

ЕВОЛЮЦІЙНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ГІБРИДНОЇ ФОРМИ *PELOPHYLAX ESCULENTUS-RIDIBUNDUS* (AMPHIBIA, RANIDAE) У БАСЕЙНАХ ДНІПРА ТА ДЕСНИ: ЙОГО ВТРАТИ, СПРИЧИНЕНІ НАПІВКЛОНАЛЬНИМ УСПАДКУВАННЯМ, ТА КОМПЕНСАТОРНА РОЛЬ РЕКОМБІНАЦІЇ БАТЬКІВСЬКИХ ГЕНОМІВ

С.Ю. МОРОЗОВ-ЛЕОНОВ

Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена, Київ, 01601 Україна

E-mail: morleone2000@yahoo.com

Проаналізовано напівклональну структуру гібридної форми Pelophylax esculentus-ridibundus (Amphibia: Ranidae) у басейнах річок Дніпро та Десна. Продемонстровано наявність поліклональності майже у всіх популяціях. Моноклональність досліджуваної гібридної форми виявлена лише у 2 із 17 досліджених популяцій. Показано широкі коливання рівня генетичної мінливості P. esculentus-ridibundus у досліджуваній зоні. Показано зниження рівня генетичних варіацій через втрату рідкісних напівклонів. Специфічною рисою P. esculentus-ridibundus, виявленою у досліджуваних популяціях в басейнах Дніпра та Десни, є рекомбінація батьківських генومів. Це призводить до появи нових напівклонів та підвищує рівень генетичної варіації успадкованого геному в межах цієї гібридної форми.

Ключові слова: *Pelophylax*, гібридна форма, напівклональна різноманітність, напівклональне успадкування, рекомбінація батьківських геномів.

Вступ. Явище природної гібридизації широко поширене в природі. Аналіз генетичної мінливості природних популяцій дозволяє виявляти нові випадки гібридизації частіше, ніж очікувалося раніше (Arnold, 2003; Genovart, 2009; Shang, Yan, 2017). Але гібридизація може мати еволюційні генетичні наслідки лише у тому випадку, коли гібриди є фертильними (Maheshwari, Barbash, 2011; Forsdyke, 2019). Успадкування гібридами батьківських геномів є основним критерієм оцінки значущості міжвидової гібридизації. Це може статися одним із двох шляхів. У першому випадку звичайний мейоз виникає під час гаметогенезу у гібридів, що супроводжується кон'югацією та рекомбінацією гомеологічних хромосом. Такий спосіб успадкування властивий гібридам, породженим

генетично спорідненими видами (Nürnberger et al, 2016). Якщо хромосоми батьківських видів структурно відрізняються, нормальна кон'югація неможлива. Традиційно вважалося, що рекомбінація батьківських геномів у таких гібридах не відбувається (Quattro, Avise, Vrijenhoek, 1992). У даному випадку гібриди продукують гамети, що містять геном одного або обох батьківських видів (клональне або напівклональне успадкування).

Однак за останні роки накопичилися дані, що вказують на можливість рекомбінації батьківських геномів у таких гібридів. Серед гібридних форм комах генетична рекомбінація виявлена в паличників роду *Bacillus*, які розмножуються напівклонально (лише один з батьківських геномів успадковується) (Scali et al, 1995). Існують також дані про генетичну рекомбінацію у клональної партеногенетичної форми довгоносиків роду *Polydrusus* (Kajtoch, Lachowska-Cierlik, 2009).

Серед хребетних рекомбінацію між гетероспецифічними геномами було виявлено у гіногенетичних алотриплоїдних саламандр роду *Ambystoma* (Vi, Bogart, 2006). Рекомбінацію між двома конспецифічними геномами було продемонстровано для маркерів ДНК у триплоїдних гібридів *Pelophylax esculentus-ridibundus* (Amphibia, Ranidae) (Christiansen, Reyer, 2009; Mikulíček et al, 2015). Однак отримані результати не демонструють безпосередньо можливість рекомбінації між гетероспецифічними геномами в аллодиплоїдів серед хребетних.

Процес інтрогресії генів у гібридних популяціях зелених жаб давно виявлено і детально вивчено головним чином для популяцій Західної та Центральної Європи (Plötner et al, 2008).

Очевидно, що інтрогресія генів є наслідком появи рекомбінантних гамет. Але поки що наявні дані демонструють цитологічну цілісність геному, що успадковують гібридні особини комплексу *P. esculentus-ridibundus* (Zaleśna et al., 2011).

Рекомбінація генів, що кодують білки, неодноразово була ідентифікована раніше для алодиплоїдів *P. esculentus-ridibundus* (Mezhzhherin, Morozov-Leonov, 1997; Čavlović et al, 2018). Однак в обох випадках було вивчено невелику кількість популяцій (5 та 3 відповідно), локалізованих у обмежених географічних регіонах. Проблему поширеності та інтенсивності рекомбінації таких генів у даної гібридної форми поки що не було досліджено у межах широкого географічного регіону. Особливо це стосується східноєвропейських популяцій зелених жаб, які здебільшого перебувають поза сферою інтересів західноєвропейських дослідників.

Таким чином, на даний момент питання детального кількісного аналізу рекомбінації батьківських геномів в алодиплоїдів на прикладі гібридної форми *P. esculentus-ridibundus* та оцінки еволюційно-генетичного значення цього процесу для популяцій з території Східної Європи залишається актуальним.

Метою даного дослідження є оцінка еволюційного значення такого явища, як рекомбінація батьківських геномів у популяціях *P. esculentus-ridibundus* у межах Східної Європи. Зокрема, ми хотіли проаналізувати географічний розподіл рекомбінації гетероспецифічних геномів цієї гібридної форми, його інтенсивність та вплив на генофонд популяцій, в яких вона відбувається.

Матеріал і методи. Матеріалом для цієї роботи було 17 вибірок зелених жаб *Pelophylax esculentus-ridibundus* із басейнів Дніпра та Десни. Вибірки були відібрані на території наступних областей України та Республіки Білорусь: Житомирська область (№ I – Ружинський район, с. Чорнорудка, 2002 р.; № II – Попельнянський район, с. Єрчики, 2007 р.). Київська область (№ III – Київ, Святошинський район, околиця мікрорайону Новобіличі, 1986–2005 рр.; № IV – Київ, Святошинський район, околиця мікрорайону Біличі, 1986–1991 рр.; № V – Київ, Оболонський район, околиці ко-

лишнього лісництва, 2009–2010 рр.; № VII – Баришівський район, околиці Баришівки, 2000–2004 рр.). Черкаська область (№ VIII – Канівський район, поблизу м. Канева, 2001–2002 рр.; № IX – Драбівський район, поблизу с. Степанівка, 1992–1994 рр.; № X – Чорнобаївський район, поблизу с. Ляшівка, 2006 р.). Чернігівська область (№ XI – Носівський район, околиці села Володькова Дивиця, 2002 р.; № XII – Ніжинський район, околиці Ніжина, 2002 р.; № XIII – Ніжинський район, околиці Ніжина, 2002–2007 рр.; № XIV – Ніжинський район, поблизу села Вертіївка, 2002 р.; № XV – Борзнянський район, біля села Сиволож, 2002 р.; № XVI – Бахмацький район, біля міста Батурин, 2002–2008 рр.; № XVII – Бахмач район, околиці міста Батурин, 2007 р.).

Вибірку № VI зібрано на території Республіки Білорусь (Гомельська область, Лоєвський район, околиці села Абакуми, 1992 р.).

Об'єм зразків та їх координати наведено в табл. 1. Географічне розташування вибірок показано на рис. 1.

Ідентифікацію генотипів жаб проводили електрофоретичним аналізом генотипів з використанням діагностичних генів. У якості джерела білків було використано фрагменти великого пальця задньої кінцівки (прижиттєвий аналіз). Було проаналізовано генотипи тварин для генів, що кодують В-субодиницю лактатдегідрогенази (*Ldh-B*); естерази (*Es-1*, *Es-5*) та альбумін (*Alb*). Електрофоретичне розділення проводили за стандартними методами, описаними раніше в літературі (Mezhzhherin, Peskov, 1992). Кожен гаплотип був ідентифікований за відповідною комбінацією алелів поліморфних діагностичних генів *Ldh-B-Alb-Es-1*. Оскільки у досліджуваному регіоні *P. esculentus-ridibundus* успадковує геном R (*P. ridibundus*) (Морозов-Леонов та ін., 2009), то всі нерекомбінантні гаплотипи мали вигляд *Ldh-B^R – Alb^R – Es-1^R*, де R – будь-який алель озерної жаби *P. ridibundus*. Рекомбінантні гаплотипи були виявлені за наявністю алелів, характерних для другого батьківського виду (ставкової жаби), принаймні в одному гені. Всі нормальні гаплотипи були згруповані в групу А, всі рекомбінантні – у групу В (позначені курсивом). Відповідно, кожна вибірка достатнього розміру була поділена на дві групи (А та В).

Таблиця 1. Координати та напівклональний склад вибірок гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* басейнів Дніпра та Десни

Вибірка														
Широта					49,84	50,00	50,46	50,49	50,57	52,01	50,34	49,69	50,12	49,55
Довгота					29,06	29,57	30,31	30,31	30,42	30,90	31,31	31,59	32,24	32,67
Напівклон					Дніпро									
№	<i>Ldh-B</i>	<i>Alb</i>	<i>Es-1</i>	Група	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
2	77	96	100	A							3			
3	81	92	96				1							
4	81	92	100		1	2	3	2		1				
5	81	96	100			2	1			1	2			
6	100	92	91				1							
7	100	92	96			1	1		2					
8	100	92	100		6	3	21	13	16		19	2		11
9	100	96	96		3	1	4		2					3
10	100	96	100		8	3	17	10	2		10	1	13	
11	100	96	110								2			
12	66	92	96	B					10					4
13	66	92	100			1	20	3	6	1	1	5		
14	66	96	96											8
15	66	96	100				6	1		1				
n	A				18	12	49	25	22	2	36	3	13	14
	B				0	1	26	4	16	2	1	5	0	12
	A+B				18	13	75	29	38	4	37	8	13	26
N _{hem}	A				4	6	8	3	4	2	5	2	1	2
	B				0	1	2	2	2	2	1	1	0	2
	A+B				4	7	10	5	6	4	6	3	1	4
N _{eff}	A				2,95	5,14	3,16	2,29	1,81	2,00	2,71	1,80	1,00	1,51
	B				—	1,00	1,55	1,60	1,88	2,00	1,00	1,00	—	1,80
	A+B				2,95	5,83	4,71	2,97	3,57	4,00	2,86	2,13	1,00	3,22
H _{hem}	A				0,70	0,88	0,70	0,59	0,47	1,00	0,65	0,67	0,00	0,36
	B				—	—	0,37	0,50	0,50	1,00	—	0,00	—	0,48
	A+B				0,70	0,90	0,80	0,69	0,74	1,00	0,67	0,61	0,00	0,72
	P	A-B				*		**				*		
A-(A+B)								*				*		
G _{eff}	A				0,11	0,38	0,05	0,05	0,04	1,00	0,05	0,40	0,00	0,04
	B				—	—	0,02	0,20	0,06	1,00	—	0,00	—	0,07
	A+B				0,11	0,40	0,05	0,07	0,07	1,00	0,05	0,16	0,00	0,09
Ploc					0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,31
nRid					4	11	267	19	0	27	1	12	0	0
χ^2									**	—	—	—		

Вибірка														
Широта					50,95	50,99	51,05	51,16	51,12	51,36	51,34	Дніпро	Десна	Разом
Довгота					31,79	31,90	31,87	31,87	32,30	32,87	32,89			
Напівклон					Десна									
№	<i>Ldh-B</i>	<i>Alb</i>	<i>Es-1</i>	Група	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII			
1	77	92	100	A			1					0	1	1
2	77	96	100				11					3	11	14
3	81	92	96									1	0	1
4	81	92	100			1	8			1		9	10	19
5	81	96	100		2	2		2				6	9	15
6	100	92	91									1	0	1
7	100	92	96									4	0	4
8	100	92	100			4	1			6	5	91	16	107
9	100	96	96									13	0	13
10	100	96	100		2	2	3					64	21	85
11	100	96	110									2	0	2
12	66	92	96	B								14	0	14
13	66	92	100				1		5	3	14	37	23	60
14	66	96	96									8	0	8
15	66	96	100		5	1	44	11			1	8	62	70
16	66	96	110				2					0	2	2
<i>n</i>	A				4	9	24	2	0	7	22	194	68	262
	B				5	1	47	11	5	3	15	67	87	154
	A+B				9	10	71	13	5	10	37	261	155	416
<i>N_{hem}</i>	A				2	4	5	1	0	2	3	10	6	11
	B				1	1	3	1	1	1	2	4	3	5
	A+B				3	5	8	2	1	3	5	14	9	16
<i>N_{eff}</i>	A				2,00	3,24	2,94	1,00	—	1,32	2,10	2,96	4,62	3,49
	B				1,00	1,00	1,14	1,00	1,00	1,00	1,00	2,65	1,73	2,71
	A+B				2,45	3,85	2,36	1,35	1,00	2,17	2,86	4,73	4,47	6,09
<i>H_{hem}</i>	A				0,67	0,78	0,69	0,00	—	0,29	0,55	0,67	0,80	0,72
	B				0,00	—	0,12	0,00	0,00	0,00	0,13	0,63	0,43	0,63
	A+B				0,67	0,82	0,58	0,28	0,00	0,60	0,71	0,79	0,78	0,84
	P	A-B	A-(A+B)			*	***		*		**	*	***	***
<i>G_{eff}</i>	A				0,33	0,28	0,08	0,00	—	0,05	0,05	0,01	0,05	0,01
	B				0,00	—	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03	0,01	0,01
	A+B				0,18	0,32	0,02	0,07	0,00	0,13	0,06	0,01	0,02	0,01
Ploc					0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	—	—	—
nRid					0	2	0	0	0	18	59	—	—	—
χ^2					—		**	—	—	—	**	**		**

Примітка. 1. *n* – кількість гібридних особин, nRid – кількість особин озерної жаби. Генотипи рекомбінантного походження показано курсивом. 3. Позначення див. «Матеріал і методи».

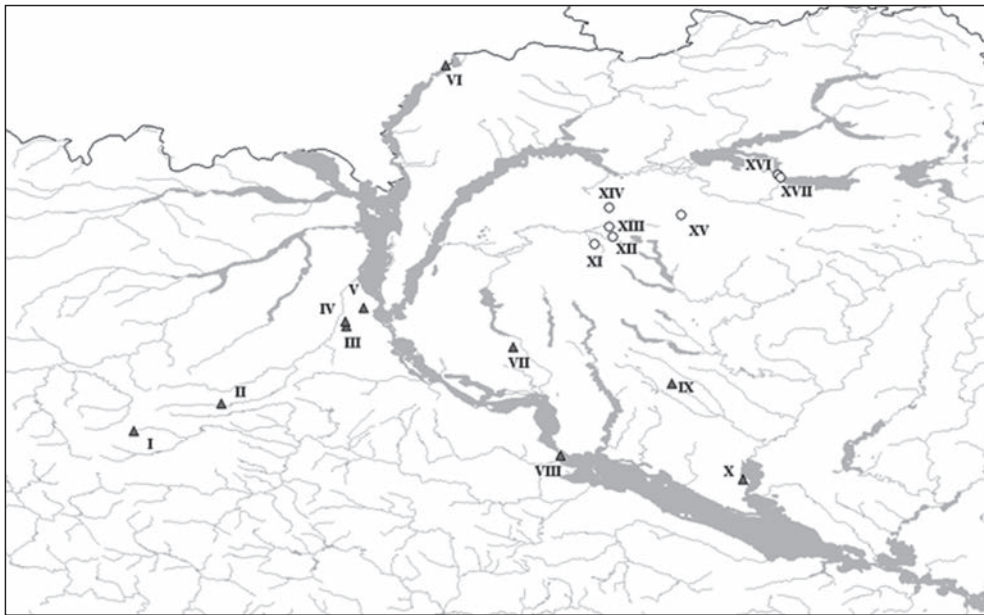


Рис. 1. Географічне розташування вибірок гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* басейнів Дніпра та Десни

Для всіх статевозрілих гібридних особин була визначена стать, оскільки статева структура гібридної форми коливається в широких межах (Berger, Uzzell, Hotz, 1988; Morozov-Leonov, Mezherin, Kurtyak, 2003; Doležalková-Kašánková et al., 2018).

Для вибірок були розраховані наступні параметри.

Кількість напівклонів (Nhem). Визначається шляхом прямого підрахунку кількості електрофоретично неідентичних гаплотипів.

Спостережувана частка напівклонів (Pobs). Розраховується за формулою $P_i = n_i / \Sigma n$, де n_i – кількість особин, що несуть i -й гаплотип.

Очікувана частка напівклонів (Pexp). Значення було розраховано виходячи з припущення про випадковий характер поєднання алелей різних генів у полігенних гаплотипах. Його було обчислено множенням частот алелей відповідних генів. Наприклад, для гаплотипу $Ldh-B^{77} - Alb^{92} - Es-I^{96}$ $P_{exp} = P(Ldh-B^{77}) * P(Alb^{92}) * P(Es-I^{96})$.

Ефективна кількість напівклонів (Neff). Обчислено за формулою $N_{eff} = 1 / \Sigma (P_i^2)$, де P_i – частота i -го гаплотипу у зразку (Parker, 1979).

Напівклональна гетерозиготність (Hhem). Розраховано за формулою, подібною до формули

очікуваної гетерозиготності для одного гена $H_{hem} = (1 - \Sigma (P_i^2)) * n / (n-1)$, де P_i – частота i -го гаплотипу у вибірці, n – об'єм вибірки (Nei, Roychoudhury, 1974).

Індекс напівклональної різноманітності (Geff). Розраховується за формулою $G_{eff} = (N_{eff}) / (n-1)$ (Dorken, Eckert, 2001).

Частота локального напівклонів (Ploc) обчислюється за формулою $P_{loc} = \Sigma P_{loc_i}$, де P_{loc_i} – це частота i -го геміклонів, виявленого лише у цій популяції.

Статистичну обробку проводили із застосуванням стандартних критеріїв. Тестування відповідності спостережуваного розподілу гаплотипів очікуваному проводили за допомогою тесту χ^2 . Порівняння частот напівклонів, значень Nhem та Geff – за допомогою Фі-критерію Фішера.

Результати. Генотипічна структура *P. esculentus-ridibundus* в межах дослідженої території. Було ідентифіковано 262 гібридні особини *P. esculentus-ridibundus* з нерекомбінантними генотипами та 170 з рекомбінантними. Серед рекомбінантів 162 особини (95 %) були рекомбінантами за одним геном. Для 154 особин (91 %) цим геном був *Ldh-B*. Раніше було продемонстровано чужорідне походження алелю

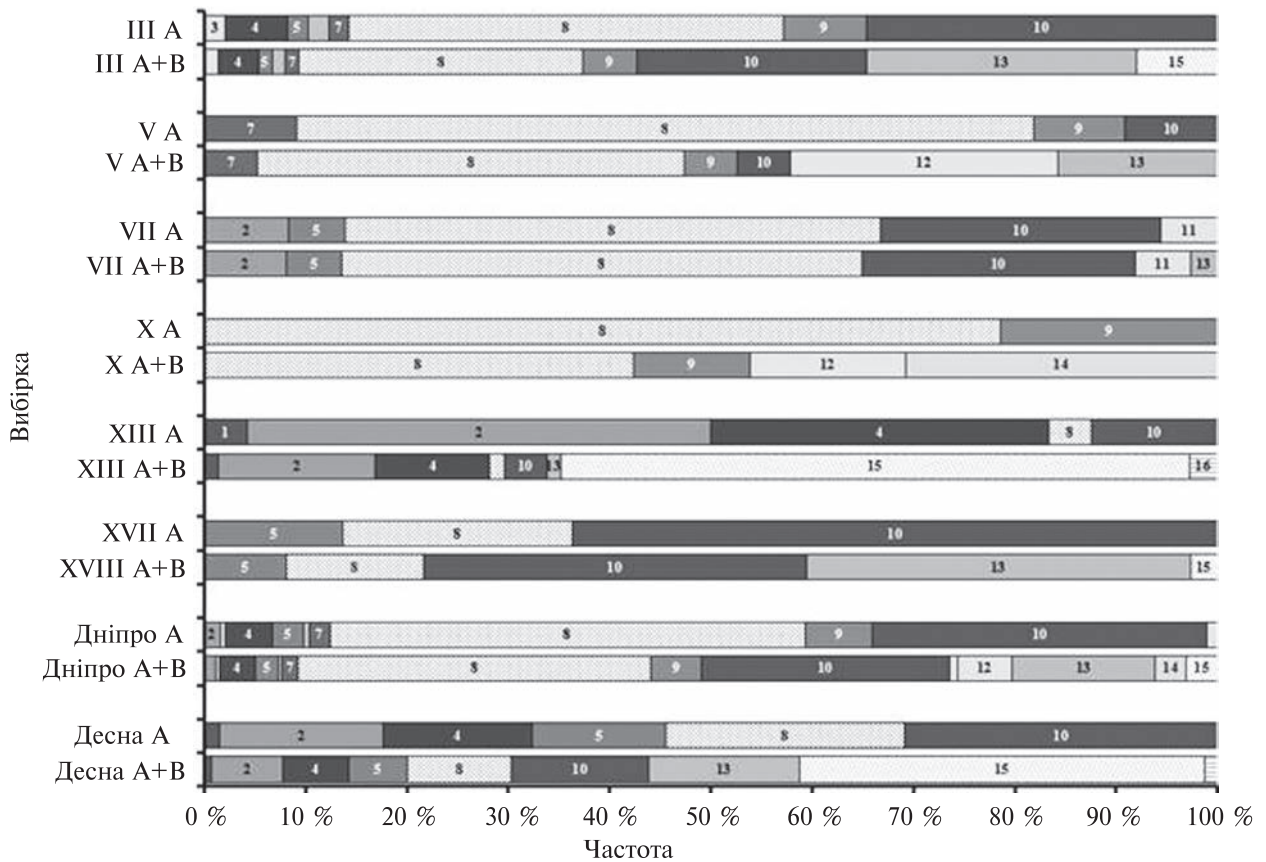


Рис. 2. Напівкломальне різноманіття гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* басейнів Дніпра та Десни в нормі (А) та за наявності рекомбінантів (А+В)

Ldh-B⁶⁶, який є ідентичним нормальному аелю ставкової жаби *Ldh-B⁶⁴*, а також його стабільне успадкування (Mezhzherin, Morozov-Leonov, 1994a, b). Для спрощення подальшого аналізу генотипів рекомбінантних гібридів ми використовували виключно рекомбінантів з генотипом успадкованого геному *Ldh-B^E - Alb^R - Es-I^R*, де E – аель ставкової жаби, а R – аель озерної жаби (табл. 1).

Поліклональна будова успадкованого геному *P. esculentus-ridibundus* у популяціях Дніпра та Десни. У межах дослідженого регіону для *P. esculentus-ridibundus* було виявлено 11 нормальних та 5 рекомбінантних напівклонів успадкованого R-геному (табл. 1, рис. 2). Кількість напівклонів в одній вибірці коливалась від 1 до 10 у дніпровських популяціях та від 1 до 8 у деснянських. Ефективна кількість напівклонів у будь-якій вибірці була нижчою спостереженої

і досягала 5,83 в басейні Дніпра (вибірка II) та 3,85 у Десні (вибірка XII).

Чотири напівклони мають найвищу частоту в досліджуваному регіоні в цілому: 8 (*Ldh-B¹⁰⁰ - Alb⁹² - Es-I¹⁰⁰*), 10 (*Ldh-B¹⁰⁰ - Alb⁹⁶ - Es-I¹⁰⁰*), 13 (*Ldh-B⁶⁶ - Alb⁹² - Es-I¹⁰⁰*), 15 (*Ldh-B⁶⁶ - Alb⁹⁶ - Es-I¹⁰⁰*) (рис. 2). Їхня сумарна частота дорівнює 0,77. Середня частота кожного з цих напівклонів становить 0,19. Загальна частота інших 12 напівклонів становить 0,23 (у середньому 0,02, тобто на порядок менше).

Частота напівклонів у окремій вибірці зазвичай не перевищує 0,50 (94 % випадків у популяціях басейну Дніпра та 81 % випадків у популяціях басейну Десни, рис. 3). Фіксація окремого напівклонів в популяції була виявлена двічі в межах досліджуваної території. Розподіл частот напівклонів у межах популяції для досліджуваного регіону подібний до розподілу

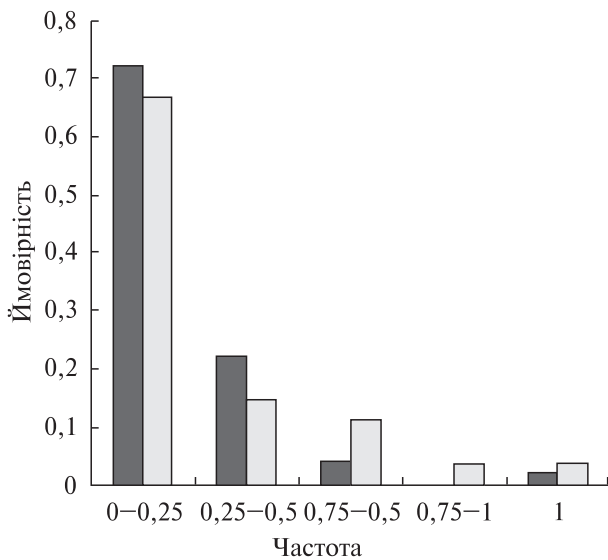


Рис. 3. Розподіл внутрішньопопуляційної частоти напівклонів гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* у вибірках басейнів Дніпра (темносірий колір) та Десни (світлосірий колір)

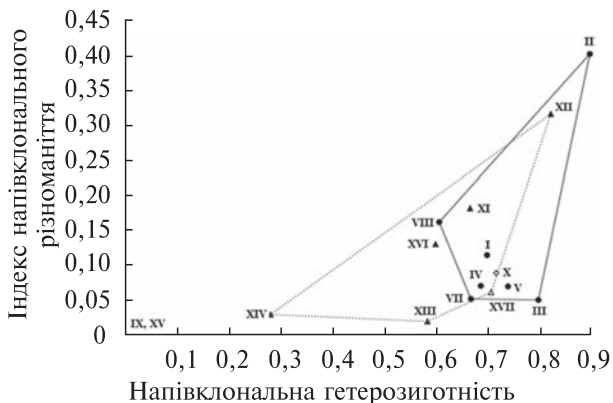


Рис. 4. Значення індексів генетичного різноманіття напівклонів гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* у вибірках басейнів Дніпра і Десни

для популяцій басейнів Тиси, Дністра та Південного Бугу, вивчених раніше (Морозов-Леонов, 2017, 2019).

Рекомбінантні гібриди *P. esculentus-ridibundus* у басейнах Дніпра та Десни. У популяціях Дніпра частота рекомбінантів у вибірках *P. esculentus-ridibundus* коливається від 0,03 (вибірка VII) до 0,46 (вибірка X) для вибірок, що містять більше 20 особин. У популяціях Десни ця частка коливається в межах від 0,10 (вибірка XII) до 0,85 (вибірка XIV). Сумарно у вибірках

басейну Дніпра частота рекомбінантів серед гібридів *P. esculentus-ridibundus* становить 0,257, тоді як у вибірках Десни вона в 2,2 рази вища і дорівнює 0,561 ($P > 0,999$). Частка рекомбінантів у вибірках не демонструє достовірної кореляції з широтою та довготою (коефіцієнти кореляції дорівнюють 0,39 та 0,41 відповідно).

Міжпопуляційна диференціація *P. esculentus-ridibundus* у басейнах Дніпра та Десни. Локальні напівклони були виявлені в 4 вибірках із 17. Частота локальних напівклонів, якщо вони є, становить 0,03–0,05 (вибірки III, VII, XIII); лише у вибірці X вона досягає 0,31 (табл. 1).

Генетична мінливість успадкованого геному *P. esculentus-ridibundus* у басейнах Дніпра та Десни. Усі досліджені вибірки можна розділити на три групи (табл. 1, рис. 4). Першу групу складають вибірки, в яких зафіксовано одиничний напівклон (вибірки IX, XV). Вони мають нульовий рівень генетичної мінливості успадкованого R-геному ($H_{hem} = G_{eff} = 0$). Друга група (вибірка XIV) характеризується проміжним рівнем значень цих показників ($H_{hem} = 0,28$, $G_{eff} = 0,03$). Всі інші вибірки можна віднести до групи з високим рівнем значень обох індексів ($H_{hem} = 0,58–0,90$, $G_{eff} = 0,02–0,40$). Вибірку VI не залучено через її невеликий обсяг. Міжгрупові відмінності у значеннях H_{hem} є достовірними ($P > 0,95–0,99$).

Виявлено чіткий взаємозв'язок між видовим складом вибірки та рівнем генетичної мінливості успадкованого геному. У вибірках, що мають нульовий та середній рівні генетичної мінливості успадкованого R-геному, озерна жаба відсутня (табл. 1). Для сумарної вибірки з дніпровських популяцій (там, де озерна жаба відсутня) значення H_{hem} становило 0,61 ($n = 77$), що значно нижче, ніж для сумарної вибірки з популяцій, де цей батьківський вид присутній. Значення H_{hem} там становить 0,75 ($n = 184$, $P > 0,95$). Така ж картина виявляється в популяціях Десни, де за відсутності озерної жаби H_{hem} становить 0,52 ($n = 98$), а в присутності 0,71 ($n = 57$, $P > 0,95$). Поєднання всіх вибірок, відібраних в межах досліджуваної території, демонструє більш суттєві відмінності. Сумарна вибірка, відібрана з популяцій без озерної жаби, має $H_{hem} = 0,559$ ($n = 175$), а в сумарній вибірці з популяцій, де виявлено озерну жабу, значення H_{hem} наба-

гато вище і дорівнює 0,739 ($n = 241$, $P > 0,999$) (табл. 1, рис. 4).

Алельна мінливість діагностичних генів *P. esculentus-ridibundus* у басейнах Дніпра та Десни. Алельні частоти діагностичних генів успадкованого геному для великих вибірок ($n > 20$) і в цілому для обох басейнів наведені в табл. 2. Аналіз мінливості діагностичних генів показав поліморфізм генів *Ldh-B* та *Alb* у всіх зразках. Ген *Es-1* був мономорфним лише у вибірках IV, XVII.

Порівняльний аналіз показав суттєві відмінності алельних частот між нерекомбінантними гібридами та рекомбінантами у вибірках III (*Es-1*), V, X (*Alb*, *Es-1*), XIII, XVII (*Alb*) та для сумарної вибірки басейну Дніпра (*Alb*, *Es-1*). Більше того, для рекомбінантів у вибірках III та X ген *Es-1* та у вибірці V ген *Alb* є мономорфними (табл. 3). Відповідно, очікувана гетерозиготність діагностичних генів у нерекомбінантів вища, ніж у рекомбінантів у вибірках III, X (*Es-1*), V, XVII (*Alb*), XIII та у сумарній вибірці басейну Дніпра (*Alb*, *Es-1*). Значимість відмінностей частоти алелів та очікуваної гетерозиготності між нерекомбінантами та рекомбінантами наведено у табл. 3.

Рівновага генетичної структури *P. esculentus-ridibundus* у басейнах Дніпра та Десни. На відміну від вибірок з раніше вивчених басейнів (Морозов-Леонов, 2017; 2019), у деяких вибірках басейнів Дніпра та Десни (V, XIII, XVII) спостерігається суттєве відхилення реального розподілу гаплотипів від очікуваного (табл. 1 і 3). У двох із трьох популяцій (вибірки V, XIII) спостерігалася тенденція до зменшення частоти рідкісних напівклонів та збільшення частоти чисельних. На практиці відношення загальної кількості напівклонів, що зменшили частоту, до загальної кількості тих, хто її збільшив, становило 1 : 3 (вибірка V) або навіть 1 : 13 (вибірка XIII).

Статева структура *P. esculentus-ridibundus* у басейнах Дніпра та Десни. Серед нерекомбінантних гібридів у 6 вибірках (і для досліджуваного регіону в цілому) чисельно переважали самці (табл. 4) ($P > 0,95-0,999$). Частка самців серед нерекомбінантних гібридів не вказує на суттєві відмінності між сумарними вибірками басейнів Дніпра та Десни (0,71–0,72 для обох річок). Серед рекомбінантних гібридів у

вибірках III, X, XIII (і загалом для досліджуваного регіону) також чисельно переважали самці (табл. 4) ($P > 0,999$). Частка самців серед рекомбінантних гібридів не вказує на суттєві відмінності між сумарними вибірками басейнів Дніпра та Десни (0,91 для Дніпра та 0,97 для Десни). У басейнах цих річок в цілому частота гібридних самців значно вища серед рекомбінантів, ніж серед нерекомбінантів ($P > 0,999$).

Підвищення рівня генетичної мінливості *P. esculentus-ridibundus*, спричинене рекомбінацією батьківських геномів. Напівклональна структура дослідженої гібридної форми збагачується новими напівклонами рекомбінантного походження (табл. 1 і рис. 2). У більшості популяцій ця зміна підвищила рівень генетичної мінливості успадкованого R-геному. У деяких випадках це збільшення було достовірним. У вибірці V рівень H_{het} , будучи за відсутності рекомбінантів рівним 0,47, у їх присутності становив 0,74 ($P > 0,95$). У вибірці X подібне збільшення було двократним (з 0,36 до 0,72, $P > 0,95$). В цілому приріст H_{het} був достовірним для сумарної вибірки дніпровського басейну (з 0,666 до 0,792, $P > 0,99$).

Обговорення. Поліклональна будова успадкованого геному *P. esculentus-ridibundus* у популяціях Дніпра та Десни. Дані, отримані в ході цього та попередніх досліджень, показують, що загалом на території України ця гібридна форма є переважно поліклональною (Морозов-Леонов, 2017; 2019). Подібне переважання поліклональності було продемонстровано для популяцій Західної Європи (Hotz et al., 2008).

Загалом популяції України (басейни Тиси, Дністра, Південного Бугу, Прип'яті, Дніпра та Десни) характеризуються внутрішньопопуляційним розподілом частот напівклонів, які можна описати формулою «мало масових напівклонів і багато рідкісних» (Морозов-Леонов, 2017; 2019). Універсальність цієї закономірності підтверджується подібним розподілом частот напівклонів в інших популяціях *P. esculentus-ridibundus* (Vorburger, 2001; Vorburger, Reyer, 2003; Hotz et al., 2008). Більше того, подібна картина спостерігається в популяціях інших (напів)клональних форм (Dybdaahl, Lively, 2002).

Найбільш вірогідною причиною такого розподілу частот внутрішньопопуляційної частоти

Таблиця 2. Алельні частоти поліморфних діагностичних генів успадкованого геному у вибірках гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* басейнів Дніпра і Десни

Ген	Алель	Вибірка											
		III			IV			V			X		
		B	A	A+B	B	A	A+B	B	A	A+B	B	A	A+B
<i>Ldh-B</i>	81		0,10	0,07		0,08	0,07						
	100		0,90	0,59		0,92	0,79		1,00	0,58		1,00	0,54
			***						***			***	
	66	1,00		0,35	1,00		0,14	1,00		0,42	1,00		0,46
			***			*			***			***	
<i>Alb</i>	92	0,77	0,55	0,63	0,75	0,60	0,62	1,00	0,82	0,89	0,33	0,79	0,58
								*			*		
	96	0,23	0,45	0,37	0,25	0,40	0,38		0,18	0,11	0,67	0,21	0,42
								*			*		
<i>Es-I</i>	91		0,02	0,01									
	96		0,12	0,08				0,62	0,18	0,37	1,00	0,21	0,58
			***					**			**		*
	100	1,00	0,86	0,91	1,00	1,00	1,00	0,38	0,82	0,63		0,79	0,42
			**					**			**		*
													*
	<i>n</i>	26	49	75	4	25	29	16	22	38	12	14	26
Ген	Алель	Вибірка						Дніпро сумарно			Десна сумарно		
		XIII			XVII			B	A	A+B	B	A	A+B
		B	A	A+B	B	A	A+B						
<i>Ldh-B</i>	77		0,50	0,17					0,015	0,011		0,176	0,077
			***									*	
	81		0,33	0,11		0,14	0,08		0,082	0,061		0,279	0,123
			*								**		
	100		0,17	0,06		0,86	0,51		0,902	0,670		0,544	0,239
						**			***		***		***
	66	1,00		0,66	1,00		0,41	1,000		0,257	1,000		0,561
			***			***			***		***		***
<i>Alb</i>	92	0,02	0,42	0,15	0,93	0,23	0,51	0,761	0,546	0,602	0,264	0,397	0,323
			***		***								
			*			*							
	96	0,98	0,58	0,85	0,07	0,77	0,49	0,239	0,454	0,398	0,736	0,603	0,677
		***			***								
			*			*							

Ген	Алель	Вибірка						Дніпро сумарно			Десна сумарно		
		XIII			XVII			B	A	A+B	B	A	A+B
		B	A	A+B	B	A	A+B						
<i>E_S-I</i>	91							0,005	0,004				
	96							0,328	0,093	0,153			

	100	0,96	1,00	0,97	1,00	1,00	1,00	0,672	0,892	0,835	0,977	1,000	0,987

	110	0,04		0,03					0,010	0,008	0,023		0,013
	<i>n</i>	47	24	71	15	22	37	67	194	261	87	68	155

є статистичний процес втрати генетичного різноманіття, який завжди відбувається в популяціях кінцевого розміру (Dukić et al, 2019). Ефективний розмір популяції зелених жаб навряд чи буде достатньо великим, щоб компенсувати цю втрату за рахунок появи нових мутацій. Як показують дані, отримані для європейського виду *Pelophylax perezi*, середня кількість дорослих особин, що беруть участь у розмноженні, становить близько 69 (49–98) (Sánchez-Montes et al, 2017).

Рекомбінантні гібриди P. esculentus-ridibundus у басейнах Дніпра та Десни. Інтрогресія генів у гібридних популяціях жаб була надійно продемонстрована як для мітохондріальних послідовностей (Plötner et al, 2008; Hofman et al, 2012), так і для ядерної ДНК (Mikulíček et al, 2014; Dufresnes et al, 2018). У гібридних особин під час гаметогенезу рекомбінація може відбуватися як між конспецифічними, так і між гетероспецифічними геномами. Рекомбінація першого типу відома для алотриплоїдних зелених жаб (Christiansen, Reyer, 2009), а також для карпових риб (Cunha et al, 2011). Рекомбінація другого типу відома для саламандр (Bi, Vogart, 2006). Однак ці дослідження не дозволяють оцінити значення рекомбінації між «класичними» генами, що кодують білки. Наші результати демонструють широко розповсюджену рекомбінацію між такими генами в популяціях *P. esculentus-ridibundus* щонайменше у двох річкових басейнах України. Таким чином, рекомбінація між гетероспецифічними

геномами всередині *P. esculentus-ridibundus* не є ні рідкісним, ні локальним явищем.

Наші дані про нерівномірний внесок різних генів у процес генерації рекомбінантних генотипів узгоджуються з отриманими раніше результатами. Відсоток гібридних жаб, які є рекомбінантами лише за геном *Ldh-B* (близько 86 %), збігається з нашими попередніми результатами (близько 77 %) (Mezhzherin, Morozov-Leonov, 1997). Подібна ситуація спостерігається в балканських популяціях *P. esculentus-ridibundus*, де рекомбінація також відбувається переважно за участю гена *Ldh-B* (близько 48 % всіх виявлених випадків) (Čavlović et al, 2018). Це дозволяє припустити, що, як правило, одна пара хромосом, що несе ген *Ldh-B*, бере участь переважно в рекомбінації. Більше того, рекомбінуються між собою невеликі ділянки гомеологічних хромосом, оскільки молекулярні цитогенетичні дослідження продемонстрували каріологічну цілісність успадкованого геному для *P. esculentus-ridibundus*, принаймні у популяції Центральної Європи (Doležalková et al, 2016; Doležalková-Kaštánková et al, 2018).

Генетична мінливість успадкованого геному P. esculentus-ridibundus у басейнах Дніпра та Десни. В обох досліджених нами басейнах ця гібридна форма демонструє тенденцію до втрати генетичної мінливості у разі напівклонального успадкування. Повторна гібридизація батьківських видів може компенсувати цю втрату завдяки продукуванню гібридів F₁, у яких рівень мінливості успадкованого R-геному не відріз-

няється від властивого батьківському виду. За відсутності озерної жаби гібриди F₁ не утворюються, а рівень генетичної мінливості успадкованого геному *P. esculentus-ridibundus* знижується (вибірка XIV). З часом він неминуче стає нульовим, як це було продемонстровано для популяцій Дніпра (вибірка IX), Десни (вибірка XV) та раніше в популяціях Прип'яті (Морозов-Леонов, 2019). Обґрунтованість цієї

гіпотези може бути підтверджена порівнянням рівнів мінливості діагностичних генів успадкованого R-геному між двома класами гібридів. Нерекомбінантні гібриди (які можуть містити домішку гібридів F₁) та рекомбінантні гібриди (серед яких не може бути гібридів F₁) у деяких вибірках демонструють суттєві відмінності в алейних частотах діагностичних генів. У вибірках III та X ген *Es-1* у рекомбінантів має тен-

Таблиця 3. Рівновага генетичної структури гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* у вибірках басейнів Дніпра і Десни

Напівклон				Вибірка					
№	<i>Ldh-B</i>	<i>Alb</i>	<i>Es-1</i>	V		XIII		XVII	
				Nexp	Nobs.	Nexp	Nobs.	Nexp	Nobs.
1	77	92	100			1,81	1		
	77	92	110			0,05			
2	77	96	100			9,86	11		
	77	96	110			0,29			
4	81	92	100			1,20	8	1,54	
	81	92	110			0,03			
5	81	96	100			6,57		1,46	3
	81	96	110			0,19			
7	100	92	96	7,25	2				
	100	92	100	12,43	16	0,60	1	9,76	5
8	100	92	110			0,02			
	100	96	96	0,85	2				
9	100	96	100	1,46	2	3,29	3	9,24	14
	100	96	110			0,10			
12	66	92	96	5,27	10				
13	66	92	100	9,04	6	7,08	1	7,70	14
	66	92	110			0,21			
14	66	96	96	0,62					
15	66	96	100	1,06		38,60	44	7,30	1
16	66	96	110			1,12	2		
<i>n</i>				38	38	71	71	37	37
Hhem				Exp.	Obs.	Exp.	Obs.	Exp.	Obs.
				0,80	0,74	0,67	0,58	0,80	0,71
Hemiclone	<i>n</i>	Δ+	Δ+	20	30	51	66	18	31
			Δ-	18	8	20	5	19	6
		P	Δ+	0,53	0,79	0,72	0,93	0,50	0,84
			Δ-	0,47	0,21	0,28	0,07	0,50	0,16
χ ²				10,51		15,05		17,15	
P				***		***		***	

Примітка. *n* – загальна чисельність особин, *p* – їхня сумарна частота. Δ+ – напівклони, чия спостережувана чисельність вища за очікувану, Δ- – напівклони, чия спостережувана чисельність нижча за очікувану. P – достовірність.

денцію до зменшення частоти рідкісного алелю (тобто до гомозиготизації цього гена). Така ж ситуація виявилася для гена *Alb* у вибірках XIII та XVII (табл. 2). У цьому випадку стає зрозумілою причина того, що у трьох популяціях (вибірки VIII, XI, XVI) із 17 досліджених нерекомбінантні гібриди є поліклональними, тоді як рекомбінантні – моноклональними (табл. 1).

Рівновага генетичного складу P. esculentus-ridibundus у басейнах Дніпра та Десни. На відміну від вибірок з раніше вивчених річкових басейнів (Морозов-Леонов, 2017; 2019), у басейнах Дніпра та Десни реальний розподіл генотипів успадкованого геному відрізняється від очікуваного. У цьому випадку відмінності виникають внаслідок того, що спостережувана чисельність рідкісних напівклонів часто нижча за очікувану, як раніше було виявлено іншими дослідниками (Vorburger, Reyer, 2003). Іншими слова-

ми, в процесі чергування поколінь *P. esculentus-ridibundus* передусім втрачаються рідкісні напівклони. З 16 напівклонів, виявлених у цьому дослідженні, п'ять вже можна класифікувати як рідкісні. Три (напівклони 1, 3 і 6) представлені поодинокими тваринами, тоді як напівклони 11 і 16 були знайдені лише у двох тварин. Очевидно, що серйозне зменшення популяції цієї гібридної форми спричинить зникнення у першу чергу таких рідкісних напівклонів. Відповідно збільшиться частота масових напівклонів.

Статева структура P. esculentus-ridibundus у Дніпровському та Десненському басейнах. Отримані дані демонструють чітку тенденцію до більшої частоти самців серед рекомбінантних гібридів порівняно з нерекомбінантами. Більше того, в одній із вибірок (XIII) та у сумарних вибірках ці відмінності є достовірними. Можна запропонувати два пояснення цього явища.

Таблиця 4. Статева структура гібридної форми *Pelophylax esculentus-ridibundus* басейнів Дніпра та Десни

Група	Стать	Вибірка									
		Дніпро									
		I	II	III	IV	V	VII	VIII	IX	X	
A	♀♀	7	2	8	3	3	9	0	4	5	
	♂♂	7	0	35	7	16	24	2	4	8	
	χ^2			***	*	***	***				
B	♀♀	0	0	1	2	0	0	0	0	1	
	♂♂	0	1	18	0	6	1	2	0	11	
	χ^2			***						***	
A+B	♀♀	7	2	9	5	3	9	0	4	6	
	♂♂	7	1	53	7	22	25	4	4	19	
	χ^2			***		***	***			***	

Група	Стать	Вибірка					Сумарно	
		Дніпро					Дніпро	Десна
		XIII	XIV	XV	XVI	XVII		
A	♀♀	7	2	0	2	2	41	13
	♂♂	18	0	0	2	12	103	32
	χ^2	***				***	***	***
B	♀♀	0	1	0	0	1	4	2
	♂♂	49	6	5	3	8	39	71
	χ^2	***					***	***
A+B	♀♀	7	3	0	2	3	45	15
	♂♂	67	6	5	5	20	142	103
	χ^2	***				***	***	***

Можливо, під час переходу від поліклональності до моноклональності напівклон, що вижив, також несе Y-хромосому. У цьому випадку кожен рекомбінантний гібрид буде самцем. Однак механізм фіксації в різних популяціях саме такого напівкльону незрозумілий. Більше того, у вибірці IV обидва ідентифіковані рекомбінанти були самицями. Тому таке пояснення слід вважати незадовільним.

Набагато більш обґрунтованим є припущення, що рекомбінантна хромосома, присутня в гібридному каріотипі жаби, впливає на фенотип рекомбінантних гібридів. Це підтверджується тим фактом, що ген *Ldh-B* та статевий фактор у обох батьківських видів локалізовані в одній хромосомі 4 (Hotz, Uzzell, Berger, 1997). Можливо, така рекомбінантна хромосома має аномальну структуру, оскільки кроссінговер між гомеологічними хромосомами може відбуватися неправильно і спричинити перебудову геному (Jelesko et al, 1999).

Підвищення рівня генетичної мінливості P. esculentus-ridibundus, спричинене рекомбінацією батьківських геномів. Рекомбінація батьківських геномів у популяціях *P. esculentus-ridibundus* може бути механізмом компенсації втрати початкового еволюційного потенціалу. У двох вибірках (V і X), а також у сумарній вибірці з популяцій басейну Дніпра ця компенсація виявилася ефективною. Збагачення успадкованого геному внаслідок інтрогресії дозволяє уникнути переходу до моноклональності (що є симптомом втрати генетичної мінливості). Структура вибірки XIV є показовою, оскільки там зберігається поліклональність завдяки співіснуванню двох класів гібридів, кожен з яких є моноклональним. Наші дані узгоджуються з результатами інших досліджень, які також продемонстрували позитивний вплив інтрогресивної гібридизації на генетичну мінливість та еволюційний потенціал гібридних форм (Grant, Grant, 2019). Отже, рекомбінація батьківських геномів у *P. esculentus-ridibundus* може мати значний вплив на еволюційно-генетичні процеси, що відбуваються в популяціях цієї гібридної форми, поряд із класичними наслідками гібридизації як такої (збільшення рівня мутацій та перебудови геномів) (Bashir et al., 2018).

Таким чином, генетичну структуру *P. esculentus-ridibundus* із популяцій басейнів Дніпра

та Десни можна охарактеризувати як переважно поліклональну. В межах кожної популяції, як правило, виявлялося мало численних і багато рідкісних напівклонів. У цьому випадку значення рівня генетичної мінливості успадкованого геному залежить від взаємодії двох процесів – зниження в результаті втрати рідкісних напівклонів та збільшення в результаті появи нових напівклонів, що мають рекомбінантне походження.

Висновки. Гібридна форма *P. esculentus-ridibundus* із популяцій Дніпровського та Десненського басейнів має загалом поліклональну структуру.

Рівень генетичної мінливості успадкованого геному *P. esculentus-ridibundus* у досліджуваній зоні коливається в широких межах. У деяких популяціях ця гібридна форма представлена одиничним напівкльоном. Зниження рівня генетичної мінливості відбувається головним чином за рахунок втрати рідкісних напівклонів.

Специфічною особливістю *P. esculentus-ridibundus* з популяцій басейнів Дніпра та Десни є рекомбінація батьківських геномів. Це призводить до появи нових напівклонів і підвищує рівень генетичної мінливості успадкованого геному цієї гібридної форми.

Автор щиро вдячний колегам – доктору біологічних наук, професору С.В. Межжеріну, к.б.н. О.Д. Некрасовій, к.б.н. Л.І. Разводовській, к.б.н. О.В. Ростовській за неоціненну допомогу у зборі первинного матеріалу, його лабораторній обробці, інтерпретації отриманих даних та підготовці рукопису цієї статті.

Дотримання етичних стандартів. У ході виконання дослідження було дотримано етичних норм. Нами застосовано прижиттєвий аналіз тварин. Джерелом білків був фрагмент великого пальця задньої кінцівки.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Дану роботу було виконано у межах реалізації перспективного робочого плану досліджень Інституту зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України «Еволюційно-генетичні наслідки антропогенної трансформації тваринного світу» (№ III-38-16).

EVOLUTIONARY POTENTIAL OF THE HYBRID FORM *PELOPHYLAX ESCULENTUS-RIDIBUNDUS* (AMPHIBIA, RANIDAE) WITHIN DNEIPER AND DESNA DRAINAGES: ITS LOSS CAUSED BY THE HEMICLONAL INHERITANCE AND THE COMPENSATORY ROLE OF PARENTAL GENOMES RECOMBINATION

S.Yu. Morozov-Leonov

Schmalhausen Institute of Zoology, Kyiv-30, 01601 Ukraine

E-mail: morleone2000@yahoo.com

The hemiclinal structure of the hybrid form *Pelophylax esculentus-ridibundus* (Amphibia: Ranidae) within the Dnieper and Desna rivers basins was analyzed. The presence of polyclonality in almost all populations was demonstrated. The monoclonality of the studied hybrid form was revealed in only 2 out of 17 populations studied. Wide fluctuations in the level of genetic variability within *P. esculentus-ridibundus* in the study area were shown. The decrease in the genetic variation level was caused by the loss of rare hemiclones. A specific feature of *P. esculentus-ridibundus*, detected in the studied populations in the Dnieper and Desna basins, is the recombination of parental genomes. This leads to the emergence of new hemiclones and increases the genetic variation level of the inherited genome within this hybrid form.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Arnold M.L., (2003) Natural hybridization as an evolutionary process. *Annu Rev Ecol Systemat.* doi: 10.1146/annurev.es.23.110192.001321
- Bashir T., Chandra Mishra R., Hasan M.M., Mohanta T.K., Bae H. (2018) Effect of hybridization on somatic mutations and genomic rearrangements in plants. *Int J Mol Sci.* doi: 10.3390/ijms19123758
- Berger L., Uzzell T., Hotz H. (1988) Sex determination and sex ratios in western Palearctic water frogs: XX and XY female hybrids in the Pannonian Basin? *Proc Acad Nat Sci Philadelphia.* doi: <https://www.jstor.org/stable/4064926>
- Bi K., Bogart J. (2006) Identification of intergenomic recombination in unisexual salamanders of the genus *Ambystoma* by genomic *in situ* hybridization (GISH). *Cytogenet Genome Res.* doi: 10.1159/000089885
- Čavlović K., Buj I., Karaica D., Jelić D., Choleva L. (2018) Composition and age structure of the *Pelophylax esculentus* complex (Anura; Ranidae) population in inland Croatia. *Salamandra* 54:11–20
- Christiansen D.G., Reyer H.U. (2009) From clonal to sexual hybrids: genetic recombination via triploids in all-hybrid populations of water frogs. *Evolution.* doi: 10.1111/j.1558-5646.2009.00673.x
- Cunha C., Doadrio I., Abrantes J., Coelho M.M. (2011)

- The evolutionary history of the allopolyploid *Squalius alburnoides* (Cyprinidae) complex in the northern Iberian Peninsula. *Heredity.* doi: 10.1038/hdy.2010.70
- Doležalková M., Sember A., Marec F., Ráb P., Plötner J., Choleva L. (2016) Is premeiotic genome elimination an exclusive mechanism for hemiclinal reproduction in hybrid males of the genus *Pelophylax*? *BMC Genetics.* doi: 10.1186/s12863-016-0408-z
- Doležalková-Kašánková M., Pruvost N.B.M., Plötner J., Reyer H.U., Janko K., Choleva L. (2018) All-male hybrids of a tetrapod *Pelophylax esculentus* share its origin and genetics of maintenance. *Biol Sex Differ.* doi: 10.1186/s13293-018-0172-z
- Dorken M.E., Eckert C.G. (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *J Ecol.* doi: 10.1046/j.1365-2745.2001.00558.x
- Dufresnes C., Leuenberger J., Amrhein V., Bühler C., Thiébaud J., Bohnstengel T., Dubey S. (2018) Invasion genetics of marsh frogs (*Pelophylax ridibundus sensu lato*) in Switzerland. *BJLS.* doi: 10.1093/biolinnean/blx140
- Dukić M., Berner D., Haag C.R., Ebert D. (2019) How clonal are clones? A quest for loss of heterozygosity during asexual reproduction in *Daphnia magna*. *JEB.* doi: 10.1111/jeb.13443
- Dybdahl M.F., Lively C.M. (2002) Diverse, endemic, and polyphyletic clones in mixed populations of a freshwater snail (*Potamopyrgus antipodarum*). *JEB.* doi: 10.1046/j.1420-9101.1995.8030385.x
- Forsdyke D.R. (2019) When acting as a reproductive barrier for sympatric speciation, hybrid sterility can only be primary. *BJLS.* doi: 10.1093/biolinnean/blz135
- Genovart M. (2009) Natural hybridization and conservation. *Biodivers Conserv.* doi: 10.1007/s10531-008-9550-x
- Grant P.R., Grant B.R. (2019) Hybridization increases population variation during adaptive radiation. *PNAS.* doi: 10.1073/pnas.1913534116
- Hofman S., Pabijan M., Dzięwulska-Szwajkowska D., Szymura J.M. (2012) Mitochondrial genome organization and divergence in hybridizing central European waterfrogs of the *Pelophylax esculentus* complex (Anura, Ranidae). *Gene.* doi: 10.1016/j.gene.2011.08.004
- Hotz H., Guex G.D., Beerli P., Semlitsch R.D., Pruvost N.B.M. (2008) Hemiclone diversity in the hybridogenetic frog *Rana esculenta* outside the area of clone formation: the view from protein electrophoresis. *J Zool Syst.* doi: 10.1111/j.1439-0469.2007.00430.x
- Hotz H., Uzzell T., Berger L. (1997) Linkage groups of protein-coding genes in Western Palearctic water frogs reveal extensive evolutionary conservation. *Genetics.* 147:255–270
- Jelesko J.G., Harper R., Furuya M., Gruissem W. (1999) Rare germinal unequal crossing-over leading to recombinant gene formation and gene duplication in

- Arabidopsis thaliana*. PNAS. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10302>
- Kajtoch Ł., Lachowska-Cierlik D. (2009) Genetic constitution of parthenogenetic form of *Polydrusus inustus* (Coleoptera: Curculionidae) – hints of hybrid origin and recombinations. *Folia Biol-Krakow*. doi: [10.3409/fb57_3-4.149-156](https://doi.org/10.3409/fb57_3-4.149-156)
- Maheshwari S., Barbash D.A. (2011) The genetics of hybrid incompatibilities. *Annu Rev Genet*. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132514>
- Mezhzherin S.V., Morozov-Leonov S.Yu. (1994) Genetic instability upon hereditary transmission of variants of the Ldh-B locus in hybrid matings between *Rana esculenta* complex forms (Amphibia, Ranidae). *Dokl Akad Nauk*. 339:140–141 (in Russian)
- Mezhzherin S.V., Morozov-Leonov S.Yu. (1994) Genetic defects arising upon hereditary transmission and genetic variation of the Ldh-B locus in hybrid populations of green frogs of the *Rana esculenta* complex (Amphibia, Ranidae). *Izv Akad Nauk*. 5:779–787 (in Russian)
- Mezhzherin S.V., Morozov-Leonov S.Yu. (1997) Gene diffusion in hybrid populations of green frogs *Rana esculenta* L., 1758 complex (Amphibia, Ranidae) from the Dnepr basin. *Russ J Genet* 33: 358–364 (in Russian)
- Mezhzherin S.V., Peskov V.N. (1992) Biochemical variability and genetic differentiation of the marsh frog *Rana ridibunda* Pall. populations. *Cytol Genet*. 26: 43–48 (in Russian)
- Mikulíček P., Kautman M., Demovič B., Janko K. (2014) When a clonal genome finds its way back to a sexual species: evidence from ongoing but rare introgression in the hybridogenetic water frog complex. *JEB*. doi: [10.1111/jeb.12332](https://doi.org/10.1111/jeb.12332)
- Mikulíček P., Kautman M., Kautman J., Pruvost N.B.M. (2015) Mode of hybridogenesis and habitat preferences influence population composition of water frogs (*Pelophylax esculentus* complex, Anura: Ranidae) in a region of sympatric occurrence (western Slovakia). *J Zool Syst*. doi: [10.1111/jzs.12083](https://doi.org/10.1111/jzs.12083)
- Morozov-Leonov S.Yu., Mezhzherin S.V., Nekrasova O.D., Shabanov D.A., Korshunov A.V., Kurtyak F.F. (2009) Inheritance of parental genomes by a hybrid form *Rana “esculenta”* (Amphibia, Ranidae). *Russ J Genet*. doi: [10.1134/S1022795409040061](https://doi.org/10.1134/S1022795409040061) (in Russian)
- Morozov-Leonov S.Ju., Mezhzherin S.V., Kurtyak Th.Th. (2003) The genetic structure of the unisex hybrid *Rana esculenta* complex populations in the Transcarpathians lowland. *Cyt Genet*. 37:43–47 (in Russian)
- Morozov-Leonov S.Yu. (2017) Hemiclone diversity in the hybrid form *Pelophylax esculentus-ridibundus* (Amphibia, Ranidae) from the Tisa river drainage. *Cyt Genet*. doi: [10.3103/S0095452717060093](https://doi.org/10.3103/S0095452717060093). (in Russian)
- Morozov-Leonov S.Yu. (2019) Hemiclone diversity in the hybrid form *Pelophylax esculentus-ridibundus* (Amphibia, Ranidae) from the Prypyat, Dnestr, and Southern Boug river basins. *Cyt Genet*. doi: [10.3103/S0095452719010092](https://doi.org/10.3103/S0095452719010092) (in Russian)
- Nei M., Roychoudhury A.K. (1974) Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 76: 379–390
- Nürnbergger B., Lohse K., Fijarczyk A., Szymura J.M., Blaxter M.L. (2016) Para-allopatry in hybridizing fire-bellied toads (*Bombina bombina* and *B. variegata*): inference from transcriptome-wide coalescence analyses. *Evolution*. doi: [10.1111/evo.12978](https://doi.org/10.1111/evo.12978)
- Parker E.D. (1979) Ecological implications of clonal diversity in parthenogenetic morphospecies. *Am Zool*. doi: <https://doi.org/10.1093/icb/19.3.753>
- Plutner J., Uzzell T., Beerli P., Spolsky C., Ohst T., Litvinchuk S.N., Guex G.D., Reyer H.U., Hotz H. (2008) Widespread unidirectional transfer of mitochondrial DNA: a case in western Palaearctic water frogs. *JEB*. doi: [10.1111/j.1420-9101.2008.01527.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01527.x)
- Quattro J.M., Avise J.C., Vrijenhoek R.C. (1992) An ancient clonal lineage in the fish genus *Poeciliopsis* (Atheriniformes: Poeciliidae). *PNAS*. doi: [10.1073/pnas.89.1.348](https://doi.org/10.1073/pnas.89.1.348)
- Sánchez-Montes G., Wang J., Arico A.H., Vizmanos J.L., Martínez-Solano I. (2017) Reliable effective number of breeders/adult census size ratios in seasonal-breeding species: Opportunity for integrative demographic inferences based on capture–mark–recapture data and multilocus genotypes. *Ecol Evol*. doi: [10.1002/ece3.3387](https://doi.org/10.1002/ece3.3387)
- Scali V., Tinti F., Mantovani B., Marescalchi O. (1995) Mate recognition and gamete cytology features allow hybrid species production and evolution in *Bacillus* stick insects. *Ital J Zool*. doi: [10.1080/11250009509356052](https://doi.org/10.1080/11250009509356052)
- Shang H., Yan Y. (2017) Natural hybridization and biodiversity conservation. *Biodiv Sci*. doi: [10.17520/biods.2017122](https://doi.org/10.17520/biods.2017122)
- Vorburger C. (2001) Fixation of deleterious mutations in clonal lineages: evidence from hybridogenetic frogs. *Evolution*. doi: [10.1111/j.0014-3820.2001.tb00745.x](https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00745.x)
- Vorburger C., Reyer H.U. (2003) A genetic mechanism of species replacement in European waterfrogs? *Conserv Genet*. 4:141–155. doi: [10.1023/A:1023346824722](https://doi.org/10.1023/A:1023346824722)
- Zalešna A., Choleva L., Ogielska M., Rábová M., Marec F., Ráb P. (2011) Evidence for integrity of parental genomes in the diploid hybridogenetic water frog *Pelophylax esculentus* by genomic *in situ* hybridization. *Cytogenet Genome Res*. doi: [10.1159/000327716](https://doi.org/10.1159/000327716)

Надійшла в редакцію 05.11.20
Після доопрацювання 19.12.20
Прийнята до друку 18.05.21