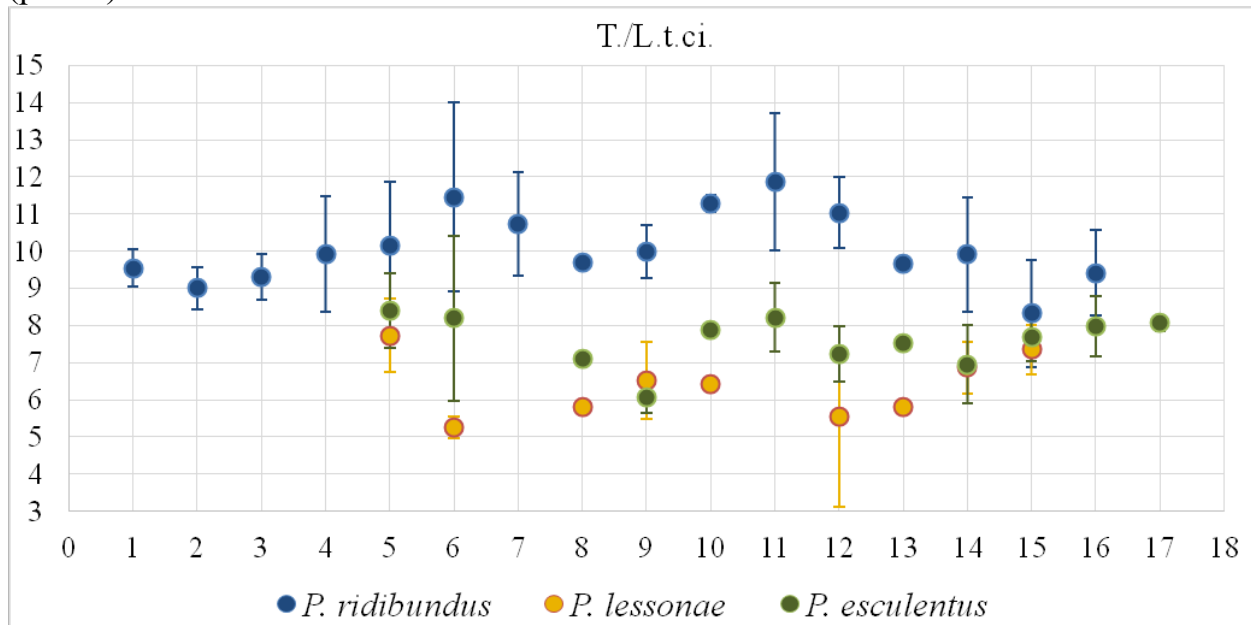


Рис. 3 Середні значення індексу T./L.t.ci. та його стандартна похибка у особин жаби озерної, відібраних із різних локалітетів: 1 – колишня Югославія (Hotz et al., 1982); 2 – Греція (Hotz et al., 1982); 3 – Албанія (Plötner, 2005); 4 – Болгарія (Plötner, 2005); 5 – Румунія (Plötner, 2005); 6 – Німеччина (Plötner, 2005); 7 – Угорщина (Plötner, 2005); 8 – Удмуртія РФ (Борисовский и др., 2000); 9 – Пензенська обл. РФ (Ермаков и др., 2013); 10 – південний берег Балтійського моря (Kierzkowski et al., 2013); 11 – долина річки Барч, пд-зх Польща (Socha et al., 2010); 12 – Західне Поділля (Соболенко, 2014); 13 – Київ (Некрасова, 2002); 14 – Львівська обл. (результати роботи); 15 – Волинська обл. (результати роботи); 16 – Харківська обл. (результати роботи); 17 – Закарпатська низовина (Куртяк, 2004)

Під час визначення таксономічної належності зелених жаб індекс задньогомілкових зчленувань (F./T.) використовують у комплексі з іншими морфофенотипними ознаками (Банников и др., 1977; Писанець, 2007). Оскільки частина вибірки була проаналізована з використанням мікросателітного аналізу

ДНК, ми перевірили точність використання індексу F./T. для визначення виду особин зелених жаб. Встановлено, що індекс F./T. є інформативним у визначенні таксономічної належності особин, оскільки за його допомогою таксономічна належність 70 % особин ($n=66$; $p<0,05$) була підтверджена аналізом мікросателітної ДНК.

Фенетичне різноманіття зелених жаб *Pelophylax esculentus* complex. У роботі було виділено чотири основні групи фенотипних ознак зелених жаб. Це фенотипні ознаки голови (колір очей, смуги на морді, колір резонаторів у самців), дорзальної частини тіла (дорзомедіальна смуга, забарвлення спини, плямистість верхньої частини тіла, структура шкіри), вентральної частини тіла (забарвлення горла та черева) і задніх кінцівок (рисунок задніх кінцівок, жовті плями на боках тулуба та стегнах) (табл. 2). Для оцінки різноманіття аналізованих фенотипних ознак було проведено аналіз частоти трапляння фенів цих ознак. Також проведено аналіз (за допомогою тесту Краскела–Уолліса) прояву станів досліджуваних ознак залежно від таксономічної належності, статевої зрілості та статі особини (табл. 2).

Таблиця 2

Прояв фенотипних ознак зелених жаб залежно від таксономічної належності, статевої зрілості та статі особини, аналізований за допомогою тесту Краскела–Уолліса

Фен	Таксономічна належність		Статева зрілість		Стать	
	Н	р	Н	р	Н	р
Смуги на морді	14,7	<0,004	14,4	<0,001	24,4	<0,01
Колір очей	117,0	<0,001	0,1	1,000	22,0	<0,001
Колір резонаторів у самців	152,5	<0,001	-	-	-	-
Дорзомедіальна смуга	1,6	0,449	7,3	<0,041	7,9	<0,005
Забарвлення спини	76,7	<0,001	0,02	1,000	4,1	0,131
Плямистість верхньої частини тіла	70,3	<0,001	15,7	<0,001	15,8	<0,002
Структура шкіри	35,0	<0,001	34,7	<0,001	49,6	<0,001
Забарвлення черева	101,8	<0,001	18,4	<0,001	74,4	<0,001
Забарвлення горла	98,1	<0,001	0,6	1,000	58,8	<0,001
Рисунок задніх кінцівок	18,5	<0,003	6,2	0,051	10,6	<0,015
Жовті плями на боках тулуба та на стегнах	128,1	<0,001	7,3	<0,041	12,6	<0,007

Примітки: Жирним шрифтом виділено значення тесту Краскела–Уолліса та рівень значущості (з поправкою Бонфероні–Холма) впливу аналізованого фактора на прояв ознаки. Чим більше значення тесту, тим сильніший вплив фактора на прояв ознаки; Н – значення критерію Краскела–Уолліса, р – рівень значущості

Завдяки аналізу фенетичного різноманіття встановлено, що резонатор у самців жаби озерної має широку палітру кольорів від чорного до білого, проте 96 % ($n=132$) особин мають резонатори темних відтінків. Морда у цього виду зі смугами (89 %; $n=251$), а очі золотисто-коричневі (77 %; $n=251$). Це найбільш поліморфний вид групи зелених жаб за кольорами забарвлення спини. Шкіра у

жаби озерної гладка, і 90 % особин мають дорзомедіальну смугу. Найчастіше (95 %) трапляються особини з темними плямами на спині. Черево та горло зазвичай темні (65 % – темне черево та 66 % – темне горло). Жовтих плям на боках тулуба та стегнах немає (56 %). Рисунок задніх кінцівок утворений переривчастими поперечними смугами (51 %).

Резонатор у самців *P. lessonae* зазвичай білий (50 %; n=33) чи сірий (46 %), очі яскраво-жовті (72 %; n=69). Особини трапляються тільки з дорзомедіальною смугою (100 %). За забарвленням спини цей вид є менш різноманітним, ніж жаба озерна, і трапляється зазвичай із відтінками зеленого (88 %). Шкіра гладка, а спина частіше з дрібними рідкими плямами (58 %). Черево та горло практично у рівному співвідношенні бувають темним і світлим (світле черево 48 % : темне черево 52 %; світле горло 42 %: темне горло 58 % (n=69)). На стегнах і на боках тулуба є жовті плями (90 %), а рисунок задніх кінцівок утворений переривчастими поперечними смугами (49 %) та інколи плямами (38 %).

Особини *P. esculentus* часто мають перехідні стани ознак. Резонатор у більшості самців білого кольору (75 %; n=194). Морда частіше зі смугами (76 %; n=297), очі зазвичай яскраво-жовті (71 %). У більшості на спині є дорзомедіальна смуга (98 %), колір спини різноманітніший, ніж у жаби ставкової, і часто трапляються комбінації із зеленої спини та коричневих передніх лап, світло-зеленої голови, яка переходить у коричневе забарвлення спинної частини тіла. Спина часто з дрібними та дрібними рідкими плямами (разом 91 %), шкіра *P. esculentus*, на відміну від батьківських видів, частіше шерехата (57 %). Черево та горло зазвичай світлі (79 % та 76 %, відповідно). На стегнах та на боках тулуба є жовті плями (89 %), а на задніх кінцівках переважають переривчасті поперечні смуги (тільки гібриди не мають винятків за цією ознакою) та смуги (67 %).

Вплив хімічного складу води на прояв фенетичних ознак і стійкість сперматогенезу самців *Pelophylax ridibundus*. Для оцінки впливу умов середовища, у якому проживає особина, на прояв фенотипних ознак нами використано статевозрілих особин виду *P. ridibundus*. Цей вид є найбільш поширеним і найпластичнішим у виборі середовища існування та найбільш толерантним до забруднення середовища (Банников и др., 1985; Белова, 2009; Жалай, 2007; Зарипова и др., 2009; Марченковська, 2009; Михайлова та ін., 2011; Ручин и др., 2009), саме тому використання його як модельного є доцільним.

З кожної водойми відбирали проби води та проводили аналіз хімічних компонентів. За допомогою отриманих результатів хімічного складу водойм, використовуючи екологічні нормативи якості поверхневих вод суші та естуаріїв України (Романенко та ін., 2001), нами класифіковано за якістю води водойми, з яких відбирали земноводних (табл. 3). Дані про хімічний склад води Шацького національного природного парку, а саме озер Пісочне, Луки та Світазь, використано з літературних джерел (Ситник та ін., 2008, 2009). Вибірки з Іського ставу, Корякового яру та заплави р. Сіверський Донець об'єднано під назвою «Не встановлено», оскільки відбір проб води на території цих водойм не проводили.

За допомогою мультиномінальної (GLZ multinomial) та біномінальної (GLZ binomial) генералізованих лінійних моделей (Quinn et al., 2002; Korner-Nievergelt et al., 2015) виявлено, що плямистість верхньої частини тіла ($p < 0,04$), структура шкіри

($p < 0,03$), забарвлення горла ($p < 0,01$), смуги на морді ($p < 0,03$) та рисунок задньої кінцівки ($p < 0,01$) – це ознаки, прояв яких залежить від якості води та від статі одночасно.

Таблиця 3

**Класифікація якості води аналізованих водойм Львівської області
та Шацького національного природного парку**

Територія	оз. Луки	оз. Пісочне	оз. Світязь	сmt Нижанковичі	сmt Великий Любінь	сmt Івано- Франкове	с. Чолгін	с. Жовтанці	с. Перекалки
Клас якості води	II	II	II	II	II	II	III	III	III
Назва категорії за ступенем чистоти (забрудненості)	Чисті			Досить чисті			Слабо забруднені		

Детальний аналіз частоти трапляння станів вищезгаданих фенотипних ознак, не виявив специфічної залежності у прояві від хімічного забруднення води.

Оскільки наші результати не завжди відповідають описаним у літературних джерелах (Hotz et al., 2001; Зарипова и др., 2009; Корж и др., 2014; Meleshko et al., 2014), ми висуваємо два альтернативних припущення: *забруднення середовища впливає на організм і не відображається у фенотипі* (для підтвердження цієї гіпотези необхідно провести додатковий аналіз стійкості сперматогенезу, оскільки він дуже чутливий до несприятливих умов (Байтимирова, 2013; Шабанов, 2014)); *забруднення середовища впливає на організм, проте відповідь з'являється за більшого забруднення* (аналізовані локалітети належать до другого і третього класів (табл. 3) якості води з 5-ти відомих (Романенко та ін., 2001), таким чином вказуючи на придатні та задовільні для існування водойми).

Для аналізу стійкості сперматогенезу з водойм із різним антропогенним навантаженням було відібрано 13 самців жаби озерної. У чистих водоймах аналізували особин, відібраних з оз. Пісочне, з досить чистих водойм – сmt Нижанковичі та зі слабо забруднених – канал охолодження Добротвірської ТЕС на території с. Перекалки, а також с. Гайдари і заплава р. Сіверський Донець. Для оцінки порушень ми визначали відсоток нормальних сперматоцитів I, що містять 26 хромосом, які об'єднані у 13 бівалентів серед усіх проаналізованих клітин цієї стадії у кожної особини. Нам траплялися пластинки гіпогаплоїдні (менше 13 хромосом), гіподиплоїдні (менше 26), гіпергаплоїдні (понад 13) і гіпердиплоїдні (понад 26) (рис. 4). Тест Краскела-Уолліса, за кількістю нормальних пластинок, не виявив значущої різниці між аналізованими вибірками ($p = 0,35$). Отже, сперматогенез стійкий, і тип водойм не впливає на його стійкість.

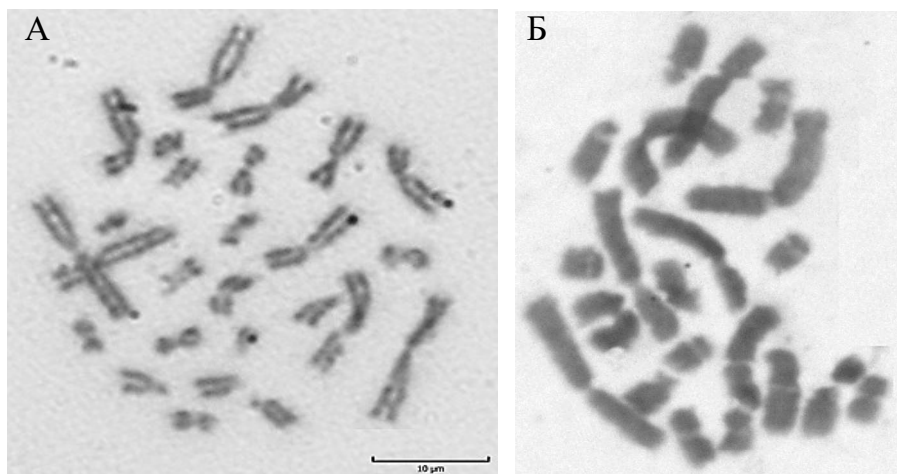


Рис. 4 Каріотиби самців жаби озерної: А – нормальна диплоїдна пластинка (26 хромосом); Б – гіподиплоїдна пластинка (22 хромосоми)

Під час аналізу розподілу нормальних метафазних пластинок виявлено, що особини, відібрані з каналу охолодження Добротвірської ТЕС (с. Перекалки), частіше трапляються з великою кількістю нормальних метафазних мейозних пластинок (рис. 5) та з незначною кількістю нормальних мітозних пластинок. Для правильного проходження мітозу мають бути пройдені контрольні точки клітинного циклу (*checkpoint*) (Alberts et al., 2002). Проходження чекпойнтів забезпечує перехід до наступної стадії клітинного поділу. Ймовірно, середовище впливає на гаметогенез, зменшуючи кількість нормальних мітозних пластинок клітин сім'яників, загалом не порушуючи результату сперматогенезу, саме тому тест Краскела–Уолліса не виявив значущої різниці у стійкості.

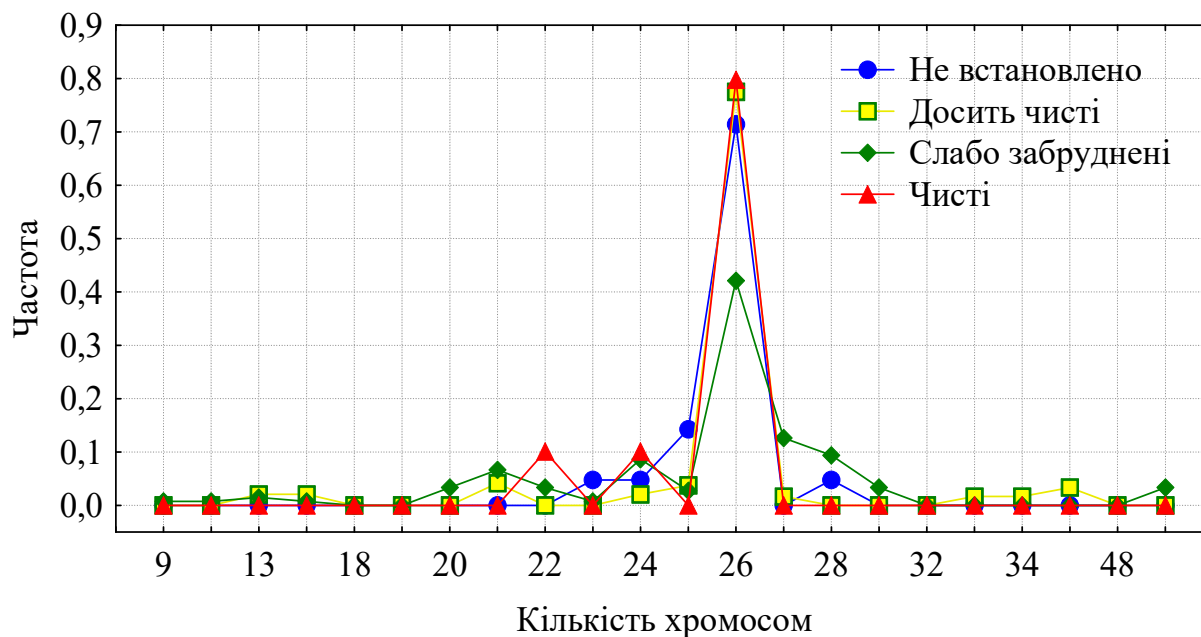


Рис. 5 Частота трапляння (від 0 до 1) різних наборів хромосом самців жаби озерної, відібраних із різних локалітетів

Використовуючи як індикатор стану середовища відносну вагу та розміри сім'яників (Залипуха и др., 2007; Мисюра и др., 2008; Марченковська, 2009; Шабанов, 2014), встановили, що найменші сім'яники трапляються у особин, відібраних із заплави р. Сіверський Донець. Подальше поступове збільшення їхніх розмірів спостерігається у пробах зі с. Перекалки, смт Нижанковичі та оз. Пісочне, відповідно. Тест Краскела-Уолліса показує значущу різницю за середніми розмірами сім'яників у особин з різних типів водойм ($p = 0,031$).

Отже, умови проживання впливають на середню довжину сім'яників: чим чистіша водойма, тим більша середня довжина сім'яників. Також зі збільшенням забруднення зменшується кількість нормальних мітозних метафазних пластинок. Для аналізованих класів якості води не виявлено унікальних станів фенетичних ознак жаби озерної, які могли б виконувати діагностичну роль під час встановлення ступеня забрудненості водойми.

Компоненти різноманіття зелених жаб *Pelophylax esculentus* complex. Генетична ізолюваність популяцій сприяє міжпопуляційній та індивідуальній мінливості всередині самої популяції. Результатом статевого розмноження є унікальність кожної локальної популяції (Майр, 1968). Статеве розмноження забезпечує рекомбінацію та кросинговер, які, у свою чергу, ведуть до генетичної мінливості, а вона може відображатися й у фенотипі. Мінливості сприяє і географічне різноманіття умов, до яких пристосовуються тварини (Майр, 1968, 1974), де кожна локальна популяція пристосована до тих умов, у яких вона перебуває.

Інша ситуація у популяційних системах, де не відбуваються рекомбінація та кросинговер клональної частини геному, які сприяли би його різноманіттю. Утворення статевих клітин у жаби їстівної не є типовим і сприяє поширенню клонального геному (Межжерин и др., 2007; Михайлова и др., 2011; Шабанов, 2014). Аби зрозуміти, які фактори впливають на різноманіття зелених жаб, ми вирішили перевірити його залежність від походження земноводних з одного або різних регіонів, типів популяційних систем і категорій трансформованості оселищ. Для цього ми використали морфометричні проміри та фенетичні ознаки одночасно. Усі морфометричні та фенетичні ознаки було перекодовано від 0 до 1. Як наслідок було створено єдину базу даних із усіма досліджуваними ознаками особин зелених жаб. Для оцінки різноманіття ми провели однофакторний дисперсійний аналіз, за допомогою якого можна оцінити ефект фактора групування.

На різноманіття зелених жаб впливає зоогеографічне розташування локалітету відбору ($p < 0,05$). Найменші значення показника відстані між особинами (евклідова відстань) виявлено у жаби озерної (рис. 6; евклідова відстань = 2,72) та їстівної (евклідова відстань = 2,35) з Сіверсько-Донецького центру різноманіття (це можна пояснити генетичною близькістю особин (передавання клонального геному в межах ГПС (Стах та ін., 2016)). Найрізноманітнішими є земноводні групи зелених жаб, відібрані на території Розточансько-Опільської ділянки (жаба озерна – 3,17 (рис. 6); ставкова – 2,96; їстівна – 3,25). Різноманіття жаби озерної на території Західнополіської ділянки та Малого Полісся є практично однаковим (2,76) (рис. 6).

$$F=190,55, p<0,05$$

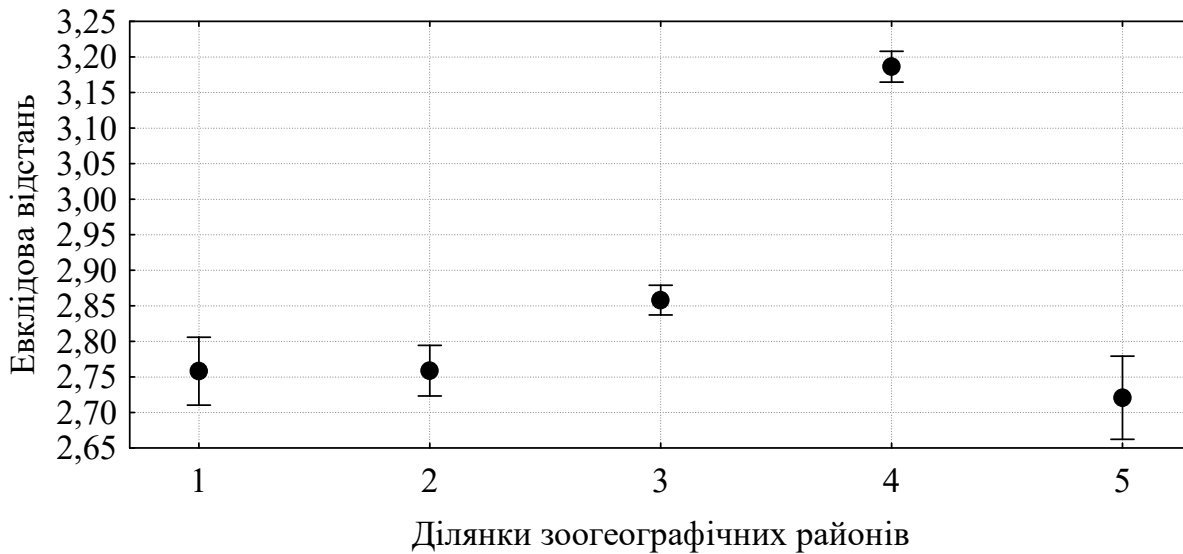


Рис. 6 Оцінка міжгрупового різноманіття (однофакторний дисперсійний аналіз) особин жаби озерної, відібраних із досліджуваних зоогеографічних районів: 1 – Західнополіська ділянка Поліського р-ну; 2 – ділянка Малого Полісся Розточансько-Подільського р-ну; 3 – Західна передгірська ділянка Карпатського р-ну; 4 – Розточансько-Опільська ділянка Розточансько-Подільського р-ну; 5 – Лісостеповий район (Сіверсько-Донецький центр різноманіття)

Зелені жаби заходу та сходу України значущо ($p < 0,05$) відрізняються. Найрізноманітнішими є особини жаби озерної, відібрані у водоймах смт Великий Любінь (3,12), Іськів став (3,01) та с. Чолгині (2,98). Найменше різноманіття особин жаби озерної відзначено у локалітетах оз. Луки (2,61), Коряків яр (2,61) і р. Сіверський Донець (2,47). Особини іншого батьківського виду – жаби ставкової – загалом менш різноманітні. Особини жаби ставкової із найбільшим різноманіттям відібрано з локалітетів смт Великий Любінь (3,01), с. Чолгині (2,73), оз. Пісочне (2,72) та оз. Луки (2,71). Чітко відрізняється вибірка із оз. Світязь (1,59), де особини жаби ставкової найменш різноманітні. Серед особин гібридного походження виявлено найменше різноманіття у вибірках, із Корякового яру (2,09) та Іського ставу (2,21), а найрізноманітніші – у с. Чолгині (3,19) та оз. Пісочне (2,85).

Також перевірено вплив якості води на різноманіття зелених жаб у групах водойм із різним класом якості води (табл. 3). Встановлено, що зелені жаби з досить чистих водойм більш різноманітні, ніж із чистих водойм. Найрізноманітнішими (евклідова відстань = 3,22) з усіх аналізованих груп є гібридні особини, відібрані зі слабо забруднених водойм. Найменше різноманіття (евклідова відстань = 2,34) виявлено у гібридних особин, відібраних із водойм, де гідрохімічні дослідження не проведено. Саме ця група особин відрізняється від усіх інших типом популяційної системи та наявністю триплоїдів.

Для перевірки впливу складу популяційної системи на різноманіття зелених жаб ми також провели дисперсійний однофакторний аналіз. Здійснено порівняння відстаней між таксономічними групами зелених жаб, відібраних із досліджуваних

локалітетів. Наприклад, у смт Великий Любінь виявлено особини трьох таксономічних груп, тому здійснено попарні порівняння озерна – ставкова, ставкова – їстівна й озерна – їстівна. На рис. 7 представлено результати таких попарних порівнянь для таксономічних груп усіх аналізованих локалітетів.

$$F=28,567, p<0,05$$

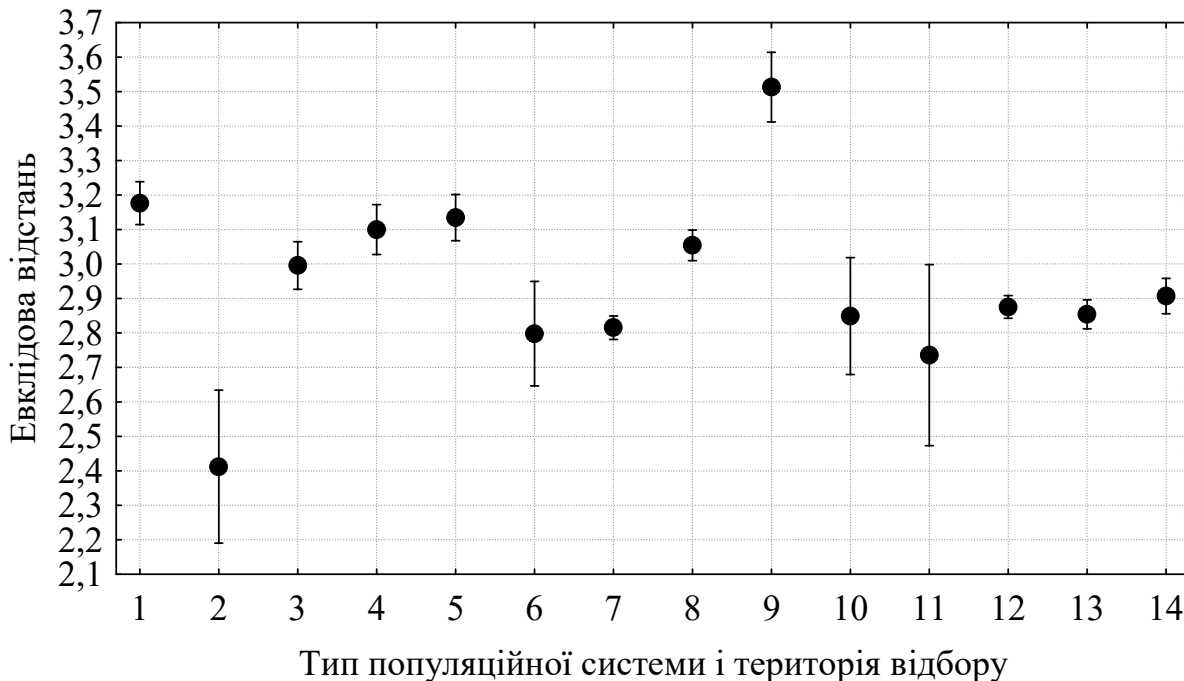


Рис. 7 Оцінка різноманіття зелених жаб (однофакторний дисперсійний аналіз), відібраних із різного типу ПС (P.r. – *P. ridibundus*, P.l. – *P. lessonae*, P.e. – *P. esculentus*; 1 – P.e. & P.r. Сіверський Донець, R-E; 2 – P.e. & P.l. Світязь, L-E; 3 – P.e. & P.l. Чолгині, R-E-L; 4 – P.e. & P.r. Чолгині, R-E-L; 5 – P.l. & P.r. Великий Любінь, R-E-L; 6 – P.l. & P.e. Луки, R-E-L; 7 – P.l. & P.e. Пісочне, R-E-L; 8 – P.r. & P.e. Іськів став, R-E; 9 – P.r. & P.e. Коряків яр, R-E; 10 – P.r. & P.e. Луки, R-E-L; 11 – P.r. & P.l. Луки, R-E-L; 12 – P.r. & P.e. Пісочне, R-E-L; 13 – P.r. & P.l. Пісочне, R-E-L; 14 – P.r. & P.l. Чолгині, R-E-L)

Особини таксономічних груп зелених жаб, відібрані із оз. Світязь (жаба ставкова та їстівна), відрізняються між собою найменше (евклідова відстань = 2,41) із усіх нами аналізованих (рис. 7). Також виявлено низьку (2,72) відмінність між жабою озерною та жабою ставковою з оз. Луки (R-E-L-тип ГПС). Ця вибірка характеризується наявністю нестатевозрілих однорічних особин, у яких ще не всі таксономічні ознаки виражені. Вибірka зелених жаб із Корякового яру (R-E-Et-тип ГПС) характеризується найбільшим (евклідова відстань = 3,51) значенням різниці між особинами жаби озерної та жаби їстівної. Трохи меншу різницю виявлено між особинами жаб озерної та їстівної (3,18), які відібрано із заплави р. Сіверський Донець (R-E-Et-тип ГПС). Порівняння зелених жаб, відібраних з с. Чолгині (R-E-L-тип ГПС), смт Великий Любінь (R-E-L-тип ГПС), оз. Пісочне (R-E-L-тип ГПС) та Іськівського ставу (R-E-Et-тип ГПС), дають подібні результати, тобто таксономічні групи *Pelophylax esculentus* complex із цих локалітетів практично однаково різноманітні (евклідова відстань від 2,8 до 3,12).

Отже, на морфометричне та фенотипне різноманіття зелених жаб впливає зоогеографічне розташування локалітету відбору, фізико-хімічні характеристики водойми і тип популяційної системи. Збільшенню різноманіття зелених жаб сприяє хімічне забруднення водойми, а зменшенню – клональне передавання геному всередині популяційної системи.

ВИСНОВКИ

У роботі представлено закономірності морфометричного, фенетичного та генетичного різноманіття жаби озерної *P. ridibundus*, ставкової *P. lessonae* та гібридного походження жаби їстівної *P. esculentus*, відібраних із різних зоогеографічних районів, антропогенно трансформованих оселищ і типів популяційних систем. На досліджуваних територіях виявлено популяції жаби озерної у смт Нижанковичі, с. Перекалки та смт Івано-Франкове; R-E-тип ГПС наявний у водоймах с. Жовтанці; R-E-Et-тип ГПС наявний у водоймах Коряків яр, заплаві р. Сіверський Донець та Іськів став; L-E-тип виявлено в оз. Світязь; R-E-L-тип наявний у водоймах смт Великий Любінь, оз. Луки, оз. Пісочне та с. Чолгині.

1. Три аналізованих локуси зберігають свою видоспецифічність на досліджуваній території (алель 103 п.о. локусу *Rrid059A* (для жаби ставкової), 123 п.о. локусу *RICA1b5* (для жаби ставкової) та null-алель локусу *RICA18* (для жаби озерної)). Вибірка із водойм орнітологічного заказника «Чолгинський» виявляє найбільшу внутрішньопопуляційну генетичну різноманітність (основна частина вибірки сформована батьківськими видами). Менш різноманітною є вибірка із Шацького національного природного парку (у вибірці переважають гібридні особини).

2. Виявлено 39 морфометричних індексів, які є найінформативнішими для зелених жаб досліджуваної території. Дев'ять індексів проявляють значущу різницю середніх значень між самцями та самицями; 12 – між таксономічними групами та 18 – між статевозрілими і нестатевозрілими особинами. Найцінніші індекси для визначення статі – Lt.c./L.t.ci., L.c./L. і D.q./L.; для встановлення таксономічної належності – T./L., D.q./L., F./T., D.p./L.t.ci., T./L.t.ci. Використовуючи діагностичні мікросателітні локуси, встановили, що індекс F./T. дає змогу правильно визначати таксономічну належність у 70 % особин.

3. Встановлено, що на прояв таких фенетичних ознак, як дорзомедіальна смуга, плямистість верхньої частини тіла, забарвлення спини, структура шкіри, забарвлення черева та горла, рисунок задніх кінцівок, наявність жовтих плям на стегнах і боках тулуба, наявність смуг на морді та колір очей значущо впливає таксономічна належність, стать і зрілість особини. Виключно залежність від таксономічної належності виявлено тільки у прояві забарвлення звукового резонатора у самців зелених жаб.

4. Для встановлення таксономічної належності жаби озерної можна використовувати такі фенетичні ознаки: золотисто-коричневі очі (присутні у 77 % відловлених особин); темно-сірий, сірий і чорний кольори резонатора у самців; гладку шкіру спини (62 %); горло (66 %) та черево (65 %) зазвичай вкриті плямами; інколи трапляються жовті плями на стегнах і боках тулуба (44 %). Жабу ставкову можна визначити за комплексом таких ознак: яскраво-жовті очі (72 %);

резонатор білий (50 %) або сірий (46 %); наявна дорзомедіальна смуга (не виявлено жодної особини без смуги); у забарвленні спини переважають світлі відтінки зеленого кольору (88 %), і зовсім нетиповими є коричневі кольори; спина зазвичай вкрита різною кількістю темних дрібних плям діаметром 2–5 мм; структура шкіри гладка (78 %); на стегнах і боках тулуба наявні жовті плями (90 %). Жабу їстівну характеризують такі фенетичні ознаки: яскраво-жовті очі (71 %); білий резонатор (75 %); шкіра частіше шерехата, ніж у батьківських видів (57 %); забарвлення горла та черева зазвичай світле; жовті плями на стегнах і боках тулуба (89 %).

5. Виявлено позитивний зв'язок між плямистістю верхньої частини тіла, структурою шкіри, забарвленням горла, наявністю смуг на морді, рисунком задньої кінцівки та якістю води, оціненою за хімічним аналізом. Не виявлено залежності у прояві дорзомедіальної смуги, забарвлення черева, кольору очей та жовтих плям на стегнах і боках тулуба від хімічного забруднення. Хімічне забруднення водойми не впливає на стійкість сперматогенезу самців жаби озерної. Індикаторами якості води може бути відносна довжина сім'яників і кількість нормальних мітозних пластинок клітин сім'яників, які зменшуються у міру зростання забрудненості води.

6. Важливими факторами, які впливають на різноманіття зелених жаб є походження із різних зоогеографічних районів, фізико-хімічні умови водойми і тип популяційної системи. Зростання хімічного забруднення водойми сприяє збільшенню різноманіття. Гібридні жаби у популяційних системах унаслідок клонального передавання геномів є менш різноманітними, ніж представники батьківських видів.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у фахових виданнях України:

1. **Стах В.,*** Белоконь М., Хамар І., Белоконь Ю., Решетило О. Морфологічний та генетичний поліморфізм зелених жаб (*Pelophylax*) водойм Західної України // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. 2014. Вип. 64. С. 241–249. (Google Scholar, Thomson Scientific Master Journal List). (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, опрацювання морфометричної частини розрахунків, аналіз результатів, написання тексту*).

2. **Стах В. О.,*** Хамар І. С. Морфологічна мінливість зелених жаб (*Pelophylax*) водойм Львівської області та Шацького національного природного парку // Природа Західного Полісся та прилеглих територій. 2014. № 11. С. 296–301. (Google Scholar).

3. **Stakh V.,*** Reshetylo O., Khamar I. Inter-population morphometric variability of *Pelophylax ridibundus* (Anura, Amphibia) in the water bodies of Lviv province // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. 2016. Вип. 72. С. 180–186. (Google Scholar, Thomson Scientific Master Journal List). (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, проведення розрахунків, аналіз результатів, написання тексту*).

4. **Stakh V. O.,*** Khamar I. S., Reshetylo O. S., Zabytivskyi Yu. M. Phenotypes of water frogs (*Pelophylax*) as the indicators of water bodies' contamination in Pre-Carpathians, Roztochia, Lesser and Western Polissia // Біологічні Студії - Studia Biologica. 2017. Т. 11,

№ 1. С. 161–168. (Google Scholar). *(Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, проведення розрахунків, аналіз результатів, написання тексту).*

5. **Stakh V. O.***, Strus Iu. M., Khamar I. S. Genetic diversity of population systems in green frogs (*Pelophylax esculentus* complex) in water bodies of western Ukraine // Біологічні Студії - Studia Biologica. 2018. Vol. 12, N 3-4. P. 17–26. *(Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, проведення розрахунків, аналіз результатів, написання тексту).*

Публікації у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз:

6. Reshetylo O., **Stakh V.**, Osiyeva A.-A., Dykyu I., Andriyishyn B., Panchuk M., Tsaryk I. Mortality of amphibians on the roads of Lviv province (Ukraine): trend for the last decade // *Vestnik Zoologii*. 2019. Vol. 53(2). P. 131–140. (Scopus). *(Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, аналіз результатів).*

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:

7. **Стах В. О.***, Хамар І. С. Морфологічна мінливість зелених жаб (*Pelophylax*) фауни Львівської та Волинської областей // Молодь і поступ біології : VIII Міжнар. конф. студентів і аспірантів, 3-6 квітня 2012 р. : тези доп. Львів, 2012. С. 198–199.

8. **Стах В. О.***, Хамар І. С. Морфологічний та генетичний поліморфізм зелених жаб (*Pelophylax*) Шацького національного природного парку та водойм Львівщини // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку, 6-9 вересня 2012 р. : тези доп. Львів, 2012. С. 70 – 71.

9. **Стах В. О.***, Хамар І. С., Белоконь М. М., Белоконь Ю. С. Видовой состав и генетический полиморфизм зеленых лягушек (*Pelophylax*) Шацкого национального природного парка и водоемов Львовщины // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии, 25-29 марта 2013 г. : тезисы док. Ростов-на-Дону, 2013. С. 92. *(Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, опрацювання морфометричної частини розрахунків, аналіз результатів, написання тексту).*

10. **Стах В. О.***, Белоконь М. М., Хамар І. С. Белоконь Ю. С., Решетило О. С. Морфологічний та генетичний поліморфізм зелених жаб (*Pelophylax*) водойм Західної України // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку, 12-15 вересня 2013 р. : тези доп. Львів, 2013. С. 75–77. *(Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, проведення розрахунків, аналіз результатів, редагування тексту).*

11. **Стах В.***, Хамар І. Морфологічний та генетичний поліморфізм зелених жаб (*Pelophylax*) Шацького національного природного парку та водойм Львівщини // Молодь і поступ біології : IX Міжнар. конф. студентів і аспірантів, 16-19 квітня 2013 р. : тези доп. Львів, 2013. С. 266–267.

12. Поворозник М., **Стах В.***, Хамар І. Фенетична різноманітність зелених жаб (*Pelophylax*) водойм Львівської області // Молодь і поступ біології : XI Міжнар. конф. студентів і аспірантів, 20-23 квітня 2015 р. : тези доп. Львів, 2015. С. 299–300. *(Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, опрацювання фенотипної частини розрахунків, аналіз результатів, написання тексту).*

13. **Стах В. О.***, Хамар І. С. Фенотипна мінливість зелених жаб (*Pelophylax*) водойм Львівської області та Шацького національного природного парку // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку, 10-13 вересня 2015 р. : тези доп. Львів, 2015. С. 99–100.

14. **Стах В.***, Хамар І. Морфометрична мінливість *Pelophylax ridibundus* (Anura, Amphibia) у водоймах Львівщини // Молодь і поступ біології : XII Міжнар. конф. студентів і аспірантів, 19-21 квітня 2016 р. : тези доп. Львів, 2016. С. 209–210.

15. **Стах В. О.***, Боброва А. А., Єрмаков Д. В., Мелешко О. В., Тарасенко К. С., Коршунов О. В., Кравченко М. О. Особливості геміклональної популяційної системи зелених жаб (*Pelophylax esculentus* complex) Коряківського яру (НПП «Гомільшанські ліси») // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій, 8–11 вересня 2016 р. : тези доп. Львів, 2016. С. 88–92. (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, редагування тексту*).

16. Степаненко К. Р., Бірюк О. В., Пустовалова Е. С., **Стах В. О.*** Різноманіття розмірів сперматозоїдів зелених жаб з геміклональних популяційних систем різних типів // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій, 7–10 вересня 2017р. : тези доп. Львів, 2017. С. 105–109. (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, редагування тексту*).

17. Решетило О. С., Осієва А.-А. О., **Стах В. О.*** Загибель амфібій на автошляхах під час осінніх міграцій на Розточчі // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку : тези доп., 7–10 вересня 2017 р. Львів, 2017. С. 89–90. (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, аналіз результатів, написання тексту*).

18. **Стах В. О.***, Хамар І. С. Фенотипна мінливість зелених жаб роду *Pelophylax* водойм Львівщини та Шацького НПП з різним антропогенним впливом // Фауна України на межі XX-XXI ст. нові концепції зоологічних досліджень : всеукраїнська зоологічна конференція, 12–16 вересня 2017 р. : тези доп. Харків, 2017. С. 59.

19. Решетило О. С., Осієва А.-А. О., **Стах В. О.***, Андрійшин Б. О., Дикий І. В. Загибель земноводних на автошляхах під час весняних міграцій на Розточчі // Zoocenosis–2017. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах. тези доп. IX Міжнародна наукова конференція, 20–22 листопада 2017р., Дніпро, 2017. С. 94–95. (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, аналіз результатів, написання тексту*).

20. **Стах В. О.***, Бірюк О. В., Пустовалова Е. С. Вплив якості води на стійкість сперматогенезу самців жаби озерної *Pelophylax ridibundus* // Значення та перспективи стаціонарних досліджень для вивчення та збереження біорізноманіття : всеукраїнська наукова конференція, присвячена 60-річчю функціонування високогірного біологічного стаціонару «Пожижевська» імені Костянтина Малиновського, 27–30 вересня 2018 р. : тези доп. Львів, 2018. С. 74–76. (*Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, опрацювання каріологічної частини розрахунків, аналіз результатів, написання тексту*).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

21. Стах В. О.,* Поворозник М. В., Хамар І. С. Фенотипний розподіл зелених жаб (*Pelophylax*) водойм Львівської області різного господарського призначення // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2015. № 3-4 (64). С. 626–629. (Google Scholar). (Особистий внесок здобувача: збір матеріалу, опрацювання фенотипної частини розрахунків, аналіз результатів, написання тексту).

* - нове прізвище здобувача Струс В. О.

АНОТАЦІЯ

Струс В. О. Морфометричне, фенетичне та генетичне різноманіття зелених жаб (*Pelophylax*) з різних популяційних систем. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.08 – зоологія. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України, Харків, 2019.

Дисертація є першою роботою, виконаною на території чотирьох зоогеографічних районів України (Карпатський, Лісостеповий, Поліський і Розточансько-Подільський) з використанням поєднання класичних зоологічних та молекулярних методів вивчення групи зелених жаб. На досліджуваних територіях виявлено популяції жаби озерної у смт Нижанковичі, с. Перекалки та смт Івано-Франкове; RE-тип ГПС наявний у водоймах с. Жовтанці; R-E-Et-тип ГПС наявний у водоймах Коряків яр, заплаві р. Сіверський Донець та Іськів став; LE-тип виявлено в оз. Світязь; REL-тип наявний у водоймах смт Великий Любінь, оз. Луки, оз. Пісочне та с. Чолгині.

Проведено аналіз генетичної структури популяції жаби озерної (низьке різноманіття) та геміклональних популяційних систем REL-типу (вибірка з орнітологічного заказника «Чолгинський»), яка проявляє більшу внутрішньопопуляційну генетичну різноманітність, ніж вибірка із ШНПП.

Проаналізовано різноманіття морфометричних промірів (24) та індексів (63) зелених жаб. Виявлено фенетичні ознаки, за допомогою яких можна надійніше визначати належність особини до таксономічної групи. Вперше для досліджуваних локалітетів проведено аналіз впливу хімічного складу води на фенетичне різноманіття і стійкість сперматогенезу самців жаби озерної. Виявлено залежність у розмірах сім'яників від класу якості води.

Також встановлено вплив зоогеографічного розташування локалітету відбору земноводних, якості води водойми і типу популяційної системи зелених жаб на їхнє морфофенетичне різноманіття.

Ключові слова: зелені жаби, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax lessonae*, *Pelophylax esculentus*, різноманіття, мікросателітні локуси, генетична структура популяцій, індекс F/T., дорзомедіальна смуга, сперматогенез, геміклональна популяційна система (ГПС).

АННОТАЦИЯ

Струс В. О. Морфометрическое, фенетическое и генетическое разнообразие зеленых лягушек (*Pelophylax*) из различных популяционных систем. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.08 – зоология. – Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина МОН Украины, Харьков, 2019.

Диссертация является первой работой, выполненной на территории четырех зоогеографических районов Украины (Карпатский, Лесостепной, Полесский и Расточанско-Подольский) с использованием классических зоологических и молекулярных методов изучения группы зеленых лягушек. На исследуемых территориях выявлены популяции лягушки озерной в пгт Нижанковичи, с. Перекалки и пгт Ивано-Франково; RE-тип ГПС обнаружен в водоемах с. Жовтанцы; R-E-Et-тип ГПС обнаружен в водоемах Коряков яр, пойме р. Северский Донец и Иськов пруд; LE-тип обнаружен в оз. Свитязь; REL-тип обнаружен в водоемах пгт Великий Любинец, оз. Луки, оз. Песочное и с. Чолгини.

Проведен анализ генетической структуры популяции лягушки озерной (низкое разнообразие) и гемиклональных популяционных систем REL-типа (выборка из орнитологического заказника «Чолгинский» является более генетически разнообразной, чем выборка из ШНПП).

Проанализировано разнообразие морфометрических измерений (24) и индексов (63) зеленых лягушек. Обнаружены фенетические признаки, благодаря которым можно определять принадлежность к таксономической группе. Также впервые для исследуемых локалитетов проведен анализ влияния химического состава воды на фенетическое разнообразие и устойчивость сперматогенеза самцов лягушки озерной. Обнаружена зависимость в размерах семенников от класса качества воды.

Также установлено влияние зоогеографического расположения локалитета отбора земноводных, качества воды водоема и типа популяционной системы зеленых лягушек на их морфофенетическое разнообразие.

Ключевые слова: зеленые лягушки, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax lessonae*, *Pelophylax esculentus*, разнообразие, микросателлитные локусы, генетическая структура популяций, индекс F/T., дорсомедиальная полоса, сперматогенез, гемиклональная популяционная система (ГПС).

ABSTRACT

Strus V. O. Morphometric, phenetic, and genetic diversity of green frogs (*Pelophylax*) from different population systems. – Qualification scientific paper, manuscript.

Dissertation for a Candidate's of Biological Sciences degree by speciality: 03.00.08 – zoology. – V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is the first work accomplished on the territory of four zoogeographic regions of Ukraine (Carpathian, Forest-Steppe, Polissian, and Roztochian-Podolian) with the usage of classical zoological and molecular methods in

combination to study green frogs. In total 587 individuals of green frogs, belonging to three taxonomic groups were sampled from 12 locations and analyzed.

The morphometric, phenetic, and genetic diversity of green frogs were studied. Also, the analysis of chemical composition of water in sampling localities was performed. Stability of a spermatogenesis in males of Marsh Frog sampled in waterbodies of different water quality classes was estimated. Effect of zoogeographic location, water quality and population system type on the diversity of green frogs was investigated.

On the study territory, populations of Marsh Frog were found in localities near town Nyzhankovychi, v. Perekalky, and town Ivano-Frankove. Population of the R-E-type was found in waterbodies near v. Zhovtantsi, R-E-Et-type of hemiclinal population system was detected in waterbodies of Koriyakov Yar, in the valley of Siverskyi Donets river and in Iskiv pond. Population of L-E-type was found in lake Svitiaz. R-E-L-type population is present in waterbodies near Velykyi Lubin, in lake Luky, lake PISOCHNE and near the Cholgyni village.

The least diverse is the sample from Nyzhankovychi, where only Marsh Frog is present. The sample from Cholgyni is the most variable in respect of intrapopulation genetic diversity. Less diverse is the sample from the Shatsk National Park.

In the sample, taken from ponds in Cholgyni ornithological reserve, two individuals of hybrid geneses in the first generation were found. Also, two backcrosses were detected. One, with the parental species Marsh Frog, and another – Pool Frog. The majority of individuals in the sample were not hybrids. It may be explained either by recent occurrence of hybridization on the study area, or by low survival of hybrids here. Opposite situation with the distribution of taxons and hybrids is observed in the Shatsk National Park, where hybrids of the first generation and backcrosses with Marsh Frog dominate over individuals of parental species.

Variability of 24 morphometric measurements and of 63 indices of green frogs was analyzed. Indices, indicating sex and age of an individual were found. It was proven that F./T. index allows correct taxonomic identification in 70 % of individuals.

Phenetic features were checked for dependencies with sex, maturity and taxonomic belonging to a group. The most variable in studied features are individuals of Marsh Frog. The least variable are individuals of Pool Frog. Hybrid individuals take the intermediate position in respect of phenetic variability between two parent species.

Also, for the first time, analysis of the influence of water quality on the stability of a spermatogenesis was done for studied localities. The relation between size of gonads and levels of water pollution was found but the similar relation with the stability of a spermatogenesis was not proven.

Effect of the zoogeographic location of green frog sampling sites on their morphophenetic variability was found ($p < 0,05$). The same was proven in the case of water chemical pollution ($p < 0,05$) and type of population system ($p < 0,05$). Influence of water pollution on variability is positive. Population system in contrary has a negative effect if the type is hemiclinal.

Key words: green frogs, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax lessonae*, *Pelophylax esculentus*, variability, microsatellite loci, population genetic structure, index F./T., dorsomedial stripe, spermatogenesis, hemiclinal population system.

Підп. до друку 30.07.2019 р.
Формат 60х84/16. Умов. друк. арк. 0,9. Папір. офсетний.
Гарнітура Times New Roman. Наклад 100 прим.

Видруковано у книжковій друкарні «Коло»
вул. Бориславська, 8, м. Дрогобич, Україна, 82100
тел./факс: +380 3244 2-90-60, 3-87-32,
ел. пошта: koloopera@gmail.com, kolodruk@gmail.com