

Studien an einer nordwestdeutschen Grünfroschpopulation als Beitrag zur Bestimmungsproblematik und zur Rolle der Selektion im *Rana esculenta*-Komplex

(Amphibia: Salientia: Ranidae)

HELMUT HEMMER

unter Mitarbeit von ECKEHARD EICH, ALBRECHT LAMPE, HEIDRUN MÜLLER,
WOLFGANG PEES, GERD SCHULER, RUDOLF TWELBECK und KONRAD WOLPERT

Mit 3 Abbildungen

Wie eine Vielzahl von Publikationen aus verschiedenen Arbeitsgruppen in den letzten zehn Jahren gezeigt hat (Literaturzusammenstellung bis 1974 bei HOTZ 1974; BERGER 1976; GÜNTHER 1974, 1975 a, b; GÜNTHER & HÄHNEL 1976; UZZELL & BERGER 1975; UZZELL, BERGER & GÜNTHER 1975; UZZELL, GÜNTHER & BERGER 1977; VOGEL & CHEN 1976) ist der in Mitteleuropa weit verbreitete Wasser- oder Teichfrosch *Rana esculenta* eine Bastardform aus dem großen Seefrosch *Rana ridibunda* und dem Kleinen Wasserfrosch *Rana lessonae*, die sowohl in Mischpopulationen mit einer oder beiden Elternarten, als auch in Reinpopulationen vorkommt. Letztere sind bislang nur aus dem ostdeutschen und polnischen Raum bekannt (GÜNTHER 1974; GÜNTHER & HÄHNEL 1976; UZZELL & BERGER 1975) und enthalten neben diploiden in hohem Prozentsatz triploide Exemplare (GÜNTHER 1975 a; GÜNTHER & HÄHNEL 1976). Die Fortpflanzung von *Rana esculenta* geschieht normalerweise hybridogenetisch, die Nachkommen erhalten jeweils komplette Chromosomensätze von *ridibunda* beziehungsweise *lessonae* (TUNNER 1974; UZZELL & BERGER 1975; UZZELL, GÜNTHER & BERGER 1977), während Rekombinationen, die zu Introgressionen aus dem Genpool der einen in denjenigen der anderen Ausgangsart führen, offenbar nur in geringem Maße vorkommen (GÜNTHER & HÄHNEL 1976; UZZELL, GÜNTHER & BERGER 1977). GÜNTHER & HÄHNEL (1976) weisen darauf hin, daß hierfür nicht nur hybridogenetische Meiosen, sondern auch Selektionsprozesse während der Gametogenese, der Befruchtung und der Embryogenese, ja selbst noch bei späteren Entwicklungsstadien verantwortlich sind.

Um weitere Bausteine zur Komplettierung dieses recht komplexen und erst in seinen Umrissen faßbaren Bildes beizutragen, wurde im Rahmen eines vom Verfasser geleiteten Forschungsseminars am Institut für Zoologie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz im Sommersemester 1976 eine Grünfroschpopulation vom Achmer Flugplatz bei Bramsche (Region Osnabrück, Nordwestdeutschland) studiert. Der Lebensraum dieser Population, von der insgesamt 72 Frösche aller Altersklassen zur Untersuchung kamen,

besteht aus einer Anzahl kleiner Tümpel in ehemaligen Bombentrichtern und einem größeren, mit Schilf und Rohr bewachsenen und versumpften Weiher. Dies entspricht einem typischen *lessonae* + *esculenta*-Habitat, während *Rana ridibunda* hauptsächlich größere Gewässer im System der großen Flüsse besiedelt (BERGER 1969; BLANKENHORN 1974; GÜNTHER 1974; HOTZ 1974).

Bei allen Fröschen wurden neben der Körperlänge die zur morphologischen Bestimmung ausschlaggebenden Längen der Tibia (T), des Fersenhöckers (Callus internus, C. i.) und der 1. Zehe (Digitus primus, D. p.) genommen, um die literaturgängigen Indizes T./C. i. und D. p./C. i. berechnen zu können; ferner wurden die Form des Fersenhöckers nach BERGER (1969) einzuordnen versucht und andere morphognostische Merkmale notiert. Zur Blutuntersuchung konnten nur 42 Tiere benutzt werden, nachdem 30 bereits während des Transportes beziehungsweise vor der Blutentnahme starben. Jedem dieser Frösche wurden aus der Vena angularis des Mundwinkels mit einer Mikropipette einige μ l Blut entnommen, von denen einerseits Blutausrichte zur späteren Bestimmung der Erythrocytengröße, andererseits mittels der von JAEGER (1963) beschriebenen Methode Serum zur Cellogel-Elektrophorese gewonnen wurden. Das auf die letztere Weise erhaltene Serumeiweißbild wurde vor allem hinsichtlich der albuminähnlichen Fraktionen geprüft, die für *Rana ridibunda* und *Rana lessonae* jeweils arttypisch sind und beim Bastard *Rana esculenta* eine Doppelbande bilden (ENGELMANN 1973; TUNNER 1970, 1973, 1974).

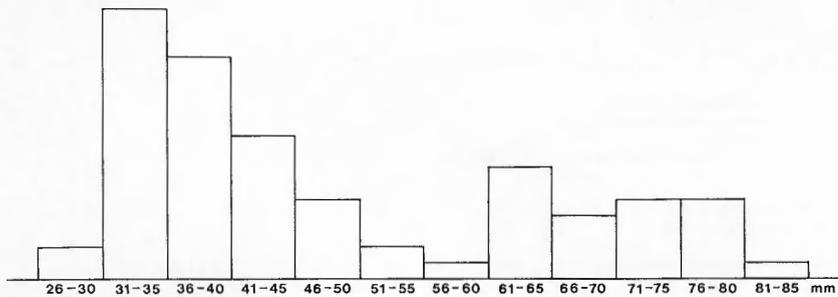
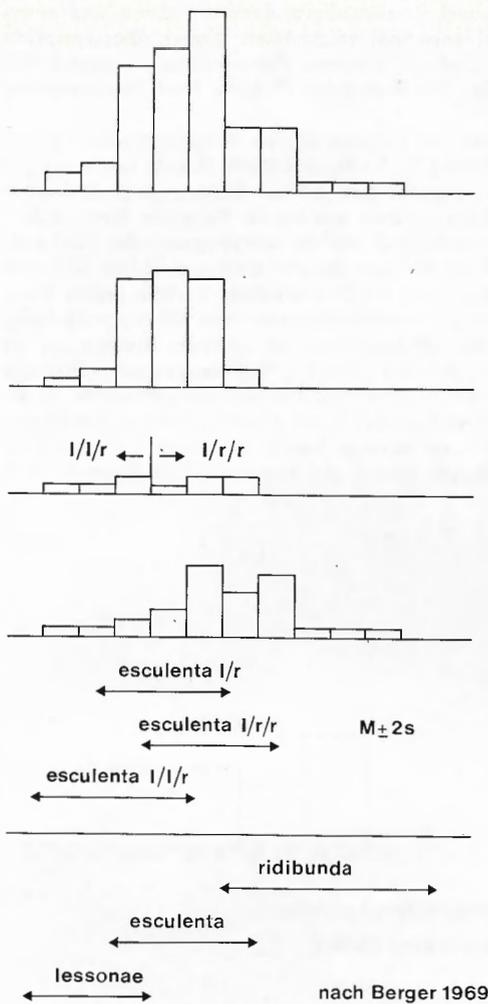


Abb. 1. Größenverteilung der studierten Grünfroschpopulation.
Size distribution of the population of green frogs studied.

Die nicht selektiv gesammelte Serie läßt im Größenverteilungsbild deutlich eine Trennung in Jungtiere mit einem Häufigkeitsgipfel im Körperlängenbereich 31 bis 35 mm und Adulte erkennen, wobei ein erster Gipfel bei jenen vorwiegend die ♂ (61 bis 65 mm), ein zweiter vorwiegend die ♀ (71 bis 80 mm) enthält (Abb. 1). Unter den erwachsenen Fröschen befindet sich ein Tier mit beidseitig sieben Zehen am Hinterfuß, wobei die erste Zehe verdreifacht erscheint. Nach den morphologischen Kriterien des Fersenhöckers (Indizes D. p./C. i. und T./C. i., Gestalt, nach BERGER 1969) sind sechs Tiere der Gesamtserie als *Rana lessonae*, zehn als *Rana ridibunda*, 45 als *Rana esculenta* zu bestimmen, vier fallen in den Unsicherheitsbereich *lessonae/esculenta*, sieben in jenen *esculenta/ridibunda*.



6,1	7,1	8,1	9,1	10,1	11,1	12,1	13,1	14,1	15,1	16,1	17,1	18,1
-7	-8	-9	-10	-11	-12	-13	-14	-15	-16	-17	-18	-19

Abb. 2. Verteilung des Fersenhöcker-Index (T./C.i. + D.p./C.i.) in der Gesamtserie, in der Serie serologisch untersuchter Frösche, bei den nach dem Serumproteinmuster und der Erythrocytengröße triploiden Tieren und in der Serie bereits vor der Blutentnahme gestorbener Frösche (von oben nach unten). Darunter $M \pm 2s$ für die diploiden und triploiden Exemplare von *Rana esculenta* sowie die Variationsbreite für *Rana lessonae*, *Rana esculenta* und *Rana ridibunda* nach Daten von BERGER (1969).

Frequency distribution of the metatarsal tubercle index (T./C.i. + D.p./C.i.) in the whole series, in the series of frogs examined serologically, in the triploid frogs according

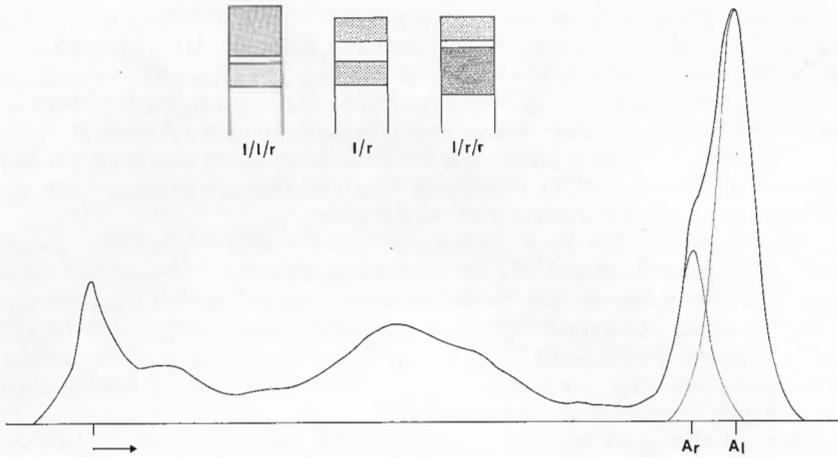


Abb. 3. Densitometrische Auswertung des Pherogramms triploider ($1/1/r$) *Rana esculenta*-Individuen und Albuminmuster von *Rana esculenta* im diploiden ($1/r$) und den beiden triploiden Fällen ($1/1/r$ und $1/r/r$) [$l = lessonae$, $r = ridibunda$].

Densitometric evaluation of the pherogram of triploid ($1/1/r$) *Rana esculenta* specimens and albumin pattern in diploid ($1/r$) and triploid ($1/1/r$ and $1/r/r$) *Rana esculenta* [$l = lessonae$, $r = ridibunda$].

Nachdem das Verhältnis Tibia/1. Zehe bei allen diesen Gruppierungen keine statistisch absicherbare Verschiedenheiten aufweist und um die mit jeweils einem der üblichen Indizes D. p./C. i. und T./C. i. gegebene Trennschärfe zu erhöhen, wurde für jedes Individuum ein Fersenhöcker-Index durch Addition der beiden letzteren gebildet (D. p./C. i. + T./C. i.). Die Verteilung dieses neuen Index zeigt für die Serie der lebend zur serologischen Untersuchung gelangten Frösche und für die Serie der zuvor beziehungsweise auf dem Transport gestorbenen Tiere außerordentlich große Unterschiede (Abb. 2). Während sich in der ersteren nur ein Exemplar *Rana ridibunda* zuordnet, setzt sich die Serie der offenbar geringer vitalen Frösche zu einem hohen Anteil aus *ridibunda*-Phänotypen zusammen. Serologisch erweisen sich sämtliche 42 dieser Prüfung unterworfenen Tiere durch den Besitz der Albumin-Doppelbande als *Rana esculenta*, also auch die morphologisch eindeutig *Rana lessonae* oder *Rana ridibunda* zurechenbaren Individuen. Bei diesen wie bei einigen anderen im Unsicherheitsbereich der morphologischen Zuordnung stehenden Frösche ist jedoch jeweils eine der beiden Albuminfrak-

to the serum protein pattern and the erythrocyte size and in the series of frogs already died before blood sampling (from above). Below mean $\pm 2 \times$ standard deviation of the diploid and triploid specimens of *Rana esculenta*, and the variation of *Rana lessonae*, *Rana esculenta* and *Rana ridibunda* using data published by BERGER (1969).

tionen weit stärker als die andere ausgeprägt (Abb. 3). Die Erythrocytenmessung zeigt im Vergleich mit den von UZZELL, BERGER & GÜNTHER (1975) publizierten Daten, daß es sich in allen diesen Fällen um triploide Tiere handelt, während die Erythrocytengröße der etwa gleichmäßige Stärke der Albuminbanden besitzenden Frösche Diploidie anzeigt. Die quantitative Ausbildung der Albumine unterliegt also einem Gen-Dosis-Effekt, wie ihn ähnlich bei enzymologischen Studien GÜNTHER & HÄHNEL (1976) nachweisen konnten, der eine Aussage über die Ploidie bereits aus dem Serumproteinmuster erlaubt.

Insgesamt wurden bei den 42 lebend geprüften Fröschen 9 = 21,5% triploide Tiere gefunden, und zwar 9,5% der Albuminkombination 1/1/r und 12% der Kombination 1/r/r. Der mittlere Fersenhöckerindex (D. p./C. i. + T./C. i.) beträgt für die triploiden 1/1/r-Frösche $8,9 \pm 1,1$, für die diploiden 1/r-Frösche $10,3 \pm 0,9$, für die triploiden 1/r/r-Frösche $11,8 \pm 0,9$. Auch hier zeigt sich also ein Gen-Dosis-Effekt, der gleichzeitig eine Koppelung der morphologischen und serologischen Vererbung im Sinne der Hybridogenese belegt.

Zwei morphologisch nach bisherigen Kriterien eindeutig als *Rana lessonae* zu bestimmende Frösche (Kopf-Rumpflänge 65,5, Tibia 30,4, C. i. 4,6, D. p. 8,5 und Kopf-Rumpflänge 42,5, Tibia 19,4, C. i. 3,2, D. p. 4,4 mm) gehören zur triploiden Gruppe *esculenta* 1/1/r, ein als *Rana ridibunda* zu bestimmendes Tier (Kopf-Rumpflänge 46,5, Tibia 22,2, C. i. 2,2, D. p. 6,4 mm) gehört zur triploiden Gruppe *esculenta* 1/r/r. Offenbar dem entsprechende, von ihm aber nicht als solche erkannte Ergebnisse lagen bereits ENGELMANN (1973) vor, der zwei morphologisch *lessonae* entsprechende, aber außergewöhnlich große ♀ mit starker Albuminfraktion 1 und schwacher Fraktion r (= 1/1/r!), sowie ein eindeutig als *ridibunda* determiniertes Tier mit starker Albuminfraktion r und schwachem Vorlauf (1/r/r) fand. Wie Abb. 2 verdeutlicht, deckt der hier für die 1/1/r-Frösche gefundene Variationsbereich (Mittelwert $\pm 2 \times$ Standardabweichung) nahezu den gesamten für *Rana lessonae* beschriebenen Bereich der Fersenhöckervariation. Damit erscheint eine verbindliche Bestimmung von *Rana lessonae* nach diesem bisher entscheidenden morphologischen Kriterium (in Abtrennung von *Rana esculenta* 1/1/r) unmöglich. Nur serologische oder enzymologische Untersuchungen können zweifelsfreie Ergebnisse bringen. Alle in den letzten Jahren zur Feststellung der Verbreitung der Formen *lessonae* und *esculenta* in Mitteleuropa angestellten Untersuchungen werden also solange in ihren Ergebnissen hinfällig, ehe sie nicht biochemisch bestätigt sind (zum Beispiel BLANKENHORN 1973; BLANKENHORN, HEUSSER & NOTTER 1973; BLANKENHORN, HEUSSER & VOGEL 1971; HALFMANN & MÜLLER 1972; VIERTTEL 1976). Möglicherweise handelt es sich bei manchen als *lessonae/esculenta*-Populationen angesprochenen Grünfroschpopulationen um reine *esculenta*-Populationen, die viel weiter verbreitet sein mögen als bislang angenommen.

Morphologische Bestimmungsschwierigkeiten belegen die hier gefundenen Ergebnisse auch für einen Teil von *Rana ridibunda*-Individuen, die sich dem morphologischen Index-Grenzbereich annähern. Im oberen Bereich der bei *Rana ridibunda* gefundenen Indexwerte sind Verwechslungen mit *esculenta* 1/r/r-Individuen jedoch sehr unwahrscheinlich (Abb. 2), so daß die Feststellung eines *ridibunda*-Anteils an Grünfroschpopulationen nach wie vor rein morphologisch möglich bleibt.

Insofern läßt sich feststellen, daß in der hier studierten Population *Rana ridibunda* zwar nicht unter den zur Lebenduntersuchung gelangten Fröschen vertreten ist, aber unter den bereits auf dem Transport gestorbenen Tieren existiert. Keiner dieser *ridibunda* zuordenbaren Frösche ist jedoch größer als 45 mm, das heißt, alle sind den Ergebnissen BERGERS (1973) zufolge als juvenil zu betrachten. Da sich der Fersenhöckerindex im Mittel als gendosisabhängig erwies, bietet er für Populationsstudien ein statistisches Maß für den *ridibunda*-Anteil am Genotyp der einzelnen Frösche ($1/l - 1/l/r - 1/r - 1/r/r - r/r$). Bei einer Einteilung der hier untersuchten Serie in die Indexklassen 7,1—9, 9,1—11, 11,1—13, 13,1—15, 15,1—17 ergibt sich eine hoch signifikante negative Korrelation der mittleren Körperlänge der in die einzelnen Indexklassen fallenden Frösche mit dem Klassenmittel ($r = -0,97, p < 1\%$). Da die Körpergröße selbst aber in Beziehung zum Lebensalter steht, ist hieraus in der betreffenden Population auf eine Abnahme der Lebenserwartung bei Zunahme des prozentualen Anteils des *ridibunda*-Genoms im Genotyp zu schließen. Die geringere Vitalität von *Rana ridibunda* im Gegensatz zu *Rana esculenta* aus dieser Serie kommt ferner deutlich in der hier erhaltenen Transport-Mortalität zum Ausdruck.

Aus dem hybridogenetischen Fortpflanzungsgeschehen in der untersuchten nordwestdeutschen Grünfroschpopulation gehen also neben diploiden und in hohem Prozentsatz triploiden *Rana esculenta*-Exemplaren auch Exemplare von *Rana ridibunda* hervor, die aber infolge erhöhter Mortalität in dem mehr für *Rana lessonae* / *Rana esculenta* kennzeichnenden Habitat wohl kaum den Adultzustand erreichen und damit für die weitere Fortpflanzung jeweils ausfallen. Dieser Befund unterstreicht bereits von GÜNTHER & HÄHNEL (1976) entdeckte Hinweise, daß Selektionsvorgänge im mitteleuropäischen Grünfroschkomplex auch nach der Metamorphose noch eine bedeutsame Rolle spielen.

Zusammenfassung

Die bisher übliche Trennung von *Rana lessonae* und *Rana esculenta* anhand der relativen Größe des Fersenhöckers erweist sich als weitgehend ungeeignet, da triploide *esculenta*-Individuen mit zwei *lessonae*-Chromosomensätzen weitgehend die diesbezügliche Variationsbreite von *Rana lessonae* abdecken. Relevante *lessonae*-Bestimmung kann nur auf der Basis serologischer oder enzymologischer Studien geschehen. Für *Rana ridibunda* gelten ähnliche Probleme, diese Art bleibt aber wenigstens teilweise gegenüber *esculenta* (triploide Tiere mit zwei *ridibunda*-Chromosomensätzen) auch rein morphologisch faßbar. Die untersuchte nordwestdeutsche Grünfroschpopulation entspricht dem bisher nur aus Ostdeutschland/Polen bekannten *esculenta*-Populationstyp mit hohem Anteil triploider Tiere. Mit einer Zunahme des prozentualen Anteils des *ridibunda*-Genoms ist in der betreffenden Population auf eine Abnahme der Lebenserwartung zu schließen. Dies führt dazu, daß aus dem hybridogenetischen Fortpflanzungsgeschehen entstandene Exemplare von *Rana ridibunda* kaum den Adultzustand erreichen. Selektionsvorgänge sind also für die Zusammensetzung von mitteleuropäischen Grünfroschpopulationen auch nach der Metamorphose noch von großer Bedeutung.

Summary

The hitherto usual separation of *Rana lessonae* and *Rana esculenta* using the relative size of the metatarsal tubercle is shown to be pretty useless. Triploid *esculenta* specimens with two sets of *lessonae* chromosomes cover the *lessonae* variability in this character to a large extent. Therefore a relevant *lessonae* determination needs the basis of serological or enzymological studies in addition to morphological ones. There are similar problems for *Rana ridibunda*, but this species remains at least partially recognizable on pure morphological basis in comparison with triploid *esculenta* specimens with two sets of *ridibunda* chromosomes. The green frog population from northwest Germany studied here corresponds to a type of *esculenta* populations with a high percentage of triploid frogs hitherto only known from east Germany and Poland. In this population an increase in the percentage of the *ridibunda* genome is correlated with a decline of life expectancy. Therefore *Rana ridibunda* specimens produced here by the hybridogenetic *esculenta* system hardly reach maturity. Thus, selection highly influences the composition of Central Europe green frog populations even after metamorphosis.

Schriften

- BERGER, L. (1969): Systematics of forms within *Rana esculenta* complex. — Przegł. Zool., 13: 219—238. Wrocław.
- — — (1973): Sexual maturity of males within forms of *Rana esculenta* complex. — Zool. polon., 22: 177—188.
- — — (1976): Hybrids of B₂ generations of European water frogs (*Rana esculenta* complex). — Polska Akad. Nauk, Ann. Zool., 33: 201—214. Warszawa.
- BLANKENHORN, H. J. (1973): Zum Stand der Forschung über die Verbreitung der Grünfrösche im Kanton Zürich. — Rev. suisse Zool., 80: 655—662. Genève.
- — — (1974): Soziale Organisation einer Mischpopulation von *Rana lessonae* CAMERANO und *Rana esculenta* LINNAEUS. — Diss. Zürich.
- BLANKENHORN, H. J., HEUSSER, H. & NOTTER, P. (1973): Zur Verbreitung von *Rana esculenta* LINNAEUS und *Rana lessonae* CAMERANO im Zürcher Oberland. — Rev. suisse Zool., 80: 662—666. Genève.
- BLANKENHORN, H. J., HEUSSER, H. & VOGEL, P. (1971): Drei Phänotypen von Grünfröschen aus dem *Rana esculenta*-Komplex in der Schweiz. — Rev. suisse Zool., 78: 1242—1247. Genève.
- ENGELMANN, W.-E. (1973): Zur Frage der verwandtschaftlichen Beziehungen europäischer Grünfrösche (Gattung *Rana*). — Zool. Jb. Syst., 100: 183—196. Jena.
- GÜNTHER, R. (1974): Neue Daten zur Verbreitung und Ökologie der Grünfrösche (Anura, Ranidae) in der DDR. — Mitt. zool. Mus. Berlin, 50: 287—298.
- — — (1975 a): Zum natürlichen Vorkommen und zur Morphologie triploider Teichfrösche, „*Rana esculenta*“ L., in der DDR (Anura, Ranidae). — Mitt. zool. Mus. Berlin, 51: 145—158.
- — — (1975 b): Untersuchungen der Meiose bei Männchen von *Rana ridibunda* PALL., *Rana lessonae* CAM. und der Bastardform „*Rana esculenta*“ L. (Anura). — Biol. Zbl., 94: 277—294.
- GÜNTHER, R. & HÄHNEL, S. (1976): Untersuchungen über den Genfluß zwischen *Rana ridibunda* und *Rana lessonae* sowie die Rekombinationsrate bei der Bastardform „*Rana esculenta*“ (Anura, Ranidae). — Zool. Anz., 197: 23—38.

- HALFMANN, H. & MÜLLER, P. (1972): Populationsuntersuchungen an Grünfröschen im Saar-Mosel-Raum. — *Salamandra*, 8: 112—116. Frankfurt am Main.
- HOTZ, H. (1974): Ein Problem aus vielen Fragen — europäische Grünfrösche (*Rana esculenta*-Komplex) und ihre Verbreitung. — *Natur u. Museum*, 104: 262—272. Frankfurt am Main.
- JAEGER, R. (1963): Preparation of serum for paper electrophoresis from small animals. — *Experientia*, 19: 660. Basel.
- TUNNER, H. G. (1970): Das Serumeiweißbild einheimischer Wasserfrösche und der Hybridcharakter von *Rana esculenta*. — *Verh. dtsh. zool. Ges.*, 1970: 352—358.
- — — (1973): Das Albumin und andere Bluteiweiße bei *Rana ridibunda* PALLAS, *Rana lessonae* CAMERANO, *Rana esculenta* LINNÉ und deren Hybriden. — *Z. zool. Syst. Evol.-Forsch.*, 11: 219—233. Hamburg.
- — — (1974): Die klonale Struktur einer Wasserfroschpopulation. — *Z. zool. Syst. Evol.-Forsch.*, 12: 309—314. Hamburg.
- UZZELL, T. & BERGER, L. (1975): Electrophoretic phenotypes of *Rana ridibunda*, *Rana lessonae*, and their hybridogenetic associate, *Rana esculenta*. — *Proc. Acad. nat. Sci. Philadelphia*, 127: 13—24.
- UZZELL, T., BERGER, L. & GÜNTHER, R. (1975): Diploid and triploid progeny from a diploid female of *Rana esculenta* (Amphibia, Salientia). — *Proc. Acad. nat. Sci. Philadelphia*, 127: 81—91.
- UZZELL, T., GÜNTHER, R. & BERGER, L. (1977): *Rana ridibunda* and *Rana esculenta*: A leaky hybridogenetic system (Amphibia Salientia). — *Proc. Acad. nat. Sci. Philadelphia*, 128: 147—171.
- VIERTTEL, B. (1976): Die Amphibien Rhein Hessens unter besonderer Berücksichtigung der Umgebung von Oppenheim. — *Mainz. naturwiss. Arch.*, 15: 183—221.
- VOGEL, P. & CHEN, P. S. (1976): Genetic control of LDH isozymes in the *Rana esculenta* complex. — *Experientia*, 32: 304—307. Basel.

Verfasser: Prof. Dr. HELMUT HEMMER, Institut für Zoologie, Johannes-Gutenberg-Universität, Saarstraße 21, 6500 Mainz.