

Möglichkeiten und Grenzen morphologischer Methoden zur Artbestimmung bei europäischen Wasserfröschen (*Pelophylax esculentus*-Komplex)

JÖRG PLÖTNER

Museum für Naturkunde, Leibniz-Institut für Evolutions- und Biodiversitätsforschung an der Humboldt-Universität zu Berlin, Invalidenstraße 43, D-10115 Berlin, joerg.ploetner@mfn-berlin.de

Applications and limits of morphological methods for species determination of European water frogs (*Pelophylax esculentus* complex)

Despite the enormous progress of molecular biology, morphological methods still play an important role in systematic zoology and population biology; many species are still discovered, described, and determined on the basis of their external morphology. Even closely related species and hybrids, such as the various forms of the Central European water frog complex, can almost always be determined using morphological characters alone. In Central European water frogs, the size and shape of the inner metatarsal tubercle in concert with coloration characters and different morphometric parameters are sufficient to determine the majority of indigenous water frogs correctly. Determination errors may particularly arise in respect to triploid hybrids, which exhibit character states similar to the parental species *P. lessonae* or *P. ridibundus*. Morphological characters are not useful, however, either for distinguishing between diploid and triploid hybrids or for drawing conclusions on inheritance patterns of *P. esculentus*.

Key words: *Pelophylax esculentus* complex, *P. lessonae*, *P. ridibundus*, triploid hybrids, morphology, morphometric parameters, statistical methods.

Zusammenfassung

Auf der Basis morphologischer Merkmale, insbesondere der Form und Größe des Fersenhöckers, der Färbung und morphometrischer Indizes, kann die Formzugehörigkeit des größten Teils der in Mitteleuropa vorkommenden Wasserfrösche eindeutig bestimmt werden. Determinationsprobleme können mitunter bei triploiden Teichfröschen auftreten, die auf Grund ihrer Genomkomposition (zwei *lessonae* Genome und ein *ridibundus* Genom oder zwei *ridibundus* Genome und ein *lessonae* Genom) einer ihrer Elternarten (*Pelophylax lessonae* oder *P. ridibundus*) ähneln. Morphologische Merkmale sind dagegen weder geeignet, um zwischen diploiden und triploiden Teichfröschen zu differenzieren, noch erlauben sie Schlussfolgerungen zu den Vererbungsmustern von *P. esculentus*.

Schlüsselbegriffe: *Pelophylax esculentus*-Komplex, *P. lessonae*, *P. ridibundus*, triploide Hybriden, Morphologie, morphometrische Parameter, statistische Methoden.

Einleitung

Trotz enormer technischer Fortschritte und damit einhergehender sinkender Kosten bei der Analyse des Erbguts, der Desoxyribonukleinsäure (DNA), werden die meisten Tier- und Pflanzenarten auch heute noch fast ausschließlich auf der Grundlage ihres äußeren Erscheinungsbilds (Phänotyp) entdeckt, beschrieben und bestimmt. In der Regel, jedoch keinesfalls immer, handelt es sich bei solchen »Morphospezies« auch um evolutionäre Arten im Sinne des evolutionären Artkonzepts (SIMPSON 1961), d. h. um Linien aufeinanderfolgender Vorfahren-Nachkommen-Populationen, die ihre Identität gegenüber anderen derartigen Linien aufrecht erhalten und die eigene evolutionäre Tendenzen und ein eigenes historisches Schicksal haben (vgl. WILEY 1978, 1981). Neben spezifischen Merkmalen in der Körpergestalt, der äußeren Morphologie, werden oft auch bestimmte Körpermaße oder -proportionen (morphometrische Daten) und Färbungsmerkmale zur Diagnose einer Art und zur Abgrenzung von verwandten Arten herangezogen.

Grundsätzlich sind alle Merkmale in der DNA verschlüsselt. Genetische Unterschiede können als genetische Divergenz oder Distanz quantifiziert werden (Übersicht bei NEI & KUMAR 2000). Organismen, die Unterschiede in morphologischen Merkmalen aufweisen, differieren in der Regel auch in ihrem Erbgut. Allerdings, und darauf ist an dieser Stelle ausdrücklich hinzuweisen, sind nicht alle Merkmalsausprägungen auch in den Erbanlagen fixiert. Der Phänotyp, d. h. die Summe aller Merkmale eines Individuums, im weitesten Sinne also alle äußeren und inneren Strukturen des Organismus, ist bekanntlich das Ergebnis des Zusammenspiels von Genotyp (Summe aller Erbanlagen) und Umwelt. So können genetisch identische Organismen (z. B. eineiige Zwillinge) durch umweltbedingte Modifikationen bestimmter Einweiße unterschiedliche Merkmalsausprägungen aufweisen. Darüber hinaus können epigenetische Prozesse (z. B. DNA-Methylierung) die Aktivität von Genen beeinflussen, wodurch der Phänotyp verändert werden kann. Mitunter wird das Signal für bestimmte Aktivitätszustände eines Gens (aktiv/inaktiv) über Generationen weitergegeben, die betroffenen Gene selbst bleiben in ihrer Struktur (Basensequenz) unverändert. Möglicherweise spielen epigenetische Phänomene auch eine Rolle im Zusammenhang mit Artbildungsprozessen, indem zuerst vererbare phänotypische Differenzen akkumuliert werden und strukturelle Veränderungen der Gene sekundär erfolgen (PÁL & MIKLÓS 1999). Wir können im Allgemeinen also nicht sagen, ob unterschiedliche Merkmalsausprägungen das Ergebnis posttranslationaler Modifikationen (Veränderungen von Eiweißen nach deren Entstehung), epigenetischer Prozesse, oder direkter Erbgutveränderungen (Mutationen) sind.

Mit Ausnahme weniger Modellorganismen (z. B. *Drosophila*) sind sowohl die Gene weitgehend unbekannt, die morphologische Merkmale kodieren, als auch die molekularen Mechanismen, die zur Ausprägung des Phänotyps beitragen. Oft resultiert ein einzelnes Merkmal aus dem Zusammenspiel mehrerer Gene und Moleküle (Polygenie); einzelne Gene können aber auch Moleküle verschlüsseln, die an der Ausprägung verschiedener Merkmale beteiligt sind (Pleiotropie).

In der Regel werden genetische Divergenzen nicht auf der Grundlage von Genen berechnet, die im direkten Bezug zur Morphologie stehen, sondern basieren auf Mar-

kern, die wahrscheinlich nicht oder nur indirekt an der Ausprägung des Phänotyps beteiligt sind, wie z. B. mitochondriale Gene. Ging man früher davon aus, dass sich alle Gene in zwar unterschiedlichen aber konstanten Geschwindigkeiten verändern (Hypothese der molekularen Uhr), wissen wir heute, dass sich die Evolutionsrate eines Gens (Mutationen pro Zeiteinheit), über größere evolutive Zeiträume betrachtet, ändern kann. In Abhängigkeit von äußeren Faktoren, die Mutationen hervorrufen (z. B. ultraviolette Strahlung, Radioaktivität, chemische Substanzen), können Phasen relativ schneller genetischer Veränderungen und Phasen relativer Konstanz aufeinander folgen. Darüber hinaus verändern sich homologe Gene in verschiedenen Evolutionslinien oder evolutionären Arten in unterschiedlicher Geschwindigkeit. Als Konsequenz solcher variablen Evolutionsraten entstehen unterschiedliche Divergenzmuster; so können morphologisch hoch divergente Arten in Genen, die nicht mit der Morphologie in Verbindung stehen, nahezu identisch sein, während andererseits morphologisch kaum zu differenzierende Arten in »nicht morphologischen« Genen (z. B. bestimmten »Stoffwechselgenen«) deutliche Unterschiede aufweisen. Eindrucksvolle Beispiele für letzteren Fall liefern die in der westlichen Paläarktis verbreiteten Wasserfrösche (Gattung *Pelophylax*), von denen viele Arten und Formen nur auf der Basis molekularer Marker eindeutig diagnostizierbar sind (z. B. AKIN et al. 2010, Übersicht bei PLÖTNER 2005).

Die hier dargelegten Zusammenhänge verdeutlichen, dass morphologische Daten zweifellos wichtige, für systematische Fragen relevante Informationen liefern, jedoch in bestimmten Fällen zu Fehlinterpretationen führen können: einerseits werden morphologisch sehr ähnliche Arten u. U. nicht als »verschieden« erkannt, andererseits werden durch Modifikationen oder epigenetische Prozesse bedingte phänotypische Differenzen zwischen Individuen oder Populationen mitunter überbewertet und innerartliche Unterschiede als »Artmerkmale« interpretiert.

Die folgenden Ausführungen beschränken sich auf den mitteleuropäischen Wasserfroschkomplex, der die Arten *Pelophylax lessonae* (Kleiner Wasserfrosch), *P. ridibundus* (Seefrosch) und die hybridogenetische Hybridform *P. esculentus* (Teichfrosch) umfasst. Der Vorstellung diagnostisch nutzbarer Merkmale folgt eine kurze Darstellung statistischer Methoden, die zur Analyse morphometrischer Daten geeignet sind und eine Differenzierung zwischen *P. lessonae*, *P. ridibundus* und *P. esculentus* ermöglichen. Abschließend wird die Relevanz morphologisch-morphometrischer Methoden für feldherpetologische Untersuchungen an mitteleuropäischen Wasserfröschen diskutiert.

Morphologisch-morphometrische Merkmale zur Differenzierung der mitteleuropäischen Wasserfroschformen

Bereits Ende der 1960er Jahre konnte der polnische Zoologe LESZEK BERGER zeigen, dass die in Mitteleuropa lebenden Wasserfroschformen auf der Grundlage morphologischer Merkmale differenziert werden können (BERGER 1967, 1968). In den Folgejahren wurde durch umfangreiche molekulare Untersuchungen (z. B. UZZELL & BERGER 1975, TUNNER 1973) der diagnostische Wert bestimmter phänotypischer Merkmale und morphometrischer Indizes für die Wasserfroschsystematik verifiziert.

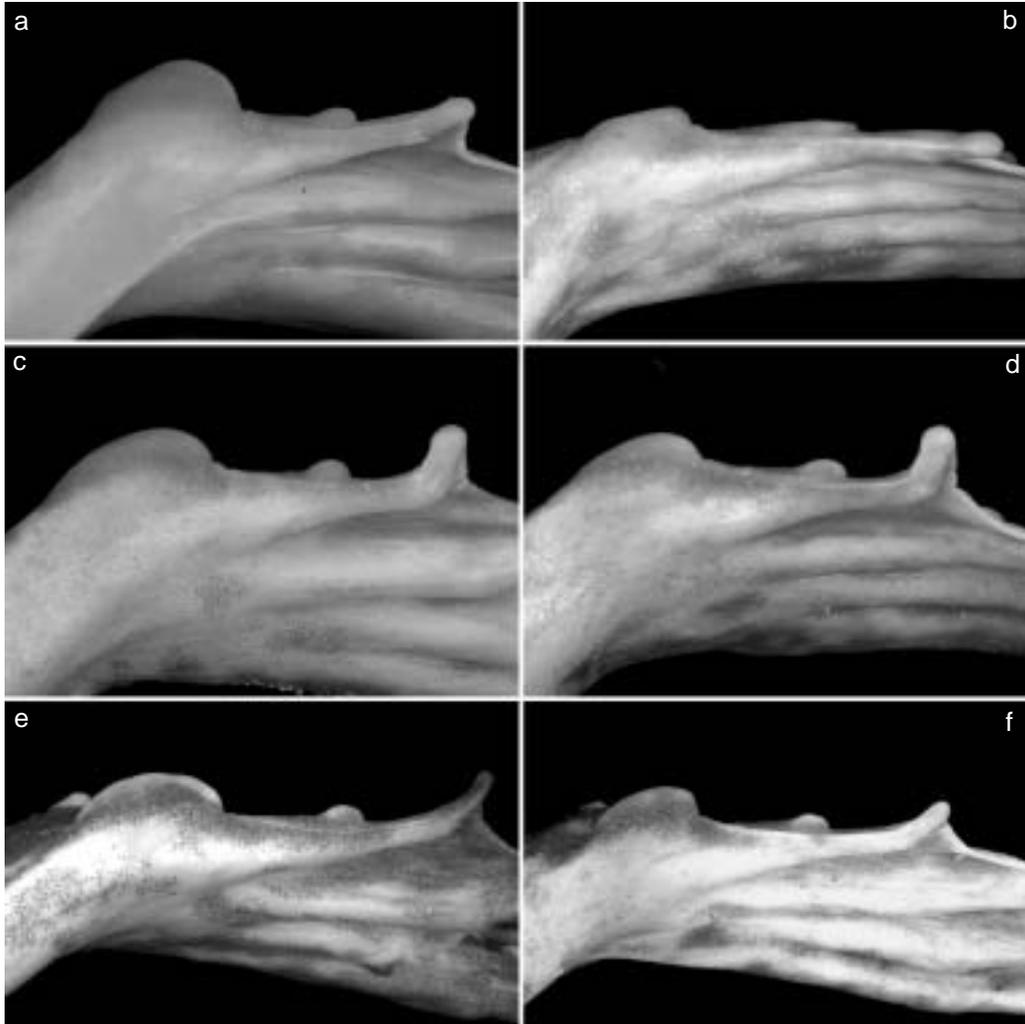


Abb. 1: Ansicht des Fersenhöckers und der ersten Zehe ostdeutscher Wasserfrösche. a: *P. lessonae*-Weibchen, Population Goldenbaum, b: *P. ridibundus*-Männchen, Population Alte Oder, c: *P. esculentus*-Männchen (triploid?), Population Goldenbaum, d: *P. esculentus*-Männchen (diploid), Population Alte Oder, e: *P. esculentus*-Männchen (triploid), Population Berlin-Ziegelstraße, f: *P. esculentus*-Männchen (diploid), Population Berlin-Ziegelstraße.

Photographs of the metatarsal tubercle and the first toe of eastern German water frogs. a: *P. lessonae* female, population Goldenbaum, b: *P. ridibundus* male, population Alte Oder, c: *P. esculentus* male (triploid?), population Goldenbaum, d: *P. esculentus* male (diploid), population Alte Oder, e: *P. esculentus* male (triploid), population Berlin-Ziegelstraße, f: *P. esculentus* male (diploid), population Berlin-Ziegelstraße.

Die wohl wichtigsten morphologischen Merkmale zur Differenzierung zwischen *P. lessonae*, *P. ridibundus* und *P. esculentus* sind Form und Größe des Fersenhöckers, welcher auch als innerer Metatarsaltuberkel oder Callus internus bezeichnet wird (vgl. GÜNTHER 1990). Dieser liegt als Erhebung an der Basis der inneren (1.) Zehe (Digitus primus, Abb. 1). Der Fersenhöcker des Seefroschs ist relativ klein und dreieck- oder

walzenförmig (Abb. 1b). Beim Kleinen Wasserfrosch ist er hoch gewölbt und in der Regel halbkreisförmig ausgebildet, im Vergleich zur Länge der 1. Zehe ist er relativ groß (Abb. 1a), möglicherweise eine Anpassung an die terrestrisch geprägte Lebensweise von *P. lessonae* außerhalb der Paarungszeit (ein großer Höcker dürfte das Graben in festerem Substrat, z. B. Waldboden, wesentlich erleichtern). Dem Hybridcharakter des Teichfroschs entsprechend ist der Fersenhöcker bei diesem im Allgemeinen größer als beim Seefrosch und kleiner als beim Kleinen Wasserfrosch. Bei einem großen Teil der Teichfrösche ist er zwar gewölbt, aber nie halbkreisförmig und so groß wie der Fersenhöcker des Kleinen Wasserfroschs; sein höchster Punkt ist meistens in Richtung Zehenspitze verschoben (Abb. 1c, d, f).

Neben der Form des Fersenhöckers werden oft morphometrische Indizes zur Artdiagnose genutzt (Tab. 1, 2), z. B. der Quotient aus der Länge der 1. Zehe und der Länge des Höckers (ZL/HL) gemeinsam mit dem Quotienten aus der Länge des Unterschenkels (Tibia) und der Höckerlänge (UL/HL). Prinzipiell ist bei Vergleichen morphometrischer Daten zu berücksichtigen, dass (1) alle Körperproportionen, wie andere Merkmale auch, genetisch und umweltbedingt variieren (siehe oben) und folglich Unterschiede zwischen Individuen und Populationen auftreten (vgl. Tab. 2), und (2) individuelle und methodisch bedingte Messfehler die Werte beeinflussen. So hat das Alter der Individuen und die entsprechend der jeweiligen Altersgruppen verwendete Messtechnik (Schiebelehre bei adulten Tieren, Binokular mit Messeinrichtung bei juvenilen Individuen) einen Einfluss auf das Messergebnis und den Messfehler. Ergebnisdifferenzen sind auch zwischen Messungen zu erwarten, die an lebenden und die an alkoholkonservierten Tieren erfolgen; auf letzteren basieren die in dieser Arbeit dargestellten Werte.

Tab. 1: Minima, Maxima, arithmetische Mittel und Standardabweichungen diagnostischer Indizes für die mitteleuropäischen Wasserfroschformen *P. lessonae*, *P. ridibundus* und *P. esculentus*. LR: diploide Hybriden, 3N: triploide Hybriden, KRL: Kopf-Rumpf-Länge, KB: Kopfbreite, UL: Länge des Unterschenkels, ZL: Länge der 1. Zehe, HL: Länge des Fersenhöckers, ANA: Abstand zwischen Nasenloch und posteriorer Augenbegrenzung (vgl. Abb. 4).

Minima, maxima, arithmetic means and standard deviations of diagnostic parameters obtained from the Central European water frog forms *P. lessonae*, *P. ridibundus*, and *P. esculentus*. LR: diploid hybrids, 3N: triploid hybrids, KRL: snout-vent-length, KB: head width, UL: tibia length, ZL: length of the first toe, HL: length of the metatarsal tubercle, ANA: distance between nostril and the posterior edge of the eye (illustrated in fig. 4).

Index	<i>P. lessonae</i>	LR	3N	<i>P. ridibundus</i>
KRL/HL	10,0–14,3 12,5 ± 1,05	10,1–20,2 16,1 ± 1,58	11,5–23,6 15,7 ± 1,79	17,4–25,4 20,7 ± 1,89
KB/NA	4,5–5,7 5,0 ± 0,32	4,4–7,7 5,9 ± 0,58	4,5–7,1 5,7 ± 0,51	5,0–7,7 6,1 ± 0,54
UL/ANA	2,2–2,5 2,3 ± 0,07	2,1–2,9 2,6 ± 0,13	2,0–2,9 2,5 ± 0,16	2,7–3,2 3,0 ± 0,15
UL/HL	5,1–6,7 5,9 ± 0,36	6,2–9,6 7,9 ± 0,62	6,2–11,4 7,7 ± 0,85	9,2–14,2 11,1 ± 1,04
ZL/HL	1,2–1,9 1,5 ± 0,13	1,6–2,9 2,2 ± 0,26	1,6–3,0 2,1 ± 0,25	2,3–3,9 3,0 ± 0,35
ANA/HL	2,1–2,8 2,5 ± 0,18	2,3–4,1 3,0 ± 0,28	2,4–5,0 3,0 ± 0,40	3,1–4,7 3,8 ± 0,38

Tab. 2: Populationspezifische Werte (Minimum, Maximum, arithmetisches Mittel \pm Standardabweichung) diagnostischer Indizes für die mitteleuropäischen Wasserfroschformen *P. lessonae* (LL), *P. ridibundus* (RR), diploide Hybriden (LR) und triploide Hybriden (3N). KRL: Kopf-Rumpf-Länge, KB: Kopfbreite, UL: Länge des Unterschenkels, ZL: Länge der 1. Zehe, HL: Länge des Fersenhöckers, ANA: Abstand zwischen Nasenloch und posteriorer Augenbegrenzung (vgl. Abb. 4). L-E: *lessonae-esculentus* System, R-E: *ridibundus-esculentus* System (UZZELL & BERGER 1975).

Population specific values (minimum, maximum, arithmetic mean \pm standard deviation) of diagnostic parameters obtained from the Central European water frog forms *P. lessonae* (LL), *P. ridibundus* (RR), diploid hybrids (LR), and triploid hybrids (3N). KRL: snout-vent-length, KB: head width, UL: tibia length, ZL: length of the first toe, HL: length of the metatarsal tubercle, ANA: distance between nostril and the posterior edge of the eye (see fig. 4). L-E: *lessonae-esculentus* system, R-E: *ridibundus-esculentus* system (UZZELL & BERGER 1975).

Population	Genotyp	Index					
		KRL/HL	KB/NA	UL/ANA	UL/HL	ZL/HL	ANA/HL
Alte Oder (R-E)	RR	17,4–25,4	5,0–7,7	2,7–3,2	9,2–14,2	2,3–3,9	3,1–4,7
		20,8 \pm 1,96	6,2 \pm 0,56	2,9 \pm 0,15	11,2 \pm 1,08	3,0 \pm 0,35	3,8 \pm 0,39
	LR	13,5–15,8	5,8–6,6	2,5–2,8	7,0–7,7	1,7–2,1	2,5–3,1
Etzin (R-E)	RR	14,7 \pm 0,78	6,2 \pm 0,27	2,7 \pm 0,09	7,5 \pm 0,29	1,9 \pm 0,12	2,8 \pm 0,18
		18,8–22,4	5,6–6,4	2,7–3,2	10,0–12,0	2,8–3,5	3,3–4,0
	LR	20,6 \pm 1,52	6,1 \pm 0,35	3,0 \pm 0,22	11,1 \pm 0,90	3,1 \pm 0,31	3,7 \pm 0,32
		10,1–18,6	4,4–6,4	2,5–2,8	6,7–9,6	1,6–2,5	2,5–3,5
	3N	15,2 \pm 1,83	5,4 \pm 0,58	2,6 \pm 0,10	7,7 \pm 0,70	2,1 \pm 0,20	2,9 \pm 0,27
		14,4–20,0	5,0–6,3	2,4–2,8	6,8–9,5	1,9–2,5	2,5–4,0
Goldenbaum (L-E)	LL	16,1 \pm 1,88	5,6 \pm 0,51	2,6 \pm 0,14	7,8 \pm 0,85	2,1 \pm 0,24	3,0 \pm 0,45
		10,0–14,3	4,6–5,7	2,2–2,3	5,1–6,7	1,3–1,7	2,2–2,8
	LR	12,0 \pm 1,21	5,0 \pm 0,47	2,3 \pm 0,03	5,8 \pm 0,42	1,5 \pm 0,10	2,5 \pm 0,27
		12,0–16,7	-	-	7,6–8,1	2,0–2,2	-
	3N	14,4 \pm 3,35	-	-	7,8 \pm 0,34	2,1 \pm 0,15	-
		11,5–15,8	4,7–6,3	2,3–2,6	6,4–8,2	1,6–2,3	2,7–3,2
Ahrensfelde (L-E)	LL	14,0 \pm 1,29	5,6 \pm 0,54	2,4 \pm 0,11	7,2 \pm 0,54	2,0 \pm 0,18	3,0 \pm 0,21
		11,3–13,5	4,8–5,4	2,4–2,5	5,4–6,3	1,2–1,8	2,1–2,6
	3N	12,5 \pm 0,94	5,1 \pm 0,29	2,4 \pm 0,06	5,9 \pm 0,36	1,5 \pm 0,21	2,4 \pm 0,20
		13,1–16,6	5,1–5,8	2,4–2,7	6,2–7,6	1,7–2,0	2,5–3,1
		14,2 \pm 1,64	5,4 \pm 0,28	2,5 \pm 0,14	6,8 \pm 0,63	1,8 \pm 0,16	2,7 \pm 0,28

Farb- und Zeichnungsmerkmale können ebenfalls zur Bestimmung mitteleuropäischer Wasserfrösche herangezogen werden (vgl. GÜNTHER 1990, PLÖTNER 2005). So zeigen *P. lessonae* Männchen während der Paarungszeit (Mai–Juni) eine intensive Gelbfärbung auf der Oberseite des Rückens und den Oberschenkeln (Abb. 2). Gelbe Farbpigmente treten auch beim Teichfrosch auf, jedoch nie beim Seefrosch (Abb. 3). Für letzteren sind weiterhin große, unregelmäßig geformte und angeordnete, bräunlich oder grünliche Flecken auf dem Rücken, den Körperseiten und den Oberseiten der Extremitäten charakteristisch, es kommen aber auch Tiere vor, die fast fleckenlos sind (Abb. 3). Im Vergleich zum Seefrosch sind beim Kleinen Wasserfrosch die Flecken auf der Oberseite des Körpers wesentlich kleiner, dunkler (schwärzlich) und scharfrandig gegen den Untergrund abgesetzt. Viele Teichfrösche ähneln in diesem Merkmalskomplex dem Kleinen Wasserfrosch, einige Exemplare weisen jedoch auch eine »seefroschähnliche« Zeichnung auf (Abb. 3).

Auch die Bauchseiten der drei Wasserfroschformen zeigen spezifische Farbmerkmale, deren diagnostischer Wert auf Grund einer hohen Variabilität bei allen Formen jedoch

nur gering ist. Der Bauch des Seefroschs ist häufig stark grau oder schwarz marmoriert, der des Kleinen Wasserfrosch dagegen oft nahezu unpigmentiert. Beim Teichfrosch kann die Bauchseite von einfarbig weißlich, über leicht gepunktet bis hin zu stark gräulich-schwarz gefleckt oder marmoriert variieren, wobei kein klarer Zusammenhang zwischen Genotyp (LR, LLR, LRR – siehe unten) und Zeichnungsmuster besteht (Abb. 5). Der diagnostische Wert der Schallblasenfärbung männlicher Wasserfrösche ist ebenfalls eingeschränkt: bei *P. ridibundus*-Männchen sind die Schallblasen hellgrau bis schwärzlich (Abb. 3), bei *P. lessonae*-Männchen dagegen immer weißlich und bei *P. esculentus*-Männchen weiß bis dunkelgrau in allen Übergängen (Abb. 2). Hier gilt, dass es sich bei Tieren mit hellen unpigmentierten Schallblasen nie um einheimische Seefrösche handelt, sondern entweder um *P. lessonae* oder *P. esculentus*.

Auf der Basis der genannten morphologischen Merkmale, insbesondere der Form und Größe des Fersenhöckers, ist es nach unseren Erfahrungen möglich, die Formzugehörigkeit von ca. 90 % der mitteleuropäischen Wasserfrösche auch im Feld sicher zu bestimmen (vgl. MUTZ 2009). Werden zusätzlich morphometrische Parameter erfasst, kann die Determinationsgenauigkeit weiter verbessert werden. Es treten jedoch auch immer wieder Teichfrösche auf, die morphologisch einer ihrer Elternarten ähneln und nur mittels genetischer Methoden eindeutig bestimmt werden können. In der Regel handelt es sich in solchen Fällen um triploide Tiere, die entweder zwei Chromosomensätze des Kleinen Wasserfroschs (LL) und einen Chromosomensatz des Seefroschs (R) in ihren Körperzellen besitzen (sogenannte LLR-Hybriden), oder um Tiere, die zwei *ridibundus*-Chromosomensätze und einen *lessonae*-Chromosomensatz aufweisen (RRL-Hybriden, GÜNTHER et al. 1979).

LLR-Individuen werden oft mit *P. lessonae* verwechselt, da bei diesen sehr wahrscheinlich die *lessonae*-spezifischen Genprodukte (z. B. bestimmte Einweiße) aufgrund des doppelt vorliegenden *lessonae*-Chromosomensatzes in größerer Menge gebildet werden als die *ridibundus*-spezifischen Genprodukte und somit LLR-Individuen häufig *lessonae*-ähnliche Merkmale aufweisen, z. B. einen relativ großen Fersenhöcker (Abb. 1c, e), und während der Paarungszeit eine gelbliche Färbung der Oberseite. Darüber hinaus sind LLR-Individuen oft kleinwüchsiger als diploide (LR) Teichfrösche und auch ihr *lessonae*-ähnlicher Ruf dürfte ein Grund für Verwechslungen mit *P. lessonae* sein. In Analogie zu LLR-Individuen können RRL-Individuen Seefröschen ähneln, da hier die Gene des Seefroschs im Verhältnis 2 : 1 dominieren und folglich mehr *ridibundus*-spezifische Genprodukte gebildet werden. Solche sogenannten Gen-Dosis-Effekte dürften die Hauptursache für Merkmalsüberschneidungen sein, wie sie zwischen triploiden Hybriden und den Elternarten auftreten.

Es ist jedoch keinesfalls sicher, ob bei triploiden Tieren alle Gene einem solchen Dosis-Effekt unterliegen. So beschreibt TUNNER (2000) Triploide, bei denen Merkmale des Kleinen Wasserfroschs mit typischen Seefrosch-Merkmalen kombiniert waren. Diese Tiere besaßen einen großen, an *P. lessonae* erinnernden Fersenhöcker, entsprachen in der Körperlänge aber mehr *P. ridibundus*. Während der Fortpflanzung waren sie gelbgrün gefärbt, ähnlich den *P. lessonae*-Männchen; im Spätsommer, Herbst und vor allem nach der Winterruhe waren sie auf den ersten Blick jedoch kaum von Seefröschen zu unterscheiden. Gegen einen generellen Gen-Dosis-Effekt spricht ebenfalls die Tatsache, dass bei verschiedenen morphometrischen Indizes, die eine klare Differen-



Abb. 2a: *P. lessonae* Männchen. Die intensive Gelbfärbung und die ungeflechte Oberseite zählen zu den charakteristischen Merkmalen von *P. lessonae*-Männchen während der Paarungszeit. b: Paarung eines *P. lessonae*-Männchens mit einem *P. esculentus*-Weibchen. In Populationen des L-E-Systems treten solche Mischpaarungen häufig auf. c: Rufendes *P. lessonae*-Männchen. Die Schallblasen sind bei den Männchen dieser Art immer weißlich gefärbt. d: Rufendes *P. esculentus*-Männchen. Auch bei der Hybridform sind die Schallblasen oft sehr hell. e: Braun-grüngelb gefärbtes *P. lessonae*-Weibchen aus einem Moorgebiet in Nordbrandenburg (Naturpark Stechlin-Ruppiner Land). f: *P. esculentus*-Weibchen aus dem gleichen Moor. Auch diese Tiere weisen einen relativ hohen Braunanteil in ihrer Färbung auf. Fotos: 1a–d: B. TRAPP; 1e–f: J. PLÖTNER.

a: Male of *P. lessonae*. The intense yellow colour and the spotless dorsal side are species-specific characters exhibited during the breeding season. b: Mating between a *P. lessonae* male and a *P. esculentus* female. Such heterotypic matings occur frequently in populations of the L-E system. c: A calling *P. lessonae* male. The vocal sacs of *P. lessonae* males are always whitish. d: A calling *P. esculentus* male. In the hybrid form the colour of the vocal sacs is often whitish as in *P. lessonae*. e: A brown-yellow-green coloured *P. lessonae* female from a moor in northern Brandenburg (Naturpark Stechlin-Ruppiner Land). f: *P. esculentus* females from the same area. These specimens also exhibit a relatively large amount of brown in their colouration.



Abb. 3a: *P. ridibundus*-Phänotyp (Genotyp RR oder RRL) mit ausgeprägter Rückenlinie. b: Typisch gefärbtes *P. esculentus*-Weibchen. c: Olivgrünes, fast fleckenloses *P. ridibundus*-Männchen. d: *P. esculentus*, seltene blaue Farbvariante. e: Braun gefärbtes *P. ridibundus*-Männchen. Charakteristisch für diese Art sind die dunkel gefärbten Schallblasen. f: Braun gefärbter *P. esculentus* mit ausgeprägter Dorsallinie. Die Gelbfärbung auf den Oberschenkeln schließt eine Verwechslung mit *P. ridibundus* aus. Fotos: 1a, b, d, f: B. TRAPP; 1c: C. SCHEIB; 1e: A. NÖLLERT.

a: *P. ridibundus* phenotype (genotype RR or RRL) with a distinctive dorsal stripe. b: A typically coloured *P. esculentus* female. c: An olive-green, nearly unspotted *P. ridibundus* male. d: A blue coloured *P. esculentus*, such individuals are rare. e: A brown coloured *P. ridibundus* male. The dark colouration of the vocal sacs is characteristic of this species. f: Brown coloured *P. esculentus* with a distinct dorsal stripe. The yellow colour on the femora is a characteristic feature of *P. lessonae* and *P. esculentus*; it is never seen in *P. ridibundus*.

zierung zwischen *P. lessonae* und *P. ridibundus* ermöglichen (Tab. 1), keine statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den Werten diploider und denen triploider *P. esculentus* sichtbar waren (GÜNTHER 1975, PLÖTNER 1991, PLÖTNER et al. 1994). Darüber hinaus unterlagen die bisher gefundenen diagnostischen Indizes auch bei den triploiden Tieren einer Normalverteilung und zeigten keine zweigipflige (bimodale) Verteilung wie für zwei phänotypisch unterschiedliche Gruppen (*lessonae*-ähnliche LRR- und *ridibundus*-ähnliche LRR-Individuen) erwartet werden kann (PLÖTNER 1991).

Die Ursachen für diese Phänomene liegen weitgehend im Dunkeln. Genomische Prägung (Imprinting), d. h. die Inaktivierung bestimmter Gene, kommen ebenso in Betracht (TUNNER 2000) wie Selektion und genetische Rekombination (Austausch genetischen Materials zwischen dem *lessonae*- und dem *ridibundus*-Genom; VORBURGER 2001), was an bestimmten Genorten (Loci) zu einem Überschuss *lessonae*-spezifischer Allele und an anderen zu einer Dominanz *ridibundus*-spezifischer Allele führen kann. Verschiedene Untersuchungen lieferten konkrete Hinweise für Rekombinationsereignisse bei einem geringen Prozentsatz (< 10 %) der *P. esculentus*-Individuen (z. B. UZZELL & BERGER 1975, UZZELL et al. 1977, PLÖTNER & KLINKHARDT 1992). Im Dnjepr-Becken (Ukraine) wiesen dagegen 17 % der untersuchten Tiere rekombinierte Genome auf (MEZHHERIN & MOROZOV-LEONOV 1997). Nach den Ergebnissen von Chromosomenanalysen, die an polnischen Wasserfröschen durchgeführt wurden, könnte der prozentuale Anteil an diploiden und triploiden Teichfröschen mit rekombiniertem Genom noch wesentlich höher sein (ca. 70 %, OGIELSKA et al. 2007), was erklären würde, (1) warum diploide *esculentus*-Individuen von triploiden morphometrisch nicht differenziert werden können und (2) die Häufigkeitsverteilungen morphometrischer Indizes des Hybriden mit denen der Elternarten z. T. deutlich überlappen (vgl. PLÖTNER 1991, PLÖTNER et al. 1994). Hohe Rekombinations- und Introgressionsraten (> 80 %) postulierte auch SCHRÖER (1997a) für westfälische Wasserfrösche auf der Grundlage proteinelektrophoretischer Untersuchungen. Möglicherweise liegt darin die Ursache für die vergleichsweise hohe Diskrepanz zwischen den Determinationsergebnissen, die bei diesen Fröschen auf morphologisch-morphometrischen Methoden basierten und den auf proteinelektrophoretischer Grundlage erfolgten Genotypisierungen (SCHRÖER 1997a, b). Der überwiegende Teil der fortpflanzungsfähigen Teichfrösche scheint sich jedoch klonal zu reproduzieren, d. h. die Keimzellen dieser Tiere enthalten ein vollständiges, nicht rekombiniertes elterliches Genom (entweder das *lessonae*- oder das *ridibundus*-Genom); viele diploide Weibchen (Genotyp LR) bilden auch Eier, die noch beide elterlichen Genome (L + R) enthalten (Übersicht bei PLÖTNER 2005, 2007).

Die Bestimmung der Ploidie (Anzahl der Chromosomensätze) ist eine unabdingbare Voraussetzung, um Verwechslungen zwischen *P. lessonae* und LLR-Hybriden auszuschließen und trägt damit wesentlich zur Minimierung von Determinationsfehlern bei. Eine einfache, aber hinreichend genaue Methode zur Ploidiebestimmung ist die Vermessung von roten Blutkörperchen (Erythrozyten), die bei triploiden im Vergleich zu diploiden Tieren ca. ein Drittel größer sind (UZZELL & BERGER 1975, GÜNTHER 1977). Da die Vermessung von Erythrozyten nur mittels eines Mikroskops möglich ist, das über eine Messeinrichtung (z. B. Okularmikrometer) verfügt, und für solche Untersuchungen tier- und artenschutzrechtliche Genehmigungen erforderlich sind, wird

auf die Bestimmung der Ploidie im Rahmen feldherpetologischer Untersuchungen in der Regel verzichtet (z. B. MUTZ 2009). Die von FOG (1994) vorgeschlagene Methode, die Färbung und Zeichnung der Unterseite des Oberschenkels zur Bestimmung des Genotyps von Teichfröschen (LR, LLR, RRL) heranzuziehen, wurde bisher nicht mittels molekularer Methoden verifiziert und ihre Zweckdienlichkeit erscheint vor dem Hintergrund der großen phänotypischen Variabilität von *P. esculentus* mehr als fraglich.

Statistische Methoden zur Differenzierung der mitteleuropäischen Wasserfrösche

Von den vielfältigen Möglichkeiten der statistischen Datenanalyse sollen hier exemplarisch Methoden vorgestellt werden, die für die Differenzierung der einheimischen Wasserfroschformen häufig Verwendung finden. Die nachfolgenden Beispiele basieren auf einem Datensatz, der an alkoholkonservierten Tieren aus der Sammlung des Museums für Naturkunde Berlin gewonnen wurde (PLÖTNER 1991). Alle Tiere (31 *P. lessonae*, 51 *P. ridibundus*, 121 diploide und 136 triploide Hybriden) stammen aus ost-

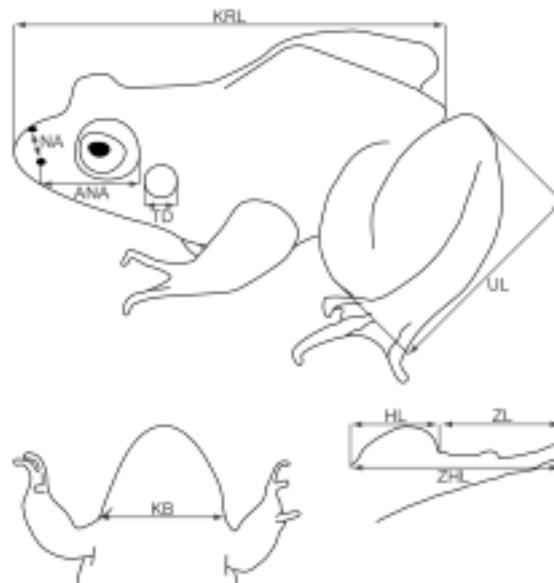


Abb. 4: Messstrecken und Ansatzpunkte der Schiebelehre für die morphometrischen Parameter Kopfrumpf-Länge (KRL), Kopfbreite (KB), Länge des Unterschenkels (UL), Länge der 1. Zehe + Länge des Fersenhöckers (ZHL), Länge des Fersenhöckers (HL), Abstand zwischen linkem und rechtem Nasenloch (NA), Trommelfelddurchmesser (TD) und Abstand zwischen Nasenloch und posteriorer Augenbegrenzung (ANA). Die Länge der 1. Zehe (ZL) wurde durch Subtraktion der Höckerlänge (HL) vom Parameter ZHL ermittelt.

Parameters measured: KRL: snout-vent-length, KB: head width; UL: tibia length; ZHL: length of the first toe + length of the metatarsal tubercle; HL: length of the metatarsal tubercle; NA: distance between the left and right nostrils; TD: diameter of the tympanum; ANA: distance between the nostril and the posterior eye edge. The length of the first toe (ZL) was obtained by the formula: $ZL = ZHL - HL$.

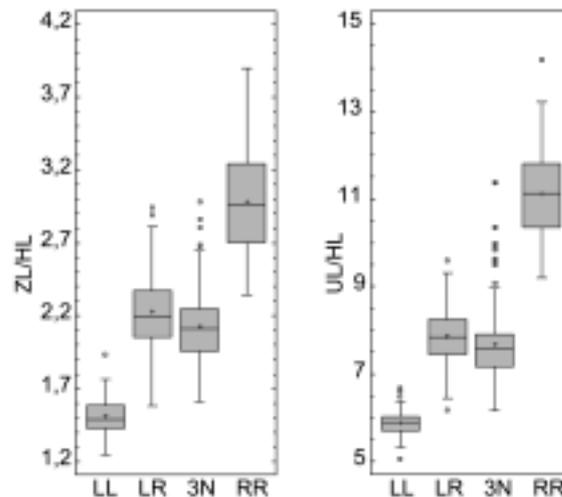


Abb. 5 : Phänotypische Variabilität der Ober- und Unterseiten bei *P. esculentus*. a, b: Diploides (LR) Männchen. c, d: Triploides LLR-Männchen. Die Oberseite ist ähnlich wie bei *P. lessonae* weitgehend ungefleckt. e, f: Triploides LRR-Männchen mit schwach gefleckter Unterseite. Fotos: A. HOFFMANN.
Phenotypic variability of the dorsal and ventral sides of *P. esculentus*. a, b: Diploid (LR) male. c, d: Triploid LLR male. The back is largely unspotted as in *P. lessonae*. e, f: Triploid LRR male with a faintly-spotted belly.

deutschen Populationen des *lessonae-esculentus*-Systems (L-E System, vgl. UZZELL & BERGER 1975; Toter See bei Mühlenbeck nördlich Berlins: 8 *P. lessonae*/4 diploide Hybriden/1 triploider Hybrid; Carpin, Ortsteil Goldenbaum südöstlich von Neustrelitz: 15/2/13; Berlin-Ahrensfelde: 4/0/4; Berlin-Mahlsdorf: 2/12/26), des *ridibundus-esculen-*

Abb. 6: Boxplots der diagnostischen Indizes Länge der 1. Zehe/Länge des Fersenhöckers (ZL/HL) und Länge des Unterschenkels/Länge des Fersenhöckers (UL/HL). LL: *P. lessonae*, LR: *P. esculentus* (diploid), 3N: *P. esculentus* (triploid), RR: *P. ridibundus*.

Box plots of two diagnostic parameters: length of the first toe/length of the metatarsal tubercle (ZL/HL) and tibia length/length of the metatarsal tubercle (UL/HL). LL: *P. lessonae*, LR: *P. esculentus* (diploid), 3N: *P. esculentus* (triploid), RR: *P. ridibundus*.



tus-Systems (R-E-System, UZZELL & BERGER 1975; Etzin südlich von Nauen: 4 *P. ridibundus*/14 diploide Hybriden/8 triploide Hybriden; Oderaue bei Lebus nördlich von Frankfurt/O.: 42/6/0; Steckby nordwestlich von Dessau: 5/0/0) und aus reinen Hybrid-Populationen (Boltenhagen nordwestlich von Wismar: 28 diploide Hybriden/32 triploide Hybriden; Hütter Wohld bei Rostock: 18/28; Berlin-Ziegelstraße: 35/24). Weiterhin wurden 2 diploide *P. esculentus* aus einer Population bei Blumberg östlich Berlins, ein *P. lessonae* aus dem Hütter Wohld bei Rostock und ein *P. lessonae* aus Etzin in die Untersuchungen einbezogen. Mittels einer Schiebelehre wurden acht Parameter gemessen (Abb. 4) und anschließend einer statistischen Analyse unterzogen.

Die eindimensionale grafische Darstellung der Verteilung morphometrischer Indizes ist eine der einfachsten Möglichkeiten, phänotypische Unterschiede zwischen den mitteleuropäischen Wasserfroschformen sichtbar zu machen. In Abbildung 6 wurde dafür der sogenannte Boxplot gewählt (auch als Box-Whisker-Plot bezeichnet). Die Box (Rechteck) entspricht dem mittleren Bereich einer Werteverteilung, in dem 50 % der Daten liegen. In der Box ist der Median als durchgehende Linie eingezeichnet, unter und oberhalb des Medians liegen jeweils 50 % der Messwerte. Das »+« in der Box kennzeichnet das arithmetische Mittel. Werte, die außerhalb der Box liegen, werden durch direkt an die Box anschließende Linien (Whisker) dargestellt. Separate Punkte (Quadrate) kennzeichnen sogenannte »Ausreißer«, definitionsgemäß liegen diese Werte in einem Bereich außerhalb der 1,5-fachen Boxbreite. Die Boxplots der diagnostischen Indizes ZL/HL und UL/HL (Abb. 6) veranschaulichen die zwischen den mitteleuropäischen Wasserfroschformen *P. lessonae*, *P. ridibundus* und *P. esculentus* bestehenden phänotypischen Differenzen. Überschneidungen zwischen *P. lessonae* und *P. ridibundus* spezifischen Werten sind bei diesen Indizes nicht zu verzeichnen, die Werteverteilungen diploider und triploider Hybriden überlappen dagegen weitgehend. Gleichzeitig wird deutlich, dass Überschneidungen zwischen den Werten der Elternarten und denen der Hybridformen auftreten.

Neben eindimensionalen Darstellungen morphometrischer Indizes können auch zwei Indizes ins Verhältnis gesetzt werden (Abb. 7). Darüber hinaus ist es möglich, mehre-

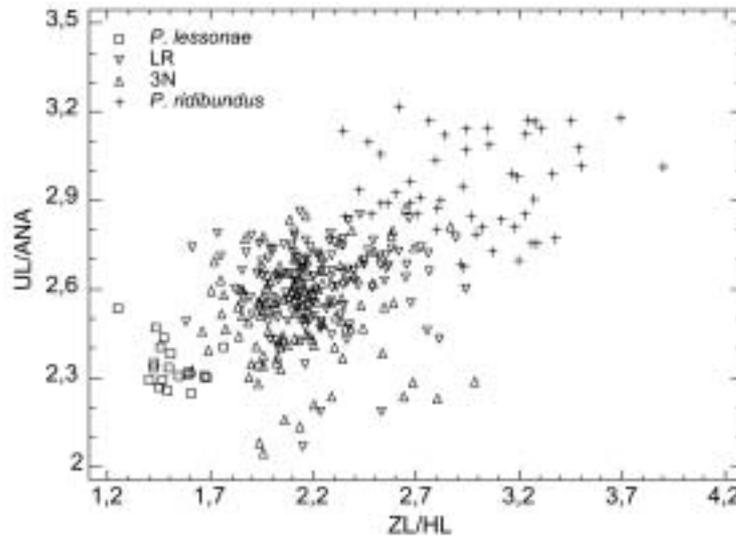


Abb. 7: Beziehung zwischen den diagnostischen Indizes Länge des Unterschenkels/Abstand zwischen Nasenloch und posteriorer Augenbegrenzung (UL/ANA) und Länge der 1. Zehe/Länge des Fersenhöckers (ZL/HL). LR: diploide Hybriden, 3N: triploide Hybriden.

Correlation between the diagnostic parameters tibia length/distance between the nostril and posterior eye edge (UL/ANA) and length of the first toe/length of the metatarsal tubercle (ZL/HL). LR: diploid hybrids, 3N: triploid hybrids.

re Parameter gleichzeitig mittels hochauflösender multivariater Verfahren zu analysieren, dazu gehören Clusteranalyse, Hauptkomponentenanalyse, Faktoranalyse, Diskriminanzanalyse und neuronale Netzwerke. Neben einem tieferen mathematischen Verständnis ist für diese Verfahren die Verfügbarkeit entsprechender Computerprogramme erforderlich. Die Leistungsfähigkeit multivariater Verfahren soll im Folgenden am Beispiel der Diskriminanzanalyse gezeigt werden.

Die Diskriminanzanalyse ist ein konfirmatorisches Verfahren, sie setzt voraus, dass die Gruppenzugehörigkeit einer Anzahl von Objekten bekannt ist. Es werden also keine Gruppen gebildet wie beispielsweise bei der Clusteranalyse, sondern es wird von einer bestehenden Gruppierung ausgegangen und die Qualität dieser Gruppierung überprüft. Darüber hinaus kann analysiert werden, welche Variablen für die Gruppenbildung besonders geeignet sind oder auf welche Variablen sich die Gruppenunterschiede hauptsächlich zurückführen lassen und in welche Gruppe ein neues Objekt aufgrund seiner Merkmalsausprägungen einsortiert wird. In unserem Beispiel handelt es sich bei den Gruppen um die vier verschiedenen Wasserfroschformen (*P. lessonae*, diploide LR-Hybriden, triploide Hybriden und *P. ridibundus*), die Objekte entsprechen den untersuchten Individuen. Neben eindeutigen morphologischen Merkmalen wurden von vielen Individuen proteinelektrophoretische Daten zur Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit herangezogen und im Fall der Hybridformen zusätzlich die Ploidie mittels Erythrozytenmessung bestimmt (PLÖTNER 1991, PLÖTNER & KLINKHARDT 1992).

Unter Verwendung der erfassten morphometrischen Variablen (Abb. 4) wurden mit dem Programm STATGRAPHICS Centurion XV, Version 15.2.14, Diskriminanzfunk-

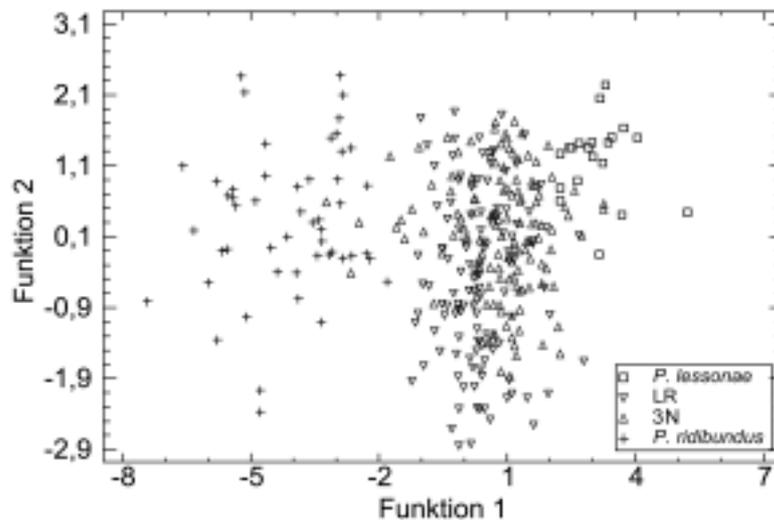


Abb. 8: Plot der 1. und 2. Diskriminanzfunktion. LR: diploide Hybriden, 3N: triploide Hybriden. Plot of the first and second discriminant functions. LR: diploid hybrids, 3N: triploid hybrids.

tionen als Linearkombinationen dieser Variablen berechnet. Von den insgesamt 320 Individuen, die zur Modellanpassung verwendet wurden, konnten 74,7 % richtig klassifiziert werden, darunter befanden sich alle *P. lessonae* und 98 % der *P. ridibundus* Individuen (Tab. 3, Abb. 8). 2,5 % der diploiden (LR) Hybriden und 5,4 % der triploiden Hybriden wurden fälschlicherweise als *P. lessonae* klassifiziert; 3,1 % der triploiden Teichfrösche konnten nicht von *P. ridibundus* differenziert werden. Der höchste Anteil der Fehlklassifikationen war zwischen diploiden und triploiden Individuen zu verzeichnen; 31,1 % der diploiden Hybriden wurden als triploid und 22,3 % der triploiden Hybriden als diploid eingruppiert. Werden Diploide und Triploide als eine Gruppe (*P. esulentus*) behandelt, erhöht sich der Anteil der korrekt klassifizierten Genotypen auf ca. 95 %. Vergleichbare Resultate konnten mittels Bayesscher Klassifikation erzielt werden (Tab. 3).

Tab. 3: Klassifikation von *P. lessonae*, diploiden (LR) und triploiden (3N) Hybridfröschen und *P. ridibundus* mittels Diskriminanzanalyse (D) und Bayes'scher Statistik (B).

Classification of *P. lessonae*, diploid (LR) and triploid (3N) hybrids, and *P. ridibundus* based on discriminant analysis (D) and Bayesian statistics (B).

Form	Gruppengröße	Verfahren	Vorhergesagt			
			<i>P. lessonae</i>	LR	3N	<i>P. ridibundus</i>
<i>P. lessonae</i>	20	D	100 %	0 %	0 %	0 %
		B	95 %	0 %	5 %	0 %
LR	119	D	2,5 %	66,4 %	31,1 %	0 %
		B	5,9 %	53,8 %	37,8 %	2,5 %
3N	130	D	5,4 %	22,3 %	69,2 %	3,1 %
		B	9,2 %	16,2 %	69,2 %	5,4 %
<i>P. ridibundus</i>	51	D	0 %	2,0 %	0 %	98,0 %
		B	0 %	2,0 %	0 %	98,0 %

Schlussfolgerungen für die feldherpetologische Arbeit

Mittels morphologischer und morphometrischer Methoden können die mitteleuropäischen Wasserfroscharten *P. lessonae* und *P. ridibundus* und die Hybridform *P. esculentus* mit hoher Sicherheit bestimmt werden. Diese Aussage trifft allerdings nur für Populationen zu, in die keine fremdländischen (allochthonen) Wasserfrösche eingeschleppt wurden (vgl. PAGANO & JOLY 1999). Entgegen anderer Auffassungen (z. B. BERGER & GÜNTHER 1988), ist eine eindeutige morphologische oder morphometrische Differenzierung zwischen diploiden und triploiden Teichfröschen oder zwischen LLR- und RRL-Genotypen nicht möglich und aus wissenschaftlicher Sicht unzulässig. Deshalb erlauben morphologisch-morphometrische Daten Aussagen zur genetischen Struktur von Wasserfrosch-Populationen nur in begrenztem Umfang; es kann lediglich entschieden werden, um welches Populationsystem (L-E, R-E oder reine Hybridpopulation) es sich handelt und welchen quantitativen Anteil die Formen *P. lessonae*, *P. ridibundus* und *P. esculentus* an der Population haben. Genetische Analysen sind für solche Einstufungen nicht zwingend erforderlich, sie können aber zur Verringerung von Fehlbestimmungen beitragen und liefern darüber hinaus zusätzliche Informationen, z. B. zur genetischen Variabilität der Population oder zum quantitativen Verhältnis zwischen LR-, LLR- und RRL-Genotypen. Auf keinen Fall können allein auf der Grundlage morphologischer oder morphometrischer Daten Schlussfolgerungen zu den Reproduktionsmodi von Wasserfrosch-Populationen und den zu Grunde liegenden Vererbungsmustern gezogen werden, wie in der Arbeit von MUTZ (2009) suggeriert wird. Abgesehen von der Tatsache, dass in der von MUTZ untersuchten Population (Heiliges Meer bei Hopsten, Nordrhein-Westfalen) keine Ploidiebestimmung vorgenommen wurde, d. h. das Vorkommen triploider Teichfrösche nicht ausgeschlossen werden kann, können die beobachteten Merkmalsverteilungen (Zitat: »neben ‚typischen‘ Teichfröschen traten Individuen auf, die jeweils einer ihrer Elternarten ähnelten«) auch durch maternale (zytonukleare) Effekte erklärt werden und bedeuten nicht zwangsläufig, dass auch beim Teichfrosch die Vererbung der elterlichen Genome nach den Mendelschen Regeln erfolgt. Um Aussagen zur Populationsgenetik treffen zu können, bedarf es spezifischer molekularer Methoden.

Abschließend soll noch darauf hingewiesen werden, dass die im Feld oft praktizierte Bestimmung von Wasserfröschen anhand von Färbungs- und Rufmerkmalen mit einer hohen Fehlerquote behaftet ist. Während *P. ridibundus* durch seinen charakteristischen Paarungsruf zweifelsfrei bestimmt werden kann (vgl. SCHNEIDER 2004), ist für die Differenzierung zwischen *P. lessonae* und *P. esculentus*, speziell LLR-Individuen, die Ansicht des Fersenhöckers unumgänglich, was mit dem Fang der Tiere verbunden ist. Inzwischen sind auch einfache und kostengünstige molekulare Methoden zur Differenzierung der mitteleuropäischen Wasserfroschformen verfügbar (z. B. CHRISTIANSEN 2005, PATRELLE et al. 2010). In Zweifelsfällen sollte auf Standardtests zurückgegriffen werden, die u. a. von unserem Labor preiswert angeboten werden.

Die Komplexität der Wasserfroschproblematik stellt sowohl für Systematiker, Populationsgenetiker und Evolutionsbiologen als auch für Feldherpetologen eine Herausforderung dar. Im Rahmen feldherpetologischer Arbeiten sind Untersuchungen zur phänotypischen Variabilität der mitteleuropäischen Wasserfroschformen ebenso gefragt wie Kartierungen der Populationsysteme oder die Aufzeichnung ökologischer

Daten. In diesem Sinn versteht sich der vorliegenden Beitrag als Anstoß für weitere Untersuchungen am mitteleuropäischen Wasserfroschkomplex.

Danksagung

Für die kritische Durchsicht des Manuskripts möchte ich MONIKA HACHTEL (Bonn), RAINER GÜNTHER (Berlin) und PETER SCHMIDT (Bonn) recht herzlich danken. VOLKER LOHRMANN (Berlin) fertigte freundlicherweise die Fotos der Fersenhöcker an, wofür ihm an dieser Stelle ebenfalls gedankt sei. BJÖRN STELBRINK (Berlin) bin ich für die Anfertigung einer Grafik zu Dank verpflichtet. BENNY TRAPP (Wuppertal), ALEXANDRA HOFFMANN (Zürich), ANDREAS NÖLLERT (Weimar) und CHRISTINA SCHEIB (Rehfelde) danke ich recht herzlich für die Überlassung von Wasserfroschfotografien.

Literatur

- AKIN, Ç., C. C. BILGIN, P. BEERLI, R. WESTAWAY, T. OHST, S. N. LITVINCHUK, T. UZZELL, M. BILGIN, H. HOTZ, G.-D. GUEX & J. PLÖTNER (2010): Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs were determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic. – *Journal of Biogeography* doi: 10.1111/j.1365-2699.2010.02368.x
- BERGER, L. (1967): Embryonal and larval development of F1-generation of green frogs different combinations. – *Acta Zoologica Cracoviensia* 12: 123–160.
- BERGER, L. (1968): Morphology of F1-generation of various crosses within *Rana esculenta*-complex. – *Acta Zoologica Cracoviensia* 13: 301–324.
- BERGER, L. & R. GÜNTHER (1988): Genetic composition and reproduction of water frog populations (*Rana* kl. *esculenta* Synklepton) near nature reserve Serrahn, GDR. – *Archiv für Naturschutz und Landschaftsforschung* 28: 265–280.
- CHRISTIANSEN, D. G. (2005): A microsatellite-based method for genotyping diploid and triploid water frogs of the *Rana esculenta* hybrid complex. – *Molecular Ecology Notes* 5: 190–193.
- FOG, K. (1994): Water frogs in Denmark: population types and biology. – *Zoologica Poloniae* 39: 305–330.
- GÜNTHER, R. (1975): Zum natürlichen Vorkommen und zur Morphologie triploider Teichfrösche, »*Rana esculenta*«, L., in der DDR (Anura, Ranidae). – *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Berlin* 51: 145–158.
- GÜNTHER, R. (1977): Die Erythrozytengröße als Kriterium zur Unterscheidung diploider und triploider Teichfrösche, *Rana* »*esculenta*« L. (Anura). – *Biologisches Zentralblatt* 96: 457–466.
- GÜNTHER, R. (1990): Die Wasserfrösche Europas. – Wittenberg Lutherstadt (Ziemsen).
- GÜNTHER, R., T. UZZELL & L. BERGER (1979): Inheritance patterns in triploid *Rana* »*esculenta*« (Amphibia, Salientia). – *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Berlin* 55: 35–57.
- MEZHHERIN, S. V. & S. Y. MOROZOV-LEONOV (1997): Gene introgression in hybrid populations of green frogs of *Rana esculenta* L., 1758 complex (Amphibia, Ranidae) from Dnieper Basin. – *Russian Journal of Genetics* 33: 285–290.
- MUTZ, T. (2009): Eine einfache Methode zur Bestimmung von Wasserfröschen (*Pelophylax* sp.) im Freiland, vorgestellt am Beispiel einer Population im Naturschutzgebiet »Heiliges Meer« bei Hops-ten, Nordrhein-Westfalen. – *Zeitschrift für Feldherpetologie* 16: 201–218.
- NEI, M. & S. KUMAR (2000): *Molecular Evolution and Phylogenetics*. – Oxford (University Press).
- OGIELSKA, M., P. KIERZKOWSKI & M. RYBACKI (2007): DNA content and genome composition of diploid and triploid water frogs belonging to the *Rana esculenta* complex (Amphibia, Anura). – *Canadian Journal of Zoology* 82: 1894–1901.
- PAGANO, A. & P. JOLY (1999): Limits of the morphometric method for field identification of water frogs. – *Alytes* 16: 130–138.

- PÁL, C. & I. MIKLOS (1999): Epigenetic inheritance, genetic assimilation and speciation. – *Journal of Theoretical Biology* 200: 19–37.
- PATRELLE, C., T. OHST, D. PICARD, A. PAGANO, S. SOURICE, M.-G. DALLAY & J. PLÖTNER (2010): A new PCR-RFLP-based method for an easier systematic affiliation of European water frogs. – *Molecular Ecology Resources* doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02905.x
- PLÖTNER, J. (1991): Populationsgenetische Untersuchungen an europäischen Wasserfröschen (Anura, Ranidae) aus verschiedenen Populationssystemen. – Dissertation A Humboldt-Universität Berlin.
- PLÖTNER, J. (2005): Die westpaläarktischen Wasserfrösche. – Bielefeld (Laurenti).
- PLÖTNER, J. (2007): Die mitteleuropäischen Wasserfrösche (*Rana esculenta*-Komplex). In: LAUFER, H., K. FRITZ & P. SOWIG (Hrsg.): Die Amphibien und Reptilien Baden-Württembergs: 451–458. – Stuttgart (Ulmer).
- PLÖTNER, J. & M. KLINKHARDT (1992): Investigations on the genetic structure and the morphometry of a pure hybrid population of *Rana* kl. *esculenta* (Anura, Ranidae) in North Germany. – *Zoologischer Anzeiger* 229: 163–184.
- PLÖTNER, J., C. BECKER & K. PLÖTNER (1994): Morphometric and DNA investigations into European water frogs (*Rana* kl. *esculenta* Synklepton (Anura, Ranidae)) from different population systems. – *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 32: 193–210.
- SCHNEIDER, H. (2004): Bioakustik der Froschlurche. – Bielefeld (Laurenti).
- SCHRÖER, T. (1997a): Untersuchungen zur Populationsgenetik und Ökologie westfälischer Wasserfrösche (Anura: Ranidae). – Dissertation Universität Düsseldorf.
- SCHRÖER, T. (1997b): Lassen sich Wasserfrösche phänotypisch bestimmen? Eine Feld- und Laborstudie an 765 Wasserfröschen aus Westfalen. – *Zeitschrift für Feldherpetologie* 4: 37–54.
- SIMPSON, G. G. (1961): Principles of Animal Taxonomy. – New York (Columbia University Press).
- TUNNER, H. G. (1973): Das Albumin und andere Bluteiweiße bei *Rana ridibunda* Pallas, *Rana lessonae* Camerano, *Rana esculenta* Linné und deren Hybriden. – *Zeitschrift für zoologische Systematik und Evolutionsforschung* 11: 219–233.
- TUNNER, H. G. (2000): Evidence for genomic imprinting in unisexual triploid hybrid frogs. – *Amphibia-Reptilia* 21: 135–141.
- UZZELL, T. & L. BERGER (1975): Electrophoretic phenotypes of *Rana ridibunda*, *Rana lessonae*, and their hybridogenetic associate, *Rana esculenta*. – *Proceedings of the Academy of Natural Sciences Philadelphia* 127: 13–24.
- UZZELL, T., R. GÜNTHER & L. BERGER (1977): *Rana ridibunda* and *Rana esculenta*: a leaky hybridogenetic system (Amphibia Salientia). – *Proceedings of the Academy of Natural Sciences Philadelphia* 128: 147–171.
- VORBURGER, C. (2001): Genomic imprinting or mutation and interclonal selection in triploid hybrid frogs? A comment on Tunner. – *Amphibia-Reptilia* 22: 263–265.
- WILEY, E. O. (1978): The evolutionary species concept reconsidered. – *Systematic Zoology* 27: 17–26.
- WILEY, E. O. (1981): The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics. – New York (Wiley and Sons).

Eingangsdatum: 6.8.2010