

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

На правах рукописи

Бархатов Анатолий Сергеевич

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА КОМПЛЕКСА
СРЕДНЕЕВРОПЕЙСКИХ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК
(*PELOPHYLAX ESCULENTUS* COMPLEX) В УСЛОВИЯХ ЮГА
СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ**

1.5.15. Экология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Снегин Эдуард Анатольевич

БЕЛГОРОД – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	9
1.1. Популяция – как элементарная эволюционная единица.....	9
1.2. Особенности гибридного комплекса зеленых лягушек.....	11
1.3. Механизм образования гибридной <i>P. esculentus</i>	14
1.4. Краткий обзор современных экологических исследований комплекса зеленых лягушек.....	16
1.4.1. Морфологические методы исследования бесхвостых земноводных рода <i>Pelophylax</i>	17
1.4.2. Молекулярно-генетические и цитогенетические методы исследования бесхвостых земноводных рода <i>Pelophylax</i>	21
Глава 2. Физико-географическая характеристика района исследования.....	28
2.1. Географическое положение района исследования.....	28
2.2. Геологическое строение, рельеф и почвы.....	29
2.3. Климатическая характеристика.....	31
2.4. Гидрогеологическая характеристика.....	37
2.5. Краткая характеристика флоры и фауны Белгородской области.....	39
2.6. Техногенная нагрузка на территории Белгородской области.....	40
Глава 3. Материалы и методы исследования.....	44
3.1. Морфологический анализ.....	48
3.2. Молекулярно-генетический анализ.....	49
3.2.1. Электрофорез ферментов в полиакриламидном геле (ПААГ).....	49
3.2.2. Метод полимеразной цепной реакции.....	53
3.2.3. Метод гель-электрофореза изолированных клеток (Метод ДНК-комет).....	60
3.3. Статистическая обработка данных.....	62
Глава 4. Видовая идентификация <i>Pelophylax esculentus</i> complex в условиях трансформированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности.....	64

Глава 5. Морфологическая характеристика комплекса зеленых лягушек в условиях юга Среднерусской возвышенности.....	72
5.1. Морфометрическая изменчивость криптических форм <i>P. ridibundus</i>	72
5.2. Анализ фенотипической структуры популяций <i>Pelophylax esculentus</i> complex.....	78
5.3. Анализ морфофизиологических индикаторов популяций <i>Pelophylax esculentus</i> complex.....	84
Глава 6. Анализ популяционной структуры <i>Pelophylax esculentus</i> complex на основе молекулярно-генетических маркеров.....	89
6.1. Анализ генетической структуры популяционных систем <i>Pelophylax esculentus</i> complex.....	89
6.2. Оценка эффективной численности популяций.....	104
6.3. Анализ генетической структуры ювенильных и половозрелых форм популяционных систем <i>Pelophylax esculentus</i> complex.....	106
Глава 7. Оценка степени повреждения геномной ДНК популяций <i>P. ridibundus</i> в условиях урбанизированных ландшафтов.....	113
Заключение.....	120
Выводы.....	121
Литература.....	123
Приложения.....	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность выбранной темы исследования. Антропогенное воздействие оказывает разнообразное влияние на органический мир. Под действием антропогенного пресса происходят адаптивные изменения в популяционной структуре, которые заключаются в изменении генетического и фенотипического состава (Вершинин, 2007). При этом зачастую в популяциях может происходить потеря генетического разнообразия, которое является «мобилизационным резервом», предохраняющим ее от вымирания, в стремительно меняющихся условиях (Шмальгаузен, 1968). Следствием снижения жизнеспособности популяций является потеря устойчивости экосистем. Поэтому для анализа состояния естественных сообществ в различных ландшафтах, необходимо осуществлять мониторинг за состоянием составляющих их популяций. Особенно это касается видов-биоиндикаторов антропогенного воздействия (Снегин и др., 2021). Бесхвостые земноводные хорошо зарекомендовали себя в качестве таковых (Вершинин, 1997; Пескова, 2002; Рыжов, 2007; Спирина, 2007; Лада, 2012; Кузовенко, 2018). Обитая на границе двух сред, они являются связующими элементом в трофических цепях водной и наземной стадий (Файзулин и др., 2012). Известно, что по состоянию популяций земноводных можно судить о жизнеспособности других гидробионтов и водных сообществ в целом. Среди земноводных наиболее удобными объектами биомониторинга являются представители комплекса средневропейских зеленых лягушек (Вершинин, 1997; Спирина, 2007; Лада, 2012; Свинин, 2015; Кузовенко, 2018).

На сегодняшний день комплекс средневропейских зеленых лягушек *Pelophylax esculentus* complex включает в себя три вида, а именно: прудовая лягушка (*P. lessonae* Camerano, 1882), съедобная лягушка (*P. esculentus* Linnaeus, 1758) и озерная лягушка (*P. ridibundus* Pallas, 1771), которая по данным последних исследований, представляет ряд криптических форм (Plötner, 2005).

Степень научной разработанности темы исследования.

Среднеевропейские зеленые лягушки являются одними из самых хорошо изученных представителей бесхвостых земноводных (Anura). Несмотря на то, что комплекс среднеевропейских зеленых лягушек имеет давнюю историю изучения, наибольший интерес отечественных и зарубежных ученых к данному комплексу возник в середине XX века после открытия L. Berger гибридной природы съедобной лягушки (*Pelophylax esculentus*).

В диссертационном исследовании использованы труды как отечественных, так и зарубежных ученых: С. В. Таращука, П. В. Терентьева, Л. Я. Боркина, С. Н. Литвинчука, В. Л. Вершинина, О. А. Ермакова, А. А. Свирина, Р. И. Замалетдинова, А. И. Файзулина, Ф. Ф. Зариповой, Г. А. Лады, Т. Ю. Песковой, L. Berger, С. P. Akin, D. G. Christiansen, H. Hotz, J. Plötner и др.

Цель исследования: выявить особенности адаптивных реакций в популяциях комплекса среднеевропейских зеленых лягушек *Pelophylax esculentus* complex на территории юга Среднерусской возвышенности под действием антропогенных и абиотических факторов среды.

Задачи исследования:

1. На основе молекулярно-генетических методов провести видовую идентификацию комплекса среднеевропейских зеленых лягушек (*Pelophylax ridibundus* complex).

2. Провести анализ изменчивости морфометрических, фенотипических признаков и оценить изменение морфофизиологических показателей популяций *Pelophylax esculentus* complex в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности.

3. Проанализировать генетическую структуру на основе изоферментных и микросателлитных маркеров ДНК, выявить изменение частот аллелей ювенильных и половозрелых форм популяций *Pelophylax esculentus* complex.

4. Рассчитать эффективную численность анализируемых групп.

5. Оценить степень устойчивости популяций криптических форм *P. ridibundus* к мутагенной нагрузке.

Объект исследования: локальные популяции комплекса среднеевропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex), обитающие в условиях антропогенной нагрузки юга Среднерусской возвышенности.

Предмет исследования. Адаптационные особенности гибридного комплекса среднеевропейских зеленых лягушек *Pelophylax esculentus* complex, обитающих в условиях антропогенной нагрузки юга Среднерусской возвышенности.

Научная новизна.

Впервые на территории юга Среднерусской возвышенности проведено исследование популяций *Pelophylax esculentus* complex с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов. Получены данные о видовом составе криптических форм *P. ridibundus* complex. На основе микросателлитных маркеров проанализирована генетическая структура популяций, входящих в «Северско-Донецкий центр биоразнообразия зеленых лягушек». Методом гель-электрофореза изолированных клеток оценена устойчивость криптических форм *P. ridibundus* complex к действию генотоксичных поллютантов.

Теоретическая значимость.

Теоретическая значимость работы заключается в оценке микроэволюционных процессов и адаптационных механизмов в популяциях зеленых лягушек в условиях урбанизированных ландшафтов Среднерусской возвышенности.

Практическая значимость и реализация результатов работы.

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, применяются в учебном процессе кафедры биологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ») по дисциплинам «Зоология», «Генотоксикология», «Популяционная экология» и «Экология животных». Собранный материал был включен в криобанк научно-исследовательского центра «Геномной селекции» НИУ «БелГУ». По результатам диссертационного исследования дана рекомендация о включении в региональную

Красную книгу прудовую лягушку *P. lessonae*.

Методология и методы исследования.

Для достоверной оценки состояния популяций комплекса среднеевропейских зеленых лягушек использовали комплекс методов: морфометрические, морфофизиологические, фенотипические признаки, а также молекулярно-генетические методы.

Статистический анализ данных и его последующая интерпретация проведен с использованием современного программного обеспечения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Под действием антропогенных и абиотических (аридизация) факторов происходит изменение популяционных систем комплекса среднеевропейских зеленых лягушек в сторону преобладания *P. ridibundus* complex, обладающего большей экологической пластичностью и толерантностью к антропогенному прессу.

2. Изменчивость морфометрических показателей *P. ridibundus* complex обусловлено генетической гетерогенностью в популяциях, при этом фенотипический состав и морфофизиологические показатели популяций среднеевропейских зеленых лягушек изменяются в градиенте антропогенного пресса.

3. Популяции комплекса среднеевропейских зеленых лягушек, обитающие в антропогенно-измененных биотопах, обладают наибольшей генетической гетерогенностью по данным селективно нейтральных микросателлитных локусов, что является адаптивной реакцией популяций на нестабильные условия среды обитания.

Личный вклад автора.

В основу диссертационного исследования положены материалы, собранные автором с 2017 по 2020 год. Экспериментальная часть проведена на базе НИЦ Геномной селекции НИУ «БелГУ». Суммарно личное участие автора в работе составляет более 80 %.

Апробация работы, публикации.

Результаты исследования были представлены на международном симпозиуме, посвященном 100-летию академика С. С. Шварца «Экология и эволюция: новые горизонты» (Екатеринбург, 2019); I международном симпозиуме Innovations in life sciences (Белгород, 2019); II международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран, посвященной 100-летию отделения герпетологии Зоологического института РАН (Санкт-Петербург, 2019); II международном симпозиуме Innovations in life sciences (Белгород, 2020); Всероссийской конференции молодых ученых «Экология: факты, гипотезы, модели», посвященной 60-летию Молодежной конференции ИЭРиЖ УрО РАН и году науки и технологий в России (Екатеринбург, 2021).

По теме диссертационного исследования опубликовано 10 работ, в том числе 5 статей, входящих в перечень ВАК РФ и индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, выводов, списка литературы, приложений. Основной текст диссертационного исследования изложен на 153 страницах, включающий в себя 29 рисунков и 26 таблиц. Список литературы включает 269 источников, из них 120 на иностранных языках. Общий объем диссертационного исследования составляет 168 страниц.

Благодарности. Автор выражает благодарность своему научному руководителю доктору биологических наук, профессору Э. А. Снегину за помощь на всех этапах подготовки диссертации. Особую благодарность выражаю своей семье за понимание, неоценимую помощь и поддержку на всех этапах работы над диссертацией.

С большой признательностью моему деду – Бархатову Анатолию Петровичу.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Популяция – как элементарная эволюционная единица

Определение популяция или от латинского «population» в науку ввел в науку датский биолог Вильгельм Людвиг Иогансен в 1903 году в работе «О наследовании в популяциях и чистых линиях». Популяцией он обозначил группу гетерозиготных особей, для того, чтобы было возможно разграничить данные группы от чистых линий (гомозиготных особей) (Северцов, 2013). В этом же году С. С. Четвериков сформулировал правило объединения особей в популяции, которое гласит, что организмы представляют собой не изолированные индивиды, а организованные совокупности (Барабанова и др., 2010). В вышедшей в 1926 году статье «О некоторых компонентах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики» С. С. Четвериков показал, что в природных популяциях происходит мутационный процесс. Возникшие мутации могут, как понижать, так и повышать жизнеспособность организмов. В условиях свободного скрещивания вид устойчив и согласно закону Харди-Вайнберга находится в равновесии, а вновь появляющиеся рецессивные мутации «впитывается видом в гетерозиготном состоянии» и при отсутствии отбора может прибывать в нем неограниченное время в том же соотношении (Четвериков, 1926; Воронцов, 2005). Работы С. С. Четверикова легли в основу популяционной генетики (Иорданский, 2001).

По современным представлениям популяция рассматривается, как элементарная единица микроэволюции, которая представляет собой совокупность процессов изменения частот аллелей в генофондах популяций вида. Термин «вид» в истории претерпел множество определений. В истории науки выделяется три концепции вида. Типологическая или морфологическая концепция вида, предложенная еще Платоном и Аристотелем, которой придерживался Линней и его последователи, гласит, что видом являются некие особи, соответствующие морфологическому эталону. Действительно, морфологические показатели являются одними из важных показателей вида, однако морфологические показатели могут сильно варьировать в зависимости от возраста, пола, сезона и

многих других факторов. Номиналистическая концепция вида утверждает, что как таковых видов в природе не существует, а «вид – это всего лишь некая абстракция, созданная в данный момент времени человеком для удобства». На смену двум вышеизложенным концепциям пришла биологическая концепция вида, которая гласит, что как-либо определенный вид, существует в виде интегрированных популяций (Майр, 1968).

В литературе можно встретить множество определений популяции. В нашей работе мы придерживаемся определения, которое наиболее полно соответствует синтетической теории эволюции: «Под популяцией понимается совокупность особей определенного вида, в течение достаточно длительного времени (большого числа поколений) населяющих определенное пространство, внутри которого практически осуществляется та или иная степень панмиксии и нет заметных изоляционных барьеров, которая отделена от соседних таких же совокупностей особей данного вида той или иной степенью давления тех или иных форм изоляции» (Тимофеев-Ресовский и др., 1973: С. 40–41). Популяция выступает в качестве основной единицы эволюции. По высказыванию Э. Майра, особь является недолговечным сосудом, в котором на определенное время сохранена часть генофонда. Случайные мутации могут внести небольшие изменения в частоте определенного гена в генофонде, но в рамках общего генофонда популяции изменения будут едва заметны. Только в популяциях различные комбинации генов, взаимодействуя друг с другом, проходят испытания отбором (Майр, 1974).

С точки зрения популяционной генетики, если поток генов между популяциями ограничен или затруднен, то популяции становятся генетически изолированными друг от друга, что в свою очередь может приводить к увеличению близкородственных скрещиваний, потери генетического разнообразия, что может приводить к гибели. Малые и изолированные популяции наиболее склонны к утрате генетической изменчивости в результате дрейфа генов, чем более крупные и связанные между собой популяции (Wright, 1931).

Городские агломерации являются уникальными образованиями. На

урбанизированных ландшафтах наблюдаются резкие изменения в популяционной структуре. Основная причина таких изменений заключается в появлении изоляционных барьеров, возникающих за короткие промежутки времени, что ведет к дроблению популяции на мелкие изолированные группировки. Именно в таких условиях происходит изменение генетической структуры, необходимой для адаптивного преобразования. Подобные изменения могут серьезно сказываться на дальнейшей эволюционной судьбе данных микрогрупп (Вершинин, 1997; Макеева, 2006).

1.2. Особенности гибридного комплекса зеленых лягушек

Зеленые лягушки на протяжении более двух веков привлекают внимание исследователей разных областей науки (Лада, 1995; Файзулин и др., 2018). Систематика земноводных долгое время оставалась предметом дискуссий (Plötner, 2005; Frost et al., 2006). На сегодняшний день все зеленые лягушки включены в состав рода *Pelophylax* Fitzinger, 1843 и подразделены на две группы «западная» (область распространения Европа, Северная Африка и Ближний Восток) и «восточная» (распространены в юго-восточной Азии) (Ананьева и др., 1998).

К «западной» группе или синонимичное название «западно-палеарктические» зеленые лягушки относят 17 таксонов, из них 14 таксонов так называемые «менделевские виды» и 3 гибридные формы (Plötner, 2005). В современной науке их ввели в таксон видового ранга «клептон», а именно *P. esculentus* (гибрид *P. lessonae* и *P. ridibundus*), *P. hispanica* (гибрид *P. bergeri* и *P. ridibundus*) и *P. grafi* (гибрид *P. perezi* и *P. ridibundus*) (Plötner, 2005). В нашей работе мы рассматриваем съедобную лягушку *P. esculentus* в составе комплекса среднеевропейских зеленых лягушек.

Комплекс среднеевропейских зеленых лягушек – *Pelophylax esculentus* complex, включает в себя три вида: озерную лягушку – *Pelophylax ridibundus*, прудовую лягушку – *P. lessonae*, а также гибридную форму съедобная лягушка – *P. esculentus*. При этом первые два вида, это так называемые «менделевские»

виды, в отличие от съедобной *P. esculentus*, которая имеет гибридную природу и обладает уникальным полуклональным (мероклональным) типом размножения, произошедший от скрещивания указанных выше двух родительских видов (Berger, 1968; 1970; Vinogradov, 1990). При этом гибридные особи могут быть диплоидными триплоидными и в исключительных случаях тетраплоидными.

В случае образования диплоидных гибридов (гибридогенеза) в клетках зародышевой линии происходит удаление (элиминация) генома одного родительского генома, в это же время оставшийся геном эндореплицируется и клонально без рекомбинации передается гаметы (Schultz, 1969; Tunner, 1973; Шабанов, Ливтинчук, 2010; Дедух, 2016; Дедух, Красикова, 2017). Гибриды распространены по всей Европе, данный факт может свидетельствовать об их «эволюционном успехе», и сосуществовать как с родительскими видами, так и образовывать чистые популяции, состоящие из гибридных особей (Dawley, Bogart, 1989; Plötner, 2005; Дедух, Красикова 2017).

Под термином популяция, как отмечалось нами ранее, «понимается совокупность особей определенного вида ...» (Тимофеев-Ресовский и др., 1973: С. 40–41), исходя из этого термин «популяция» не может быть применим для совместно обитающих и образующих общие группы размножения зеленых лягушек, в связи этим был введен термин «популяционные системы (Günther, 1975; Uzzell, Berger, 1975; Plötner, 2005; Дедух, 2016).

Выделяют 7 типов популяционных систем *Pelophylax esculentus* complex, состоящие из «чистых» (одновидовых) и «смешанных» (с участием двух или всех трех видов) групп. Обозначения для этих типов впервые предложил Т. Uzzell и L. Berger (Uzzell, Berger, 1975). Для этого используют первые буквы латинских названий видов (Uzzell, Berger, 1975; Lada et al., 1995):

1. L-тип. «Чистые» популяции *P. lessonae*.
2. R-тип. «Чистые» популяции *P. ridibundus*.
3. E-тип. «Чистые» популяции *P. esculentus*.
4. RL-тип. Смешанные системы из *P. ridibundus* и *P. lessonae*.
5. LE-тип. Смешанные системы из *P. lessonae* и *P. esculentus*.

6. RE-тип. Смешанные системы из *P. ridibundus* и *P. esculentus*.

7. REL-тип. Смешанные популяционные системы трех видов.

Несмотря на то, что зеленые лягушки населяют различные биотопы и имеют отличия в образе жизни, границы между видами и биотопами часто размыты (Лада, 1995). Причиной стирания биотопических предпочтений зеленых лягушек, является антропогенная деятельность, в частности создание ирригационных систем, которые позволяют земноводным проникать в несвойственные для них биотопы, в которых и осуществляется гибридизация (Лада, 1995; Кузьмин, 2012; Ермохин и др., 2017). Стоит отметить, что образование гибридов остается предметом дискуссий в научном обществе (Svinin et al., 2021).

Гибридные особи давно известны, но видообразование, никак не связывали с процессом гибридизации, главным образом из-за того, что гибриды при скрещивании часто дают нежизнеспособное или же фертильное потомство в связи с накоплением мутаций в клональном геноме из-за отсутствия рекомбинаций (Шабанов, Литвинчук, 2010; Боркин, Литвинчук, 2013; Дедух, 2016). Стоит отметить, что биологическая концепция вида, сформировавшаяся в 30-е гг. прошлого века, привела к полному отрицанию возможного гибридного происхождения видов, за редким исключением образованных «гибридных внутривидовых единиц» (Майр, 1974; Боркин, Литвинчук, 2013).

С 60-х гг. прошлого века один из самых спорных вопросов затрагивало адаптивное значение образование гибридных, а именно, либо гибридизация представляет собой важный эволюционный механизм, который создает возможности для адаптации и видообразования, либо она представляет собой некий «эволюционный шум» (Arnold, 1997).

Тем не менее, стремительное развитие молекулярно-генетических и цитогенетических методов позволило исследователям провести геномные исследования гибридных систем животных и растений, и доказать, что образование гибридных особей – распространенное явление в популяциях, кроме того, в ряде случаев, гибриды сохраняют способность к самостоятельному воспроизводству (Anderson, Stebbins, 1954; Боркин, Даревский, 1980; Arnold,

Hodges, 1995; Rieseberg, 2001; Gompert et al., 2006; Rogers, Bernatchez, 2007; Schwenk et al., 2008; Боркин, Литвинчук, 2013).

1.3. Механизм образования гибридной *P. esculentus*

Биологические виды отделены друг от друга презиготическими и постзиготными барьерами, однако эти барьеры часто нарушаются, что в свою очередь приводит к образованию гибридных особей (Coyne, Orr, 1988; Abbott et al., 2013). Как уже упоминалось ранее, межвидовая гибридизация, обычно приводит к гибели или бесплодию гибридов. Механизм гаметогенеза высоко консервативен, тем не менее, в ходе эволюции он претерпел изменения, давая начало клональным или бесполом таксонам (Dedukh et al., 2020a). У гибридных особей позвоночных животных отклонение в процессах гаметогенеза и мейоза имеется ряд альтернативных способов размножения, например – партеногенез, гиногенез, клептогенез и гибридогенез (Schultz, 1969; Dawley, Bogart, 1989; Bullini, 1994; Schön et al., 2009; Dedukh et al., 2015; Дедух, Красикова, 2017).

Гибридогенетическое размножение было обнаружено у гибридов комплекса *Pelophylax esculentus* (Tunner, 1974; Uzzell, Hotz, 1979; Hotz, Uzzell, 1983).

Гибридные лягушки *Pelophylax esculentus* (RL) образуются от скрещивания двух родительских особей *P. ridibundus* (RR) и *P. lessonae* (LL), при этом гибриды могут иметь диплоидный набор хромосом ($2n$, RL), либо триплоидный ($3n$, RRL и LLR), в исключительных случаях тетраплоидный (RRLR, $4n = 48$) (Graf, Pells-Pelaz, 1989; Plötner, 2005; Christiansen et al., 2005; Christiansen, Reyer, 2009; Christiansen, 2009).

В случае гибридогенетического способа размножения гаметогенез диплоидного *P. esculentus* приводит к уничтожению генома одного родительского вида, в то время как другой дублируется и переносится на гаметы (Tunner, 1973; Graf, 1989; Дедух, 2016; 2017). Интересен тот факт, что для поддержания своей популяционной структуры гаметогенез гибридных лягушек может изменяться в зависимости от того, с кем из родительских видов они сосуществуют (Дедух,

2016). Когда диплоидные гибриды сосуществуют с *P. lessonae*, они обычно производят гаметы с геномом *P. ridibundus* и наоборот (Tunner, 1973; Graf, 1989; Plötner, 2005; Дедух, 2017). Совместное сосуществование различных форм гибридных лягушек и одного или обоих родительских видов приводит к возникновению различных популяционных систем (Дедух, 2016). Широко распространены популяционные системы диплоидные и триплоидные *P. esculentus*, сосуществующие с *P. lessonae* (популяционная система LE-типа), а также чисто гибридными популяционными системами, где диплоидные *P. esculentus* сосуществуют с триплоидами без участия родительских видов (популяционная система E-типа). Популяционные системы, в которых ди- и триплоидные гибридные лягушки сосуществуют с *P. ridibundus* (популяционная система RE-типа) редко встречаются в Центральной Европе и очень многочисленны в Восточной Украине (Graf, 1989; Borkin et al., 2004; Plötner, 2005; Christiansen et al., 2005; Christiansen, 2009; Pruvost et al., 2013; Hoffmann et al., 2015).

Особый интерес в механизме воспроизводства съедобной лягушки заключен в так называемом «триплоидном гибридогенезе» (Дедух, 2016). В период триплоидного гибридогенеза один геном удаляется, а два оставшихся генома предположительно подвергаются мейозу без дупликации, что приводит к образованию гаплоидных гамет. Молекулярные механизмы избирательного удаления генома остаются в основном неизвестными. Предположительно возможное селективное удаление генома связано с конкуренцией между геномами *P. ridibundus* и *P. lessonae*, что индуцирует элиминацию и развитие анти-элиминационных механизмов, но только в зародышевых клетках линии. Так, выдвинута гипотеза, согласно которой некодирующая РНК одного генома способна отличать последовательности ДНК от других геномов как чужеродные и препятствовать их функционированию, приводя к их удалению. Кроме того, РНК одного генома может защитить свой геном от элиминации и привести к элиминации незащищенный геном. Селективное удаление генома из половых клеток диплоидных и триплоидных гибридов происходит путем постепенного

удаления отдельных хромосом одного родительского генома, который заключен в микроядра (Dedukh et al., 2020b). Исходя из этого, особый интерес представляют полиплоидные гибриды.

Важный этап в концепции гибридного видообразования является достижение половой репродукции за счет образования полиплоидных особей, в частности триплоидных, которые также известны как «триплоидный мост» (Tunner, 1973; Patrelle, 2011; Mayer et al., 2013). Наличие триплоидных особей представляет собой пример начальных стадий видообразования посредством межвидовой гибридизации (Dedukh et al., 2019).

1.4. Краткий обзор современных экологических исследований комплекса зеленых лягушек

Как уже было сказано, популяция является элементарной единицей микроэволюционных процессов, которая существует в определенной среде, включающей абиотические и биотические факторы (Тимофеев-Ресовский и др., 1973). Поэтому изучению популяционной структуры видов уделяют большое внимание в экологических работах.

Безусловно, долгое время ведущим методом экологии являлся метод полевого исследования. Тем не менее, только полевые исследования не позволяют всесторонне оценить детали в жизни популяций (Шварц и др., 1968).

Необходимо использовать комплексный подход в изучении популяции для наиболее объективной и точной ответной реакции на изменения в окружающей среде.

«Бесхвостые земноводные (Anura) – наиболее разнообразные и многочисленные современные амфибии, играющие огромную роль в пищевых цепях экосистем и оказывающие существенное воздействие на биосферу» (Лада, 2012: С. 3). Благодаря этому, амфибии очень часто используются в качестве биоиндикаторов экологических исследований (Вершинин, 1997; Пескова, 2002; Рыжов, 2007; Спирина, 2007; Лада, 2012; Кузовенко, 2018).

Использование биондикации дает возможность, как выявить степень и

интенсивность воздействия неблагоприятных факторов, так и проследить временную и пространственную динамику деградации экосистем (Пескова, 2002; Спирина, 2007).

1.4.1. Морфологические методы исследования бесхвостых земноводных рода *Pelophylax*

Морфометрическая структура популяций.

Земноводные являются наиболее удобными объектами для изучения изменчивости, и часто выступают в качестве классических модельных объектов для мониторинга экосистем. Высокая численность, чувствительность к загрязнителям, продолжительность жизни в естественной среде обитания достигает до 7 лет, что позволяет изучать эффекты длительного воздействия антропогенных факторов (Вершинин, 1997; Лада, 2012; Henle et al., 2017). Морфологическая изменчивость организма обусловлена множеством факторов. Зачастую изменчивость между особями одной популяции или между популяциями одного того же вида может быть выражена более детально, чем различия между родственными видами (Майр, 1974).

Морфологические признаки в большей степени зависят от воздействия окружающей среды на организм и, таким образом, средние значения и дисперсии признаков, и особенно их индексов, могут свидетельствовать о происходящих изменениях в среде обитания (Спирина, 2007). Морфологической изменчивости земноводных рода *Pelophylax* посвящено много работ, как отечественных ученых (Терентьев, 1936; 1943; 1962; Терентьев, Чернов, 1949; Банников и др., 1977; Боркин, Тихенко, 1979; Таращук, 1989; Вершинин, 1989; Борисовский и др., 2000; Некрасова, 2001; Ручин и др., 2005; Лада, 2012; Свинин, 2015), так и зарубежных (Berger, 1966; Regnier, Neveu, 1986; Gubanyi, Korsos, 1992; Plötner et al., 1994; Kierzkowski, 2011).

Особый интерес вызывают морфологические аномалии, представляющие собой отклонения в морфологии от нормальной структуры организма. Частота встречаемости морфологических аномалий была предложена в качестве

биоиндикационного маркера оценки состояния окружающей среды (Вершинин, 1997; Спирина, 2007), однако этот вопрос длительное время оставался спорным в связи с неясной этиологией большинства морфологических аномалий.

Одну из таких аномалий в середине XX века впервые открыл и описал французский ученый J. Rostand, и дал ей название «аномалия Р» (Rostand, 1952; 1958; Свинин и др., 2020). «Аномалия Р – это полиморфный синдром различных морфологических нарушений развития, имеющий градуальный характер от незначительных отклонений от нормы к крайним формам отклонений» (Свинин и др., 2020: С. 113–114).

«Аномалия Р» в тяжелых случаях представляет собой инверсии задних конечностей, опухоли, полидактилии, брахимелии и другие отклонения, тогда как особи с легким течением заболевания имели только симметричную полидактилию (Rostand, 1952; 1958; Свинин и др., 2020). Ж. Ростаном было установлено, что частота встречаемости тяжелых форм «аномалии Р» во французских популяциях сильно варьировала, но по истечению времени аномалия полностью исчезала во всех исследуемых биотопах (Rostand, 1971; Свинин и др., 2020). Было выявлено, что данная аномалия отмечалась только у зеленых лягушек рода *Pelophylax*, а возможным вектором инфекционного агента, по мнению Ростана, являлись рыбы (Rostand, 1971; Свинин и др., 2020). На протяжении последующих 50 лет не было сведений об упоминании «аномалии Р», пока в Пензенской области не были обнаружены тяжелые формы данного синдрома (Svinin et al., 2019).

Проведенные исследования «таинственной» природы «аномалии Р» выявили, что данная аномалия вызвана трематодами *Strigea robusta*. Сложность аномалий зависит от стадий развития конечностей головастиков. На ранних стадиях развивалась тяжелая или легкая форма «аномалии Р», тогда как на поздних стадиях наблюдалась только полидактилия. Синдром аномалии Р – это новый вариант морфологических аномалий у земноводных, вызванных действием определенного вида трематод. В настоящее время массовые случаи полидактилии у западнопалеарктических зеленых лягушек, наблюдаемые на территории Европы, можно объяснить действием этого паразитического вида (Svinin et al.,

2020).

Питание в условиях урбанизации.

Антропогенное воздействие на популяции земноводных, в том числе и городские неизбежно приводит к изменению ряда экологических показателей, в их числе трофические связи и видовой состав паразитофауны (Бутов, Хицова, 2003). Зеленые лягушки лишены пищевой специализации, исключением служит только размерная дифференциация (Кузьмин, 1999; 2012). Это позволяет оценить реализованную трофическую нишу, через спектр питания популяции. Трофическая ниша, состоящая из двух стаций (водной и береговой), охватывает кормовые объекты, добытые в водоеме, на суше и летающие в воздухе (Файзулин и др., 2010).

По данным Ф. Ф. Зариповой размер трофической ниши шире в условиях низкого антропогенного пресса, чем на импактных территориях (Зарипова, 2012). Рядом авторов отмечается, что на соотношении экологических форм питания (наземных или водных) оказывает сильное влияние степень трансформации местообитаний. Пропорционально от степени нагрузки возрастает доля водных объектов (Зарипова, 2012; Файзулин и др., 2010; Файзулин и др., 2012). По мнению А. И. Файзулина сокращение наземной части трофической станции приводит к снижению доли наземных кормовых источников (Файзулин и др., 2012). Другая возможная причина увеличения доли водных кормов связана с фактором «беспокойства» (Вершинин, 1997). По нашему мнению, на импактных территориях возможны оба варианта одновременно.

Тем не менее, имеются данные, что в условиях антропогенной трансформации происходит увеличение ширины реализованной трофической ниши и повышение видового разнообразия рациона (Файзулин и др., 2012).

Фенотипический полиморфизм.

Термин «полиморфизм» в науку ввел английский эколог и генетик Э. Б. Форд в 1940 г. По Форду полиморфизм – это одновременное существование двух и более форм одного вида в одном и том же местообитании (Ford, 1940). Более полное определение термину дал Майр. «Полиморфизм – одновременное наличие

в одной популяции нескольких дискретных фенотипов или генов» (Майр, 1968). Важнейшим критерием полиморфизма является присутствие редкой формы присутствие частоты в диапазоне не менее 1–5%.

Следует отметить принципиальное отличие полиморфизма от полифенизма, в последнем случае изменению подвергается особь в процессе оттогенеза под воздействием факторов внешней среды, в отличие от полиморфизма при котором, изменчивость в первую очередь обусловлена генотипом (Алтухов, 2003). Стоит отметить определение В. Л. Вершинина: «Полиморфизм популяций – это универсальная стратегия, обеспечивающая сохранение целостности вида на основе постоянного взаимодействия наследственной изменчивости, случайного дрейфа генов и естественного отбора в нормально флуктуирующей среде» (Вершинин, 2008: С. 1). С конца XX века и по сегодняшний день фенотипический анализ нашел широкое применение в популяционных исследованиях (Яблоков, 1980).

У бесхвостых земноводных широко распространен полиморфизм по окраске спины наличия или отсутствия дорсомедиальной полосы (Ищенко, 1978; Боркин, 1979; Ганеев, 1981; Hoffman, Blouin, 2000; Зарипова и др., 2009). Установлено, что у рода *Pelophylax* и *Rana* фенотип «striata» (наличие светлой дорсомедиальной полосы) обусловлен действием доминантного аллеля аутосомного локуса, в случае рецессивного аллеля наблюдается фенотип «non-striata» (Щупак, 1977; Berger, Smielowski, 1982). Под воздействием антропогенного пресса у амфибий наблюдается возрастание доли морфы striata. Особи с наличием дорсомедиальной полосы имеют селективные преимущества в этих условиях (Топоркова, 1978; 1985, Вершинин, 1987; 1990; 1997; 2004; Файзулин, Чихляев, 2001; Замалетдинов, 2002; Пескова, 2002; Сторожилова, 2005; Спирина, 2007; Никашин, 2007; Зарипова, 2012; Свинин, 2015; Кузовенко, 2018).

Морфофизиологические индикаторы.

Морфофизиологические индикаторы являются одним из важных показателей, характеризующих состояние популяций. Биохимические аномалии способны приводить к изменениям индексов внутренних органов, что соответствует

концепции С. С. Шварца, которая гласит «любое изменение условий жизни прямо или косвенно связано с изменением энергетического баланса организма, что неизбежно приводит к соответствующим морфофункциональным сдвигам» (Шварц, Ищенко, 1968; Шварц, и др., 1968; Вершинин 1997; Спирина, 2007).

Согласно исследованиям ряда авторов, при возрастании антропогенного воздействия у большинства органов увеличиваются относительная масса (Вершинин, 1992; 1997; Жукова, Пескова, 1998; Пескова, 2001; Спирина, 2007; Зарипова, 2012; Зарипова, Файзулин 2012; Файзулин, Зарипова 2013; Кузовенко, 2018). Также известно, что морфофизиологические параметры не зависят от пола, что позволяет анализировать обобщенную выборку (Кузовенко, 2018).

1.4.2. Молекулярно-генетические и цитогенетические методы исследования бесхвостых земноводных рода *Pelophylax*

Белковый полиморфизм.

Открытие белкового полиморфизма стало настоящим прорывом в области популяционной генетики. Белковый полиморфизм, который до этого не был доступен для исследователей, позволил получить ценнейшую информацию о свойствах генома на молекулярно-генетическом уровне (Созинов, 1985).

В 1968 г. L. Berger, пытаясь упорядочить систематику лягушек в Европе, на основе своих селекционных экспериментов, открыл гибридную форму *P. esculentus* (Berger, 1968). Позже Н. G. Tunner электрофоретическим исследованием белков крови доказал гибридную природу съедобной лягушки (Tunner, 1973; 1974). Метод, основанный на различной аминокислотной последовательности, которые кодируют аллели генов, приводит к разной подвижности аллозимов (ферментов) в полиакриламидном геле под действием электрического тока. Вследствие чего, родительские гены имеют определенные аллели, причем фермент у двух видов может состоять из разных аминокислотных последовательностей (Остерман, 1981).

Так как *P. esculentus* является гибридом между *P. lessonae* и *P. ridibundus*, то большая часть генов, кодирующих ферменты, будут находиться в гетерозиготном

состоянии, при этом на электрофореграмме наблюдаются паттерны, которые присущи обоим родительским видам.

Электрофорез ферментов активно применялся для видовой идентификации зеленых лягушек. Т. Uzzell и L. Berger используя ряд изоферментов (лактатдегидрогеназа, глицерофосфатдегидрогеназа, глюкозофосфатная изомераза, креатинкиназа, фосфоглюкомутаза и аспартат-аминотрансфераза) исследовали родительские и гибридные формы центральной Европы. (Uzzell, Berger, 1975; Uzzell et al., 1977). Однако для достоверной идентификации видового состава комплекса при помощи электрофоретического разделения ферментов необходимо использовать большое количество маркеров, ввиду интрогрессии генов *P. ridibundus* в генофонд *P. lessonae* (Дедух, Красикова, 2017).

Другой областью применения электрофореза изоферментов заключается в определении пloidности. Триплоидные особи зеленых лягушек найдены еще в середине XX века (Wickbom, 1945). Массовые случаи полиплоидии гибридной лягушки описал R. Günther в 70-х годах прошлого века (Günther, 1975). В природе триплоидные особи могут встречаться в двух возможных вариациях:

- LRR – содержит два генома *P. ridibundus* и один *P. lessonae*;
 - LLR – в свою очередь два генома *P. lessonae* и один *P. ridibundus*
- (Günther, 1975, 1983; Ebendal, Uzzell, 1982; Vinogradov et al., 1990; Rybacki, Berger, 2001; Borokin et al., 200; 2006).

Количество белков будет коррелировать в зависимости от количества гена, который кодирует данный фермент. Таким образом, особь с генотипом LLR, по всей видимости, содержит больше ферментного продукта в два раза, характерного для *P. lessonae* и соответственно наоборот. Впрочем, так называемый «эффект дозы генов» у триплоидных *P. esculentus* выражен не всегда, что в свою очередь не позволяет по электрофореграммам достоверно определить диплоидных особей от триплоидных (Tunner, 1994; 2000; Дедух, Красикова, 2017). Тем не менее, электрофорез изоферментов остается одним из важных методов оценки генетической структуры популяций, невзирая на внедрение новых методов ДНК-технологий, т. к. анализу подвергается непосредственно кодирующая часть

генома (Снегин и др., 2019).

Изменчивость ДНК-маркеров.

Благодаря современным технологическим достижениям в области молекулярной биологии и генетики стало возможно изучать генетические вариации в ядерных и митохондриальных локусах (Schwenk et al., 2008). Активное исследование изменчивости нуклеиновых кислот земноводных началось в конце XX века (Plötner, 2005; Иванов 2019). Особое внимание исследователей обусловлено в связи с их адаптацией к обитанию в условиях трансформированных биотопов, уязвимые компоненты экосистем, коммерческие и инвазивные виды (Кузьмин, 1999; 2012).

Для оценки уровня потока генов между популяциями и родительскими видами долгое время использовали аллозимы. Однако для более детального изучения генетики популяций зеленых лягушек нужны более чувствительные селективно нейтральные маркеры. Разработанные случайно-амплифицированные полиморфные маркеры ДНК (RAPD) для оценки генетического полиморфизма имеет ряд важных недостатков, главным из которых является невоспроизводимость результатов ввиду высокой чувствительности метода к условиям реакции и образования неспецифических фрагментов (Zeisset, 1998; Sunnucks, 2000).

На сегодняшний день для изучения *Pelophylax esculentus* complex широко используются микросателлитные маркеры (Дедух, Красикова 2017), известные еще как простые повторяющиеся последовательности (Simple Sequence Repeat, SSR). Эти маркеры, ввиду их большого аллельного разнообразия, высокой степени полиморфизма и минимального количества ткани, необходимого для анализа, обладают высокой информационной ценностью как генетические маркеры для изучения микроэволюционных процессов и популяционной структуры (Bowcock, Ruiz-Linares, 1994; Jarne, Lagoda, 1996; Li., Korol, 2004, Галинская, Щепетов и др., 2019). Микросателлиты нашли широкое применение в различных областях биологии, как в классической генетике, так и в экологии (Галинская, Щепетов и др., 2019). SSR-маркеры активно используются для оценки

ряда важных параметров, таких как мутагенез, дрейф и поток генов, а также эффективный размер популяции в изучении комплекса среднеевропейских зеленых лягушек (Hotz et al., 2001; Christiansen, 2005; Дедух, Красикова, 2017; Dufresnes et al., 2017).

Исследование внутривидовой дифференциации популяций и генетического разнообразия в условиях урбанизированных ландшафтов является одним из важнейших направлений в популяционной биологии. Использование микросателлитных локусов показало, что во фрагментированных городских ландшафтах наблюдается снижение генетического разнообразия. Урбанизация представляет значительную угрозу для биологического разнообразия, поскольку она вызывает деградацию и фрагментацию местообитаний, а также изменяет видовые сообщества и структуру популяций.

Одним из множества негативных воздействий человека является «генетическое загрязнение» (Иванов, 2019). На сегодняшний день мировое сообщество ученых столкнулось с проблемой биологических инвазий чужеродных видов (Дгебуадзе и др., 2018). Преднамеренное или случайное внесение позволяет многим видам занимать несвойственные им местообитания (Кузьмин, 1999; 2012; Mikulíček, Pišút, 2012). Последствия интродукции оказывают негативное влияние на аборигенные виды, а в некоторых случаях вызывают генетическую интрогрессию, которая в последствии приводит к элиминации нативных геномов (Rhymer, Simberloff, 1996; Manchester, Bullock, 2000). Вторжение инвазивных видов или биоманипуляции, влияют не только на биоразнообразие и экологию систем, но и на эволюционную судьбу организмов (Oliveira et al., 2008). Christiansen в своих работах на основе микросателлитных маркеров доказал, что у гибридных популяций диплоидных (LR) и триплоидных (LLR и LRR) лягушек присутствует механизм рекомбинации между гомо- и гетероспецифичными геномами (Christiansen, Fog, 2005; Christiansen, Reyer, 2009; Christiansen, 2009).

Микросателлитные маркеры ДНК являются удобным инструментом для оценки структуры популяции, но для определения видовой принадлежности

сложных гибридогенных комплексов имеют некоторые ограничения, например, наличие нулевых аллелей или невозможность идентифицировать *P. cf. bedriagae* («восточная» форма *P. ridibundus*) (Дедух, 2017; Иванов, 2019).

Известно, что озерная лягушка, занимавшая некогда огромный ареал, в связи развитием молекулярно-генетических методов представляет собой сложный комплекс криптических видов (Банников и др. 1977; Кузьмин 1999; 2012; Боркин и др., 2004; Plötner, 2005; Hotz et al., 2013; Akin, 2015; Свинин, 2015; Кузовенко, 2018). При этом по данным множества исследований на Востоке ареала, озерная лягушка представляет собой комплекс криптических форм (*P. ridibundus* complex), а именно «западная» форма *P. ridibundus* и «восточная» *P. cf. Bedriagae* (анатолийская лягушка). Стоит также отметить, что таксономический статус комплекса на сегодняшний день является предметом дискуссий (Plötner, 2005; Akin et al., 2010; Plötner et al., 2010, Ермаков и др. 2013; 2014; Замалетдинов и др., 2015; Свинин, и др., 2013; 2015; Файзулин, и др., 2017; Кукушкин, и др., 2018; Файзулин и др., 2018; Иванов, 2019; Ivanov et al., 2019).

Стоит отметить, что надежная идентификация видов *Pelophylax esculentus* complex необходима для изучения региональной батрохофауны и разработки региональных стратегий сохранения аборигенных видов (Иванов, 2019). Многочисленные инвазии зеленых лягушек наблюдаются на территории всей Евразии как на Западе (Швейцария, Бельгия), так и на Востоке (Камчатка) (Holsbeek et al., 2008; 2009; Dubey et al., 2014; Lyarkov et al., 2018).

Одним из достоверных методов идентификации криптических форм зеленых лягушек является секвенирование нуклеотидных последовательностей, однако высокая стоимость и сложность метода ограничивают его применение при массовом анализе (Ermakov et al., 2019). В этой связи, для определения видовой принадлежности зеленых лягушек была разработана мультиплексная ПЦР, основанная на различиях в нуклеотидной последовательности первого интрона гена сывороточного альбумина (SAI-1) ядерной ДНК и фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы (COI) митохондриальной ДНК, что позволяет получать продукты ПЦР разной длины фрагментов (Ermakov et al.,

2019).

Метод проточной ДНК-цитометрии.

Метод проточной ДНК-цитометрии, является одним из надежных методов, как для определения видовой принадлежности, так и для определения ploидности зеленых лягушек. Метод основан на установление уровня рассеивания света лазерного луча при прохождении через него клетки в струе жидкости в проточном флуориметре (Vinogradov et al., 1990). Идентификация видовой принадлежности основано на количестве ДНК. У озерной лягушки средний размер диплоидного генома составляет 16 пикограмм (пг) (по некоторым данным может варьировать от 15,97 до 16,48 пг), у прудовой лягушки в среднем 14 пг (13,59–13,97 пг), диплоидные гибридные особи демонстрируют промежуточные значения (15 пг). Вес генома полиплоидных особей может сильно меняться, так, например, триплоидные *P. esculentus* по генотипу RRL – 23 пг, а по генотипу LLR вес генома составляет 22 пг (Vinogradov et al., 1990; Borkin et al., 2004; Dedukh, 2017; Файзулин, и др., 2018).

Метод гель-электрофореза изолированных клеток (ДНК-комет).

Метод гель-электрофореза изолированных клеток или метод ДНК-комет предложенный D. Ostling и K. Johansson в 1984 г. позволяющий оценить уровень повреждения и систему репарации ДНК в отдельных клетках. Главным преимуществом метода является его высокая информативность, простота и высокая чувствительность. Данный метод в экспериментах *in vivo* и *in vitro* нашел широкое применение как в исследовании генотоксичности фармацевтических препаратов, химических соединений, так и в экологических исследованиях и биомониторинге (Ostling, Johanson, 1984; Wirzinger, Weltje, 2007; Сорочинская, Михайленко, 2008; Снегин и др., 2011; Снегин, 2014; Артемчук, 2018).

Первое упоминание метода ДНК-комет с использованием земноводного опубликовал S. Ralph с соавторами в 1996 году (Ralph, et al., 1996). В качестве объекта исследования ими были выбраны: крикливая лягушка (*Lithobates clamitans* (Latreille, 1801)) и американская жаба (*Anaxyrus americanus* (Holbrook, 1836)). Особенности биологии амфибий, а именно: быстрый обмен веществ,

тонкая кожа, проницаемая для различных жидкостей, а также наличие жабр у их личинок (головастиков), приводящих к быстрому проявлению негативных влияний агентов окружающей среды у этой группы животных, позволило ученым провести ряд исследований на определение ряда ксенобиотиков (Clements et al., 1997; Liu et al., 2006; Burlibasa, 2011; Ismail et al., 2014). Однако исследования проводились только у нескольких видов земноводных в основном крикливой лягушки *L. clamitans* и гладкой шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (Daudin, 1802; Симонян, 2016). В литературе почти отсутствуют данные применение метода ДНК-комет толерантной к антропогенной нагрузке *P. ridibundus* (Erismis et al., 2013).

ГЛАВА 2. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЯ

Все исследованные популяции зеленых лягушек были собраны на территории юга Среднерусской возвышенности. Большинство пунктов сбора расположены в административных границах Белгородской области.

2.1. Географическое положение района исследования

Белгородская область – субъект РФ, располагающийся в центрально-европейской части России, южнее Москвы на 700 км, находится непосредственно на границе с Украиной. Белгородская область входит в состав Центрально-Черноземного экономического района и Центрального федерального округа Российской Федерации. На юге и западе она граничит с Луганской, Харьковской и Сумской областями Украины, на севере и северо-западе – с Курской, на востоке – с Воронежской областями. Средняя протяженность границы Белгородской области составляет 1200 км, при этом 540 км на границе с Украиной (Авраменко и др., 2007).

Поверхность территории представляет собой несколько приподнятую равнину, по которой проходят юго-западные отроги Орловско-Курского плато Среднерусской возвышенности, расчлененного многочисленными речными долинами и густой овражно-балочной сетью. Плато – главная водораздельная возвышенность, определяющая речную систему притоков Днепра (реки Сейм, Псел, Ворскла) от речной системы притоков Дона. Вся территория области изрезана сетью рек Донского и Днепровского водосборных бассейнов (Кузнецов, Новоспаский, 1979).

Площадь области составляет 27,1 тыс. км², протяженность с севера на юг – около 190 км, с запада на восток – около 270 км. Территория области вытянута с северо-запада на юго-восток более чем на 300 км (Авраменко и др., 2007).

Область расположена на юго-западных и южных склонах Среднерусской возвышенности в бассейнах рек Днепра и Дона, в лесостепной зоне на приподнятой всхолмленной равнине (Корнилов, 2017).

2.2. Геологическое строение, рельеф и почвы

Геологическое открытое строение рельефа региона обуславливается его положением в границах Русской платформы, немало важную роль при этом сыграла протяженная история развития данной территории. Что касается геологического строения, то в данном случае присуще наличие мощного фундамента и осадочного чехла. Образовавшийся более миллиарда лет назад покрыт толщей осадочных пород, на поверхность не выходит. Данный фундамент в своем составе содержит прочные магматические породы, такие как: гранит, кварциты, базальт и другие (Хижняк, 1984).

В докембрийский период (архейская, протерозойская эры), в результате воздействия древнейшего вулканизма был образован кристаллический фундамент, расположенный на северо-востоке области и залегает на глубине около 100 м в глубину, при этом самая возвышенная часть антеклизы располагается там же. В строении кристаллического основания участвует собранный в складки комплекс метаморфических пород, которое включает в себя рудоносный отдел, в котором залегает крупнейшие запасы железной руды. Данное залегание известно, как Курская магнитная аномалия (Некрич, 2008).

В палеозойскую эру территория Белгородской области представляла собой приподнятую и плоскую сушу. Увеличивающиеся колебания земной коры в девонском периоде привели к наступлению и отступлению моря (Петин и др., 2000). В каменноугольном периоде восточная часть региона была охвачена морем. В первой половине третичного периода также наблюдалось динамичное наступление и отступление моря, тем не менее, во второй половине периода поверхность региона снова стало сушей, море отступило полностью (Петин и др., 2000).

Важнейшим этапом в геохронологической истории было наступление четвертичного периода. Особенностью данного периода является похолодание, которое в свою очередь привело к «великому оледенению». Огромные толщи льда в эпоху наибольшего оледенения покрывали практически всю территорию Европы. Два крупнейших ледника по долинам рек Днепра и Дона продвинулись

на далекою юг, при этом Среднерусская возвышенность оказалась препятствием для ледников. Территория области была свободна ото льда, что послужило ее одним из рефугиумов для многих живых организмов (Мильков, 1950). Четвертичные отложения, а именно: ледниковые, перигляциальные образования аллювиальные и делювиальные развиты повсюду за редким исключением в местах выхода коренных пород на поверхность земли. Отложения четвертичного периода, как правило, составляет 20 метров (Корнилов, 2017).

Аллювиальными отложениями водных потоков были сложены речные, надпойменные террасы и овражно-балочные поймы. Широко распространены нерасчлененные перигляциально-делювиально-элювиальные или покровные отложения на водоразделах речных долинах надпойменных террасах. Результатом данных процессов на территории области наблюдаются большие запасы так называемого «нерудного сырья» минерального сырья осадочного происхождения, как морского, так и континентального, а именно: мела, глин, песка и других (Антимонов, 2003).

Общая площадь территории Белгородской области составляет чуть более 27 тыс. км², при этом, несмотря на малую площадь, для нее характерно обширная неоднородность геологических условий, которые обусловлены большим количеством экзогенных геологических процессов. При этом необходимо отметить, что большая часть из них может представлять большую угрозу, оказывая при этом негативное влияние, как на хозяйственное освоение региона, так и экологическую обстановку. К ним относят эрозионные, абразионные, карстовые, оползневые, суффозионные, эоловые явления, отдельно стоит отметить техногенные процессы (Григорьев, 1996).

В настоящий момент в Белгородской области поверхность пологоволнистая. Высота рельефа региона исследования составляет от 100 до 300 м над уровнем моря. При этом стоит отметить, что ландшафт области сильно расчленен оврагами, балками, а также широкой сетью речных долин. При этом, нередко наблюдается превышение водоразделов над днищами крупных речных долин до 160 м. Существенное отличие в высоте между устьями рек, а также значительное

распространение горных пород, поддающихся легкому размыву, повлекло за собой образование сети оврагов, балок и речных долин (Галимская, 1986).

На территории области выделяют три природные зоны (рис. 2.1): подзона типичной лесостепи; подзона южной лесостепи; степная зона, которые включают в себя 5 природно-территориальных комплексов, характеризующимися разными микроклиматическими условиями (Лисецкий и др., 2005; Корнилов, 2017).

2.3. Климатическая характеристика

Климатическая характеристика является одним из важнейших факторов, оказывающих влияние на популяционную структуру. Климат Белгородской области можно охарактеризовать как мягкий, для которого характерно продолжительное лето, мягкая зима (Голеусов, 2008). Климатическая карта Белгородской области представлена на рисунке 2.2 (Корнилов, 2017, с. 14).

На территории области продолжительность солнечного сияния динамично и зависит от сезона, при этом наблюдается увеличение в среднем от 35 часов в январе до практически 300 часов в июле.

Значительное влияние на климат может оказывать так называемая отражательная способность поверхности, которая во многом зависит от ее цвета, состава и т.д. Значение альбедо в регионе в среднем составляет 27%, тем не менее, на протяжении всего года оно может сильно меняться как в меньшую сторону от 20% в мае так, и в большую – до 70% в январе (Лисецкий и др., 2005). В летние месяцы (июнь, июль) прослеживается наибольшая сумма радиационного баланса, наименьшая – в декабре. Однако в отдельные года и месяцы наблюдаются отклонения от средних данных по наблюдению многолетней динамики, что в свою очередь оказывает серьезное влияние на тепловой режим региона (Голеусов, 2008).

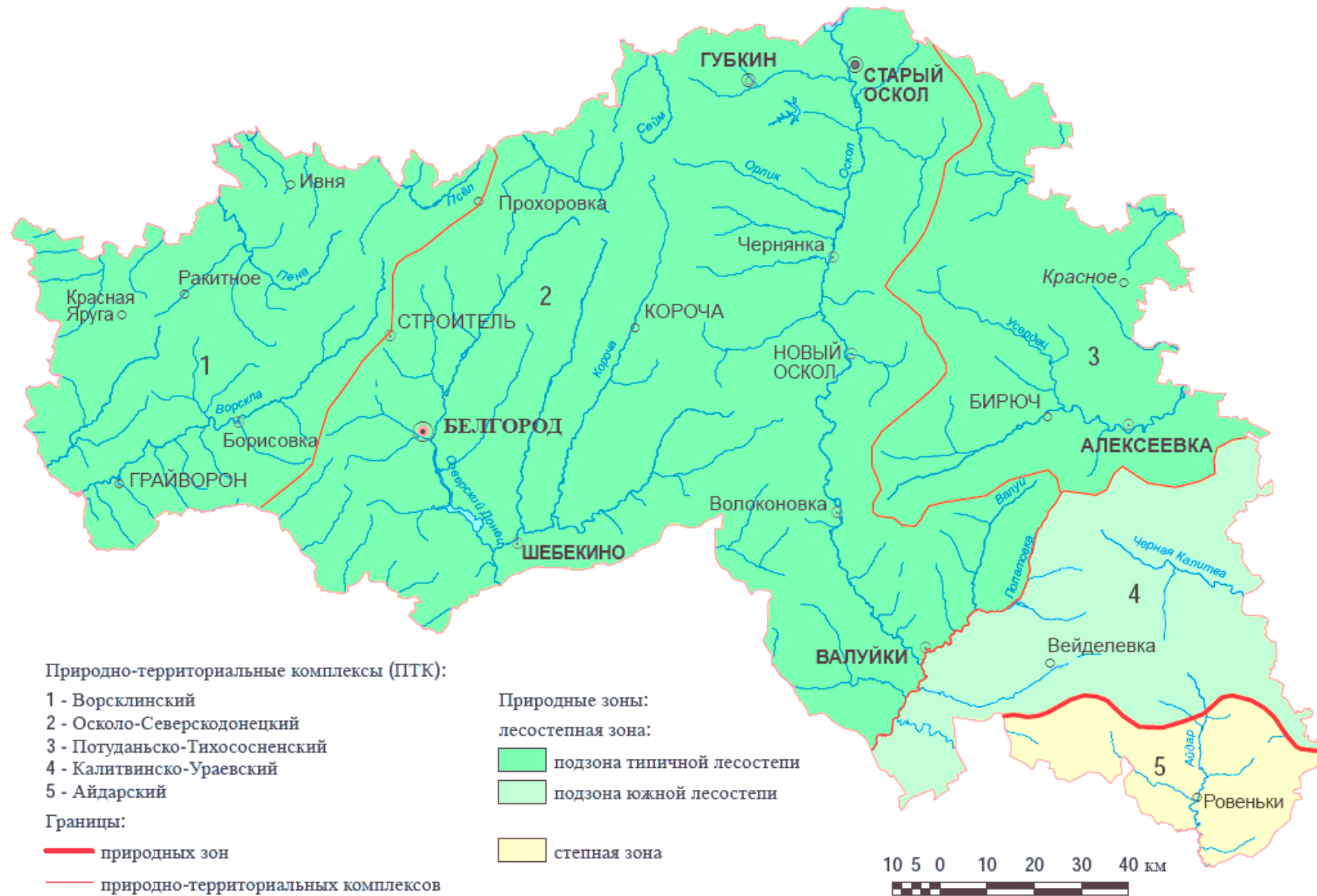


Рис. 2.1. Физико-географические районы Белгородской области (Географический атлас Белгородской области: природа, общество, хозяйство (отв. ред.: Корнилов, 2017, с. 14)

КЛИМАТИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

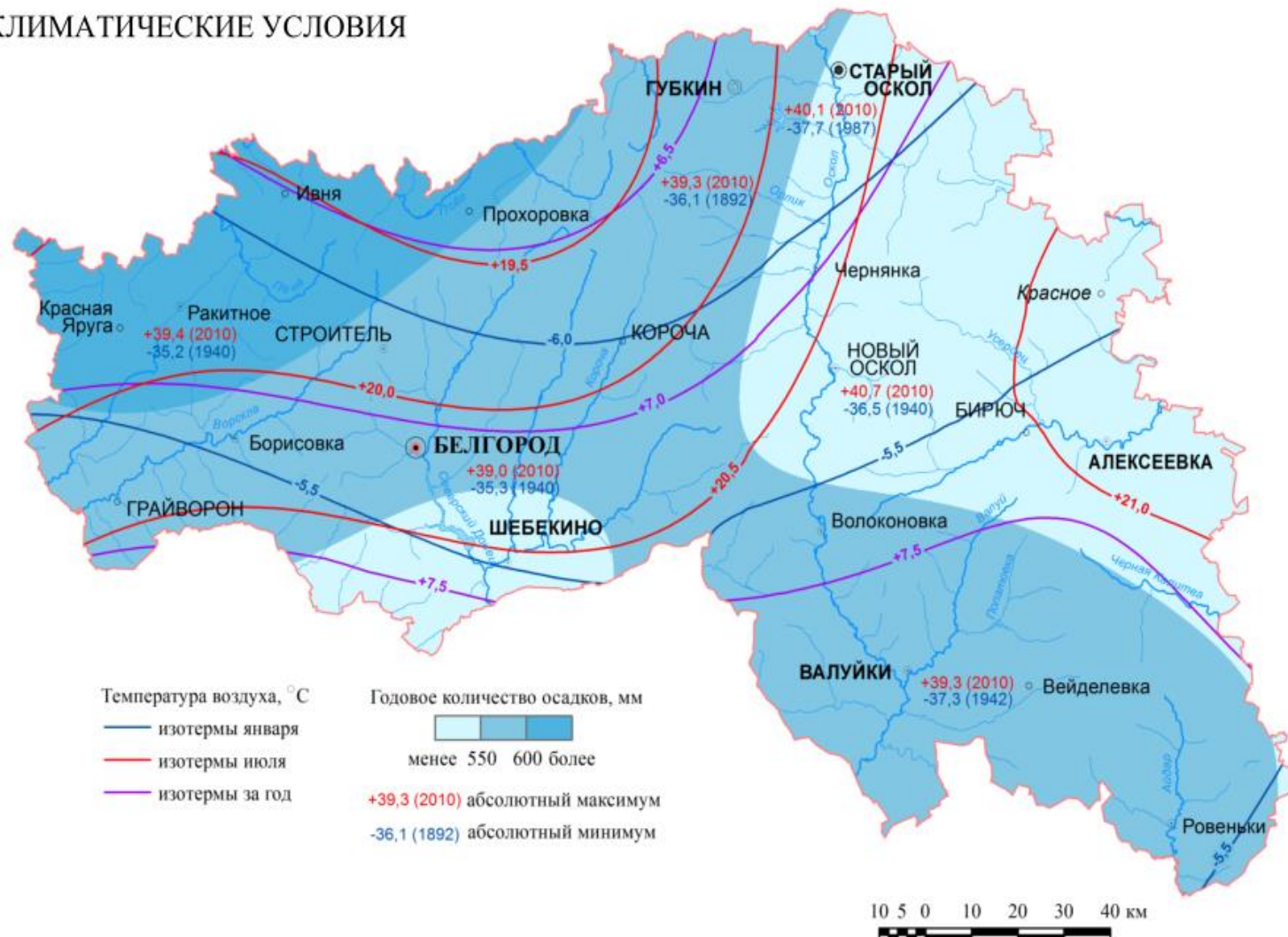


Рис. 2.2. Климатическая карта Белгородской области (Географический атлас Белгородской области: природа, общество, хозяйство (отв. ред.: Корнилов, 2017, с. 70)

Главным фактором, формирующим климат на территории Белгородской области, является передвижение в атмосфере воздушных масс. Над территорией Белгородской области в значительной степени преобладают воздушные массы, сформировавшиеся в умеренных широтах, при этом они могут быть как континентальными (формируются восточнее), так и морские (формируются западнее).

В зимний период в регионе, как правило, наблюдается западный перенос воздушных масс, также регистрируются и арктические циклоны, пришедшие с севера, сопровождающиеся обильными снегопадами, по окончании которых устанавливается безоблачная погода с сильными морозами. Нередко в зимнее время в регионе наблюдаются и южные и юго-западные циклоны, сопровождающиеся оттепелями и снегопадами.

Весной часто прослеживается неравномерное таяние снега на восточной и западной части региона. Данное явление обуславливается активными восточными ветрами. Ввиду того, что в регионе устанавливается разный температурный режим, происходит преобладание восточного переноса. Вследствие формирования несбалансированного температурного режима, в регионе доминирует восточный перенос, что влечет за собой усиление меридиональной циркуляции. Подобное явление часто обуславливает приток арктического воздуха, который в свою очередь может сопровождаться порывистыми ветрами и нехарактерными для мая заморозками. С южными ветрами на территорию Белгородской области активно поступает тропический воздух. Пришедшие с ними суховеи, вызывают стремительное увеличение испарения и осушение воздуха. В летние месяцы ввиду того, что регион подвергается влиянию восточной части Азорского антициклона, который смещается в северные широты, как правило, преобладает западный и северо-западный перенос воздушных масс (Голеусов, 2008).

Кроме всего прочего в регион также поступают и континентальные тропические воздушные массы, формирующиеся в Средней Азии, которые и

обуславливают установление сухой и жаркой погоды. Стоит отметить тот факт, что в летний период скорость ветра значительно слабее, чем в осеннее и зимнее время. Данный факт можно объяснить тем, что в результате выравнивания температуры воздуха на значительной территории уменьшается и разность давления (Лисецкий и др., 2005).

В осенний период, вследствие воздействия Азорского антициклона, продолжающего оказывать значительное влияние на циркуляцию атмосферного воздуха, при его еще довольно высоких температурных значениях доминируют ветра западного направления. В редких случаях на территорию Белгородской области поступают северные циклоны, приносящие резкое похолодание, однако, как правило, в регионе на данном периоде доминируют воздушные массы умеренных широт (Корнилов, 2017).

В зимнее время года снег способствует выхолаживанию поверхностей рельефа и соответственно установлению более морозной погоды. В весеннее время снежный покров ввиду высокого значения альбедо замедляет процессы таяния (Акимов, 2012).

Рельеф не оказывает заметного влияния в целом на климатические условия региона. Однако, микроклиматические условия на склонах, разных экспозиций, водоразделов, балок могут сильно варьировать. На микроклиматические условия также сильно влияет растительный покров, который уменьшает среднесуточную амплитуду, как температуры почвы, так и атмосферного воздуха (Голеусов, 2008).

Термический режим в регионе исследования формируется под комплексным действием климатообразующих факторов. Среднегодовая температура воздуха в регионе в среднем составляет $+6,4^{\circ}\text{C}$, при этом, в разных частях региона она может варьировать в среднем $+5,9^{\circ}\text{C}$ на севере до $+6,6^{\circ}\text{C}$ на юге. Самые низкие климатические значения зафиксированы в январе, наибольшее термическое значение достигается в июле, при этом так называемые переходные сезоны (весна/осень) краткосрочны.

По данным Белгородского центра по гидрометеорологии и

мониторингу окружающей среды три десятилетия наблюдается повышение средней температуры по сравнению с климатической нормой (Научно-прикладной справочник по климату СССР, 1990; Корнилов, 2017). При этом наибольший рост температурных показателей зафиксирован в зимнее время года, а именно: январь – 3,1°C; февраль – 2,2°C. При этом в летние месяцы рост минимален от 0,4°C в июне до 0,1°C в июле (Ахмерова, 1995). Однако к осени отмечается рост среднемесячных температур от 1,4 °C в августе до 0,8°C в сентябре (Лебедева, 2013).

Другим важным показателем климата является относительная влажность воздуха. Как и другие, показатели относительной влажности варьируют от сезона при минимальном значении 60% в мае, что обусловлено резким повышением температуры воздуха и максимальным значением до 90% в декабре. Количество дней с относительной влажностью воздуха менее 30% увеличивается в градиенте с северо-запада региона от 25 дней, до 40 – на юго-востоке, при этом более половины приходится на май, июнь. Наибольшее среднее количество дней с относительной влажностью воздуха более 80% приходится на осенне-зимнее время года (ноябрь, декабрь, январь). В данный временной промежуток ввиду преобладания пасмурной погоды наблюдается минимальный приток тепла, что в свою очередь приводит к повышению значений относительной влажности воздуха. По данным многолетних наблюдений прослеживается динамика количества дней с повышенной влажностью, в среднем общее количество суток с повышенной влажностью колеблется от 100 до 130, при этом более половины случаев приходится с ноября по январь (Голеусов, 2008).

Атмосферные осадки представляют собой важнейшую часть климатической характеристики региона исследования, недостаток и избыток количества осадков, в независимости от времени года, оказывает серьезное влияние на биоценозы.

Как уже было отмечено ранее, ведущим фактором, формирующим климат на территории региона, является передвижение в атмосфере

воздушных масс, распределение осадков не является исключением. Рельеф, а также высота над уровнем моря, не оказывают значительного влияния на распределение осадков. В среднем над территорией области выпадает 553 мм осадков в год. В регионе наблюдаются сезонные колебания выпадения атмосферных осадков, так минимальное количество выпадения осадков приходится на февраль, март; максимальное – июль, август. Твердые осадки выпадают в основном только в виде снега. Доля твердых осадков составляют в среднем 20% от средней годовой величины. Выпадение твердых осадков обусловлено поступлением западных циклонов. Что касается продолжительности залегания снежного покрова, то она варьирует в пределах 120 дней в северной части области и около 100 дней в южных районах региона, при этом его высота в среднем составляет 20–25 см. Наибольшая высота снежного покрова достигает в феврале (Бардов, 1999).

2.4. Гидрогеологическая характеристика

Уникальное геологическое строение рельефа региона исследования обуславливает и гидрогеологические условия. Стоит отметить, что Белгородская область представляет собой маловодный субъект Российской Федерации. Водные ресурсы региона представлены поверхностными водами (реки, озера, болота, и др.) и подземными водами.

Белгородская область располагается в пределах Донецко-Донского артезианского бассейна (рис. 2.3).

В регионе исследования прослеживается густая и сильно разветвленная сеть рек. В общей сложности по территории региона протекает около 500 ручьев и рек, их суммарная протяженность составляет почти 5000 км (Корнилов, 2017). На территории Белгородской области выделяют 4 крупнейшие реки, протяженностью более 100 км: Северский Донец, Оскол, Ворскла и Тихая Сосна. Продолжительное формирование рельефа региона сказалось на характере протекания рек. Для региона характерны равнинные реки, медленно протекающие по разработанным долинам.

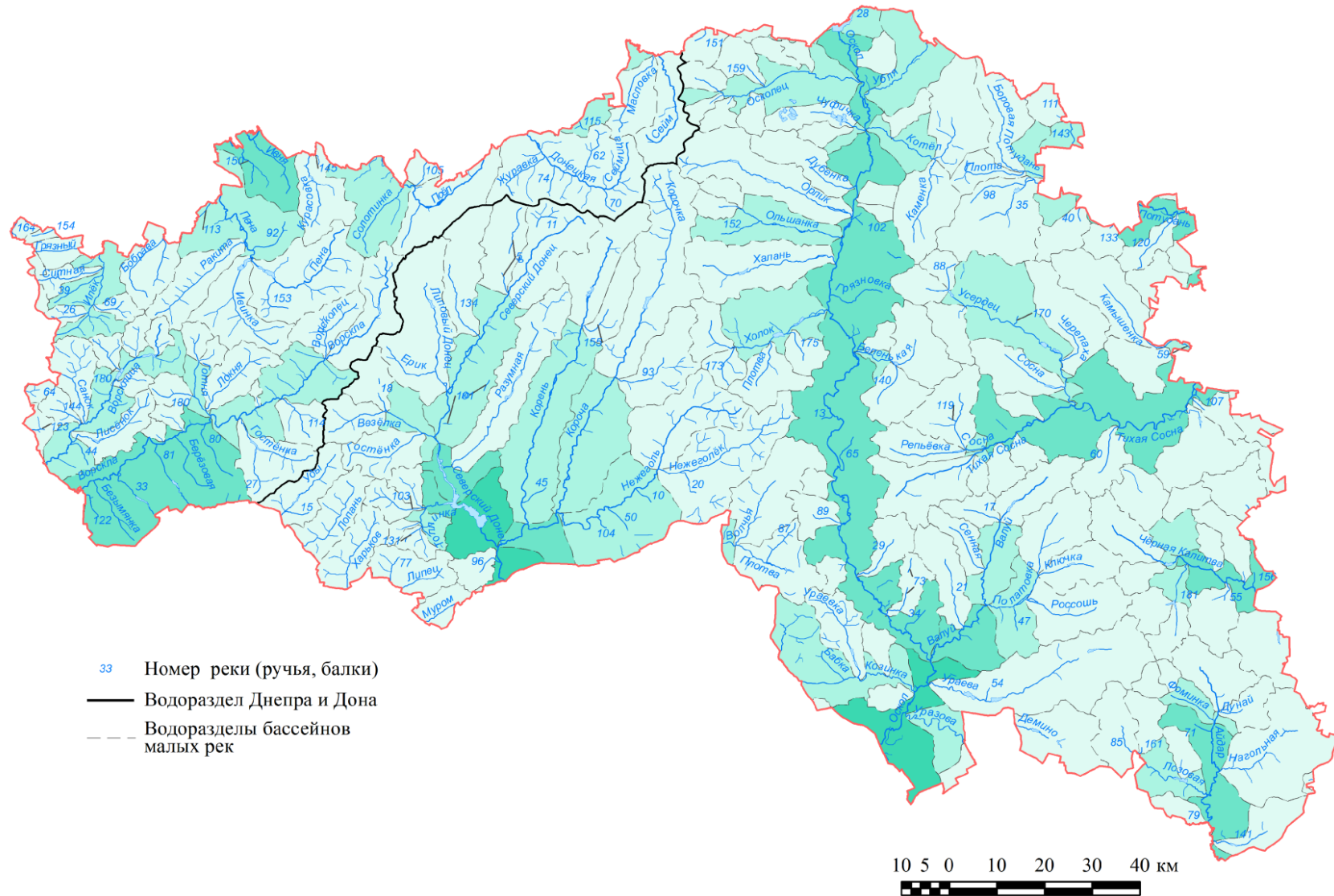


Рис. 2.3. Водораздел между бассейнами Дона и Днепра (Географический атлас Белгородской области: природа, общество, хозяйство (отв. ред.: Корнилов, 2017, с. 68).

Питание рек смешанное. Тем не менее, доминирующая роль в пополнении рек принадлежит дождевым и талым водам, в меньшей степени – грунтовым водам. Однако, в зимний период единственный источник питания рек, предохраняющий их от иссякания, это грунтовые воды (Лисецкий и др., 2015).

Водно-болотных угодий в регионе исследования мало и в основном представлены искусственными прудами, которые используются для хозяйственных нужд, в том числе и рыбразводческие пруды. Общий объем которых составляет до 1 млн. м³ (Петин и др., 2002; Петин и др., 2005).

Грунтовые воды безнапорные, залегают на небольшой глубине. Питание грунтовых вод обуславливается просачиванием атмосферных осадков, речных вод, значительно реже поступлением напорных вод из нижележащих горизонтов. Низкое залегание грунтовых вод и отсутствие водоупорных слоев обуславливает их химический состав. При этом грунтовые воды подвержены быстрому загрязнению (Лисецкий и др., 2015; Петин и др., 2014). Так же стоит отметить, что территория Белгородской области является водоразделом между водосборными бассейнами Дона и Днепра (см. рис. 2.3) (Лисецкий, 2015; Корнилов, 2017).

2.5. Краткая характеристика флоры и фауны Белгородской области

Для растительности региона исследования характерны особенности южной лесостепной и северной степной подзоны, в которой наблюдается поочередное чередование лесов и луговой степи (Агроклиматические ресурсы Белгородской области, 1972).

По особенностям ботанико-географических условий территорию Белгородской области можно районировать на две части (см. рис. 2.1):

1. Северо-западная часть, для которой характерна лесостепная подзона.
2. Юго-восточная часть, включающая в себя степную зону.

Растительный покров региона исследования представлен травостоями, кустарниками и лесами, при этом растительный покров в основном расположен по балкам и в поймах рек. В малой части территории региона сохранились степные участки (Чернявских и др., 2010).

Животный мир области включает в себя от 10 до 15 тыс. видов. Из них 60 видов млекопитающих, 279 видов птиц, из которых 152 вида гнездящихся в регионе, остальные пролетные и откочевывающие сюда зимой из северных регионов, 20 видов пресмыкающихся и земноводных, 40 видов рыб и около 11600 видов беспозвоночных животных, большая часть которых представлена насекомыми. Степень изученности фауны не превышает 40%, малоизученными остаются беспозвоночные животные (Дегтярь и др., 2016).

Фауна Белгородской области отличается большим разнообразием и в тоже время уязвимостью, ввиду высокого антропогенного пресса (Присный и др., 2012; Дегтярь и др., 2016).

В региональную Красную книгу включено 263 вида животных, включая 3 вида земноводных (Amphibia), а именно: серая жаба (*Bufo bufo* L., 1758); квакша восточная (*Hyla orientalis* Bedriaga, 1890); лягушка травяная (*Rana temporaria* L., 1758) (Красная книга Белгородской области ..., 2019).

Исходя из вышеизложенного, особо охраняемые природные территории (ООПТ) играют важную роль для сохранения биоразнообразия региона (Петин и др., 2002; Антимонов, 2003).

2.6. Техногенная нагрузка на территории Белгородской области

Экологическая обстановка на территории Белгородской области в текущий момент времени определяется как «напряженная». Ввиду географического расположения и длительной истории, область представляет собой один из самых освоенных субъектов Российской Федерации. С XVI века на территории региона находилась оборонительная черта с городами-крепостями Белгород, Валуйки, Оскол. Начиная с XVIII века, произошло стремительное увеличение численности населения, что обусловило резкое сведение лесов и рост площади сельскохозяйственных угодий (пашни, пастбища и др.) (Корнилов, 2017).

На сегодняшний день от общей площади территории региона более 80% заняты сельскохозяйственными угодьями, около 10% земли лесного фонда, в том числе лесозащитные полосы, 4,5% населенные пункты, 1,5% автомобильные и

железные дороги, промышленные предприятия, 1% не подвергнутые прямому антропогенному воздействию целинные земли, как правило, овражно-балочной системы (рис. 2.4).

Белгородская область занимает примерно 0,2% от общей площади территории Российской Федерации. Однако, несмотря на это, регион занимает лидирующие позиции по производству сельхозпродукции, в частности в общероссийском производстве доля мяса птицы составляет почти 20%, а свинины – 22%. Значительное влияние на экологическую обстановку в регионе оказывают и промышленные предприятия, например, металлургическая промышленность. Белгородская область находится в пределах крупнейшего железорудного бассейна Курской магнитной аномалии (КМА), в котором добывается треть металла от общей добычи в стране. Активное развитие сельского хозяйства и промышленности обусловили и лидирующие позиции по плотности транспортной сети (см. рис. 2.4).

Таким образом, за многолетнюю историю территория Белгородской области прямо или косвенно была трансформирована антропогенными факторами, что указывает на сформировавшуюся природно-техногенную систему (комплекс).

«Природно-техногенные комплексы – это инженерные системы природообустройства вместе с природными объектами, на которых они построены» (Иванова, 2021 с. 19).

По степени антропогенного пресса территорию Белгородской области можно подразделить на 4 зоны:

1. Зона с минимальной степенью антропогенной нагрузки. Характерно для заповедных участков, возможно существование незатронутых деятельностью человека биотопов.

2. Зона умеренной антропогенной нагрузки. Для нее характерны лесные массивы, водоохранные зоны и т.п.

3. Зона повышенного антропогенного пресса. Делится на две подзоны:

– сельскохозяйственная подзона связана с сельскохозяйственными угодьями (пашни, пастбища и т.п.). Главными факторами воздействия

заклучаются в воздействии избыточного использования минеральных и органических удобрений, гербицидов, пестицидов, разрушения естественных биотопов, а также их фрагментация;

– селитебная подзона обусловлена сельскими населенными пунктами. Ведущими факторами на состоянии экологической обстановки являются животноводческие комплексы, магистрали, неканализованная частная застройка.

4. Зона наивысшей антропогенной нагрузки. Данная зона располагается на городских территориях и промышленных центрах или на землях занятых промышленными центрами. На территории Белгородской области зона повышенной антропогенной нагрузки располагается вдоль крупнейших городов области: Алексеевка, Белгород, Валуйки, Губкин, Старый Оскол, Шебекино (Корнилов, 2017).

При этом стоит отметить, что наиболее напряженная экологическая обстановка на территории региона отмечается на северо-востоке области в районе расположения крупных горнопромышленных комплексов (Губкинский и Старооскольский городские округа), в которых расположены крупнейшие горно-обогатительные комбинаты Стойленский и Лебединский (Беляева, 2004).

Таким образом, возрастающая техногенная нагрузка на территории области приводит к обостренной экологической обстановке, что сказывается на всем биоразнообразии региона.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ



Рис. 2.4. Распределение антропогенной нагрузки на территории Белгородской области (Атлас «Природные ресурсы и экологическое состояние Белгородской области»: учеб.-справ. картограф. пособие. – Белгород, 2005)

(отв. ред.: Ф.Н. Лисецкий)

ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования были сделаны выборки *P. esculentus* complex из 37 локалитетов в количестве 770 особей (684 – *P. ridibundus*; 85 – *P. esculentus*; 1 – *P. lessonae*). Сбор материала проведен в летний период полевых сезонов 2017–2020 гг. Пункты сбора отличались степенью антропогенной нагрузки согласно классификации, предложенной В. Л. Вершининым (1997) и Р. И. Замалетдиновым (2003). Описание пунктов сбора и их локализация представлены в таблице 3.1 и на рисунке 3.1.

Таблица 3.1

Пункты сбора *Pelophylax esculentus* complex

Локалитеты	Описание	Координаты	N
1	2	3	4
1. Северский Донец	Река Северский Донец, Белгород. Промышленная застройка.	50°35'28.6" N 36°34'59.2" E	19
2. Везелка	Река Везелка, Белгород. Многоэтажная застройка.	50°35'28.6" N 36°34'59.2" E	20
3. Оскочное	Пруд, Белгород. Малоэтажная застройка.	50°38'53.8" N 36°33'25.5" E	20
4. Ячневский	Пруд, Белгород. Малоэтажная застройка.	50°38'23.1" N 36°34'44.8" E	16
5. Дубовое	Белгородский район. Зеленая зона.	50°31'56.5" N 36°34'59.8" E	18
6. Устье	Устье р. Разумной, Белгород. Малоэтажная застройка.	50°31'49.1" N 36°38'57.2" E	26
7. Майский	Озеро, пос. Майский. Малоэтажная застройка.	50°30'54.0" N 36°27'43.2" E	19
8. Северный	Озеро, близ пос. Северного. Зеленая зона.	50°43'58.8" N 36°29'13.2" E	24
9. Шопино	Река Липовый Донец. Малоэтажная застройка.	50°42'19.7" N 36°36'40.0" E	22
10. Нежеголь	Река Нежеголь, окраина г. Шебекино. Малоэтажная застройка.	50°23'24.8" N 36°50'23.6" E	22
11. Графовка	Водно-болотный комплекс близ Белгородского водохранилища. Зеленая зона.	50°25'07.4" N 36°46'24.8" E	17
12. Глотова	Озеро, близ с. Глотова. Малоэтажная застройка.	50°27'52.9" N 35°37'51.9" E	13
13. Плотва	Река Плотва, близ с. Борисовка. Зеленая зона.	50°21'23.2" N 37°36'44.6" E	20
14. Сазон	Озеро Сазон, пгт. Волоконовка. Малоэтажная застройка.	50°29'38.4" N 37°52'33.6" E	22

1	2	3	4
16. Волчья	Река Волчья, близ с. Волчья Александровка. Зеленая зона.	50°26'54.4" N 37°34'15.4" E	24
17. Губкин	Река Осколец, г. Губкин. Промышленная застройка.	51°16'15.6" N 37°32'56.4" E	14
18. Орлик	Река Орлик, близ с. Орлика. Зеленая зона.	51°04'04.8" N 37°41'06.0" E	31
19. Ольшанка	Река Ольшанка, близ с. Ольшанка. Зеленая зона.	51°00'14.4" N 37°39'50.4" E	24
20. Халань	Река Халань, близ с. Русская Халань. Малоэтажная застройка.	50°56'49.2" N 37°43'33.6" E	18
21. Беленькая	Река Беленькая, близ рыбопроизводческого пруда. Зеленая зона.	50°44'53.2" N 37°57'43.4" E	10
22. Оскол	Река Оскол, Новый Оскол. Малоэтажная застройка.	50°44'05.4" N 37°50'21.0" E	19
23. Чуфичка	Исток р. Чуфички, близ хвостохранилища Стойленского горно-обогатительного комбината. Промышленная застройка.	51°11'59.5" N 37°50'04.9" E	17
24. Корень	Река Корень, близ с. Коломыцева. Зеленая зона.	50°50'52.8" N 37°03'00.0" E	22
25. Короча	Корочанское водохранилище, р. Короча. Малоэтажная застройка.	50°50'35.5" N 37°13'00.7" E	24
26. Сейм	Река Сейм, близ с. Солнцева. Зеленая зона.	51°11'16.8" N 37°17'34.8" E	11
27. Тихая Сосна	Река Тихая Сосна, пгт. Бирюч. Малоэтажная застройка.	50°38'24.1" N 38°24'04.1" E	19
28. Валуй	Река Валуй, г. Валуйки. Малоэтажная застройка.	50°12'17.2" N 38°06'03.9" E	33
29. Голубой Дунай	Река Голубой Дунай, с. Свистовка. Малоэтажная застройка.	50°04'58.3" N 38°56'34.1" E	5
30. Айдар	Река Айдар, пгт. Ровеньки. Малоэтажная застройка.	49°54'12.2" N 38°55'23.4" E	21
31. Ворскла	Река Ворскла, пгт. Борисовка. Малоэтажная застройка.	50°36'15.6" N 36°01'36.2" E	3
32. Ракита	Река Ракита, пгт. Ракитное. Малоэтажная застройка.	50°49'47.7" N 35°49'56.3" E	12
33. Пена	Река Пена, близ с. Венгеровка. Малоэтажная застройка.	50°56'11.9" N 36°02'01.8" E	12
34. Полная	Река Полная, х. Полный, Курская обл. Малоэтажная застройка.	51°33'21.6" N 36°28'01.2" E	14
35. Белая	Река Белая, Воронежская обл. Зеленая зона.	49°50'01.7" N 39°20'03.6" E	21
36. Дон	Река Дон, ст. Казанская, Ростовская обл. Малоэтажная застройка.	49°47'23.0" N 41°08'11.9" E	27
37. Севрюково	Река Разуманая, с. Севрюково. Зеленая зона.	50°36'57.1" N 36°46'22.3" E	5

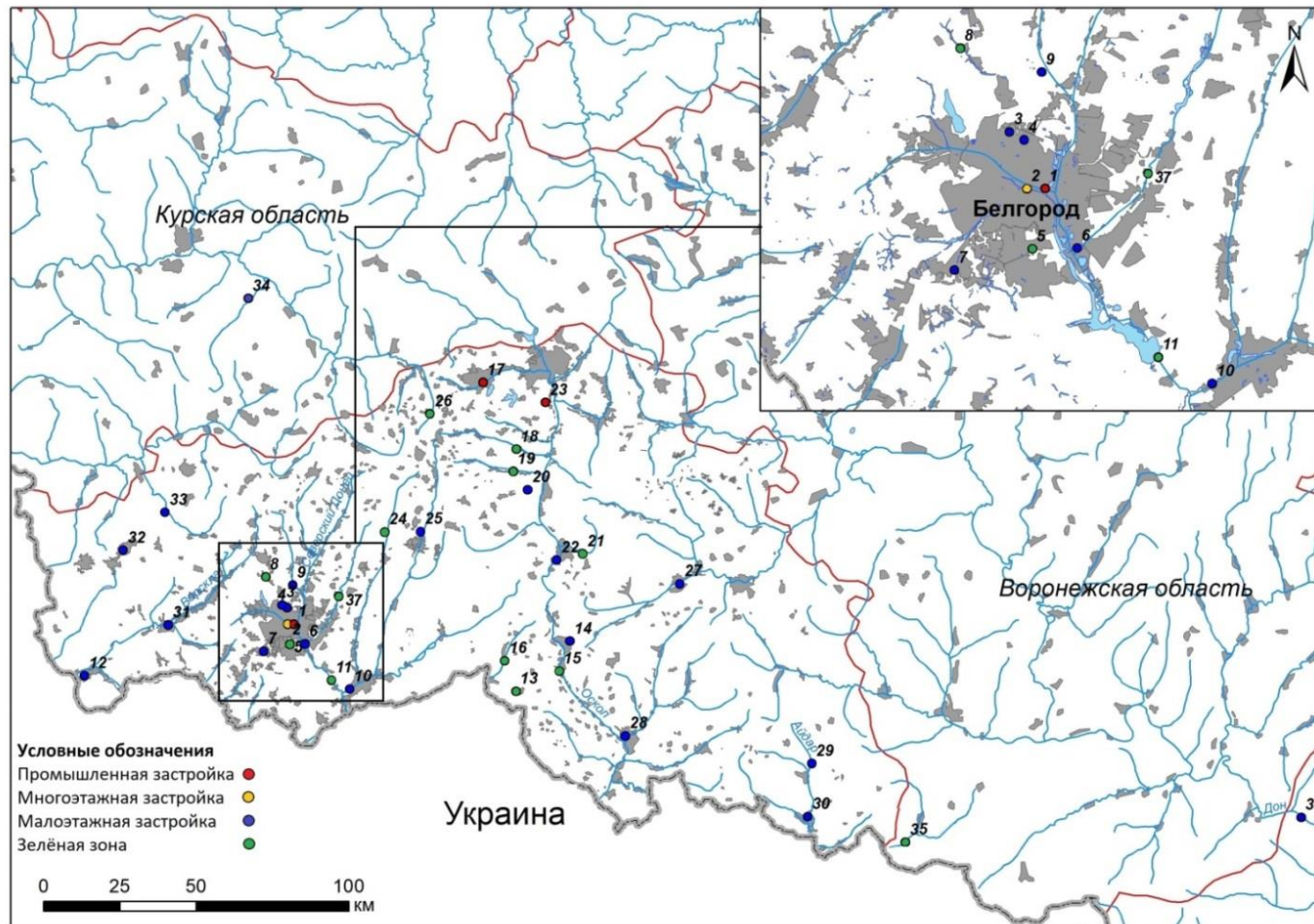


Рис. 3.1. Пункты сбора *P. esculentus* complex: 1 – «Северский Донец», 2 – «Везелка», 3 – «Оскочное», 4 – «Ячевский», 5 – «Дубовое», 6 – «Устье», 7 – «Майский», 8 – «Северный», 9 – «Шопино», 10 – «Нежеголь», 11 – «Графовка», 12 – «Глотова», 13 – «Плотва», 14 – «Сазон», 15 – «Оскол 1», 16 – «Волчья», 17 – «Губкин», 18 – «Орлик», 19 – «Ольшанка», 20 – «Халань», 21 – «Беленькая», 22 – «Оскол», 23 – «Чуфичка», 24 – «Корень», 25 – «Короча», 26 – «Сейм», 27 – «Тихая Сосна», 28 – «Валуй», 29 – «Голубой Дунай», 30 – «Айдар», 31 – «Ворскла», 32 – «Ракита», 33 – «Пена», 34 – «Полная», 35 – «Белая», 36 – «Дон», 37 – «Севрюково»

Для изучения популяционной структуры *P. esculentus* complex мы использовали морфометрические, морфофизиологические, фенотипические признаки, а также молекулярно-генетические маркеры. Как отмечалось ранее, что для описания групп комплекса средневропейских зеленых лягушек, населяющих общие биотопы и образующие общие группы размножения, используют термин «популяционные системы» (Дедух, 2016). Для удобства изложения в нашей работе термин «популяционная система» средневропейских зеленых лягушек мы заменили термином «популяция».

Объем проанализированного материала: по морфометрическим признакам изучено 436 особей (225 самок; 211 самцов); по морфофизиологическим показателям – 451 особь; по фенотипическим признакам – 748 особей (Бархатов, Снегин, 2021); по изоферментам и ДНК-маркерам – 770 особей (Бархатов и др., 2021); по оценке устойчивости к генотоксичным загрязнителям – 30 особей (Снегин и др., 2021).

Ввиду того, что материал из пункта № 34 «Полная» был предоставлен коллегами в виде замороженной ткани, анализ этой популяции проведен только молекулярно-генетическими методами. В пункте № 37 «Севрюково» исследование проведено только с помощью метода ДНК-комет на основе нашего предыдущего исследования (Snegin et al., 2018).

Ввиду того, что локальные популяции, обитающие в условиях одной реки, судя по результатам нашего исследования, представляют собой единую панмиктическую популяцию, нами было принято решение объединить исследуемые локалитеты в 8 групп по количеству бассейнов полноводных рек юга Среднерусской возвышенности (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Локалитеты объединенные в речные популяции

Номера объединенных речных популяций	Бассейн	№ локалитетов
1. Пена	Днепровский	32, 33
2. Ворскла		12, 31
3. Сейм		26, 34

4. Северский Донец	Донской	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 16, 24, 25
5. Оскол		14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 28
6. Айдар		29, 30, 35
7. Тихая Сосна		27
8. Дон		36

3.1. Морфологический анализ

Для измерения морфометрических показателей использовали стандартные линейные промеры (параметры), принятые для бесхвостых земноводных (Терентьев, Чернов, 1949; Банников и др., 1977; Лада, Соколов, 1999): L. – длина тела от кончика морды до центра клоакального отверстия; Lt.c. – ширина головы; F. – длина бедра; T. – длина голени; C.s. – длина стопы; D.p. – длина первого пальца задней конечности; C.int.l. – наибольшая длина внутреннего пяточного бугорка в его основании. Измерения проводили штангенциркулем, при его погрешности 0,1 мм.

На основе снятых параметров рассчитали индексы L./Lt.c., L./F., L./T., L./C.s., L./D.p., L./C.int., F./T., T./C.int.l., D.p./C.int.l. (Тарашук, 1989). Для анализа изменчивости морфометрических признаков мы использовали только половозрелых особей.

Вариацию окраски проводили по общепринятым методикам (Боркин, Тихенко, 1979; Лада, Соколов, 1999): 1. *Striata* (S) – наличие светлой дорсомедиальной полосы; 2. *Maculata* (M) – отсутствие полосы и наличие крупных (до 2–3 мм) пятен; 3. *Punctata* (P) – крапчатость; 4. *Burnsi* (B) полное отсутствие полосы, пятнистости и крапчатости (рис. 3.2).

Фенотипические признаки фиксировались с помощью цифрового фотоаппарата Panasonic Lumix DMC-F2 с разрешением 10 мегапикселей. Для оценки физиологического состояния земноводных рассчитывали индексы внутренних органов (i) (Шварц и др., 1968). Взвешивание проводили с помощью весов OHAUS Scout SPX422 с точностью до 0,01 г. Определяли массу животного, затем проводили вскрытие и изымали внутренние органы (сердце, печень, почки). Согласно данным исследований Ф. Ф. Зариповой и

А. И. Файзулина, статистически значимых различий между самками и самцами не выявлено, что в свою очередь позволяет анализировать обобщенную выборку (Зарипова, Файзулин, 2012).

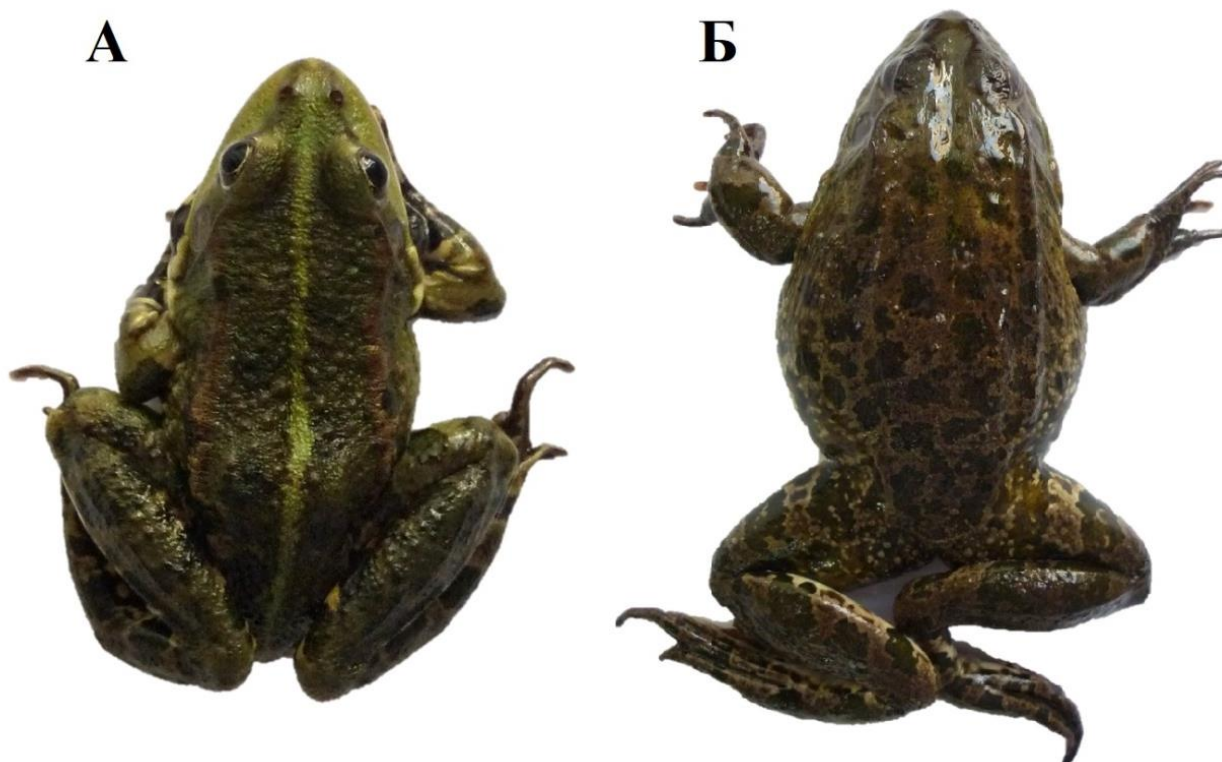


Рис. 3.2. Морфы А – Striata; Б – Maculata

3.2. Молекулярно-генетический анализ

3.2.1. Электрофорез ферментов в полиакриламидном геле (ПААГ)

Электрофорез проводили в камере VE-20 (Helicon, Россия) в вертикальных пластинках полиакриламидного геля (ПААГ) по методике Л. А. Остермана (Остерман, 1981).

Электрофорез проводили в 10%-ном полиакриламидном разделяющем геле. Для проведения электрофореза использовали электродный Трис-глициновый буфер рН=8,3. Схемы приготовления растворов для электрофореза изоферментов приведены в таблицах 3.3, 3.4 (Бархатов, 2017).

Продолжительность электрофореза составляло 4 часа при напряжении 200 В и температуре среды +4°C. По окончании электрофореза блоки вынимали и проводили ферментативную реакцию для окраски.

Таблица 3.3

Исходные компоненты для электрофореза изоферментов

Раствор	Составляющие компоненты	Количество вещества
А рН = 8,9	НСI (1 н раствор)	48 мл
	Трис	36,6 г
	Вода	до 100 мл
В рН = 6,7	НСI (1 н раствор)	48 мл
	Трис	5,98 г
	Темед	0,46 мл
	Вода	до 100 мл
С	Акриламид	28 г
	Бисакриламид	0,735 г
	Вода	до 100 мл
D	Акриламид	10 г
	Бисакриламид	2,5 г
	Вода	до 100 мл
Е	Рибофлавин	4 мг
	Вода	до 100 мл
F	Сахароза	40 мг
	Вода	до 100 мл
Электродный буфер рН = 8,3	Трис	2,9 г
	Глицин	13,8 г
	Вода	до 1,2 л

Таблица 3.4

Объемы исходных растворов для получения гелей различных концентраций

Концентрация геля (%)	Исходные растворы (мл)			
	Мелкопоровый (разделяющий) гель			
Раствор	А	С	Н ₂ О	ПФ
10,0	4,8	11,9	20,8	55 мкл
Крупнопоровый (концентрирующий) гель				
Раствор	В	D	Е	F
	1	3	1	3

Выявление эстераз проводили по следующей схеме. После электрофореза гель инкубировали в 3%-м растворе борной кислоты в течение 15 минут. Далее гель выдерживали в растворе 0,1 М буфера Tris-HCl рН 7,8 с

добавлением α -нафтилацетата и красителя прочного красного (Fast Red). Выявление лактатдегидрогеназы проводили в растворе 0,1 М фосфатном буфере (pH=7,4) содержащим НАД, НСТ, ФМС и 1 М лактат натрия. Состав ферментативной реакции представлен в таблице 3.5.

Таблица 3.5

Исходные компоненты для ферментативных реакций

Фермент	Составляющие компоненты	Количество вещества
Эстеразы	α -нафтилацетат (растворенный в ацетоне)	10 мг
	Прочный красный TR	3 мг
	0,1 М буфер Tris-HCl pH 7,8	100мл
Лактатдегидрогеназа	НАД	15 мг
	НТС	15 мг
	ФМС	20 мг
	1 М лактат натрия	20 мл
	0,1 М фосфатный буфер (pH=7,4)	100 мл

У представителей комплекса зеленых лягушек в изучаемых ферментах были проанализировано 3 локуса (рис. 3.3, 3.4): из них два локуса мономерных эстераз с тремя аллельными вариантами (EST1 и EST2) (Снегин, Бархатов, 2019), и димерный локус лактатдегидрогеназы с тремя аллелями. Согласно результатам настоящего исследования, выдвинутое нами ранее предположение о наличии легких фракций эстераз (рис. 3.3) непосредственно у гибридных *P. esculentus* не подтвердилось.

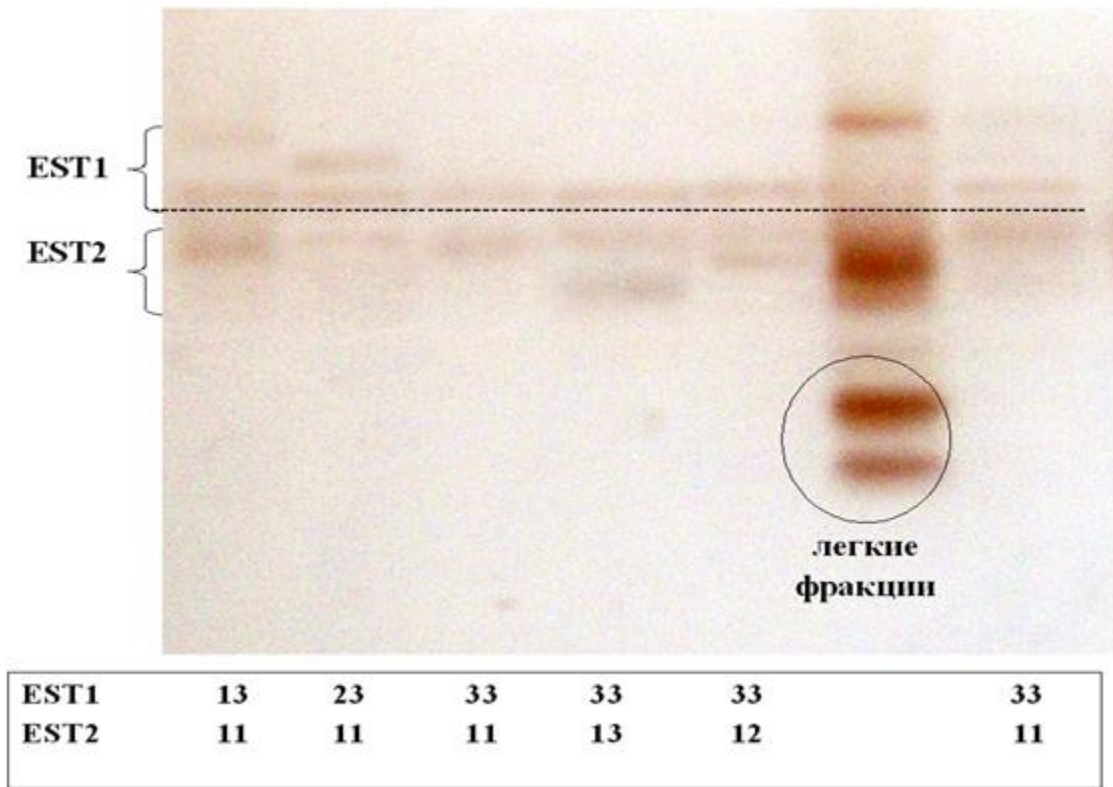


Рис. 3.3. Фрагмент электрофореграммы фермента неспецифических эстераз

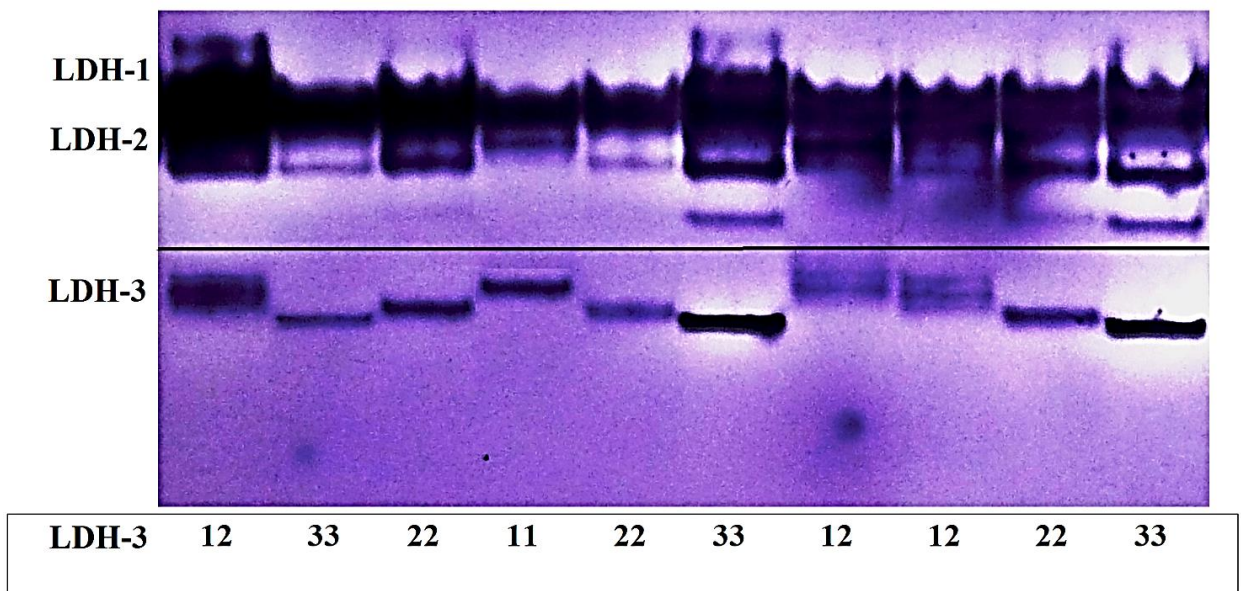


Рис. 3.4. Фрагмент электрофореграммы фермента лактатдегидрогеназы

3.2.2. Метод полимеразной цепной реакции

Выделение геномной ДНК проводили набором «ДНК-Экстран-2» (Синтол, Россия), согласно протоколу, предложенному компанией.

Идентификация видов мультипраймерной тест-ПЦР системы.

Ввиду того, что *Pelophylax esculentus* complex представлен рядом гибридов и криптических форм, достоверное определение видовой принадлежности проводилось двумя молекулярно-генетическими маркерами: интрон 1 гена сывороточного альбумина *SAI-1* яДНК для определения гибридов и криптических форм; фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы *COI* мтДНК для определения материнских линий.

Для этого использовали мультиплексную ПЦР-тест систему идентификации видов *Pelophylax esculentus* complex (табл. 3.6), предложенную О. А. Ермаковым с соавторами (Ermakov et al., 2019). В качестве положительно-контрольных образцов использовали материал с проанализированной последовательностью генов *SAI-1* яДНК (871 п.н.) и *ND2* мтДНК (1038 п.н.).

ПЦР-амплификация включала в себя начальный цикл денатурации при 95 °С в течение 5 минут и 35 последующих циклах при 94 °С в течение 30 с, 60 °С для гена *SAI-1*, 62 °С для гена *COI* мтДНК в течение 60 с и 72 °С в течение 60 с, а затем заключительный этап элонгации при 72 °С в течение 10 минут.

После амплификации продукты ПЦР вносили в лунки 4%-ого агарозного геля с трис-ацетатным буфером. В качестве маркера молекулярных длин использовали «маркер длин ДНК 50 + bp DNA Ladder» (Gel Loading Dye, Evrogen).

Электрофорез проводили в течение 50 минут при напряжении 100 В. По окончании электрофореза, гель выдерживали в водном растворе бромистого этидия в течение 20 минут. Визуализация проведена при помощи

системы гель-документирования. Электрофореграмма представлена на рисунке 3.5.

Таблица 3.6

Состав мультиплексной тест-системы

Название	Последовательность (5'-3')	Длина продукта (п.н.)	Специфичность
COIF-Pb	ctttggaattgactcgtgccca	440	<i>P. cf. bedriagae</i>
COIF-Pl	gaactgtgtacccccactag	294	<i>P. lessonae</i>
COIF-Pr	gctggggtttcatcaattctg	214	<i>P. ridibundus</i>
COIR-Pu	cctgcrggatcaaaaaatgttt	-	Все три вида
SA1R-Pb	ttgtccctataactaagggtcac	415	<i>P. cf. bedriagae</i>
SA1R-Pl	taccgtaccgatatttgtatgc	109	<i>P. lessonae</i>
SA1R-Pr	gatacaaatgatactccacct	210	<i>P. ridibundus</i>
SA1F-Pu	ccatacaaatgtgctaagtaggtt	-	Все три вида

Аллели яДНК обозначали первой латинской буквой соответствующего вида: R_n – *P. ridibundus* («западная» форма озерной лягушки), B_n – *P. cf. bedriagae* («восточная» форма озерной лягушки), L_n – *P. lessonae* (прудовая лягушка). Аналогично отмечали гаплотипы мтДНК R_{mt} – *P. ridibundus* («западная» форма озерной лягушки), B_{mt} – *P. cf. bedriagae* («восточная» форма озерной лягушки), L_{mt} – *P. lessonae* (прудовая лягушка). Комбинации генетических маркеров записаны в тексте по схеме мтДНК/яДНК (пример, R_{mt}/B_nB_n – гаплотип «западной» формы *P. ridibundus* / аллели гомозиготной особи «восточной» формы *P. cf. bedriagae*).

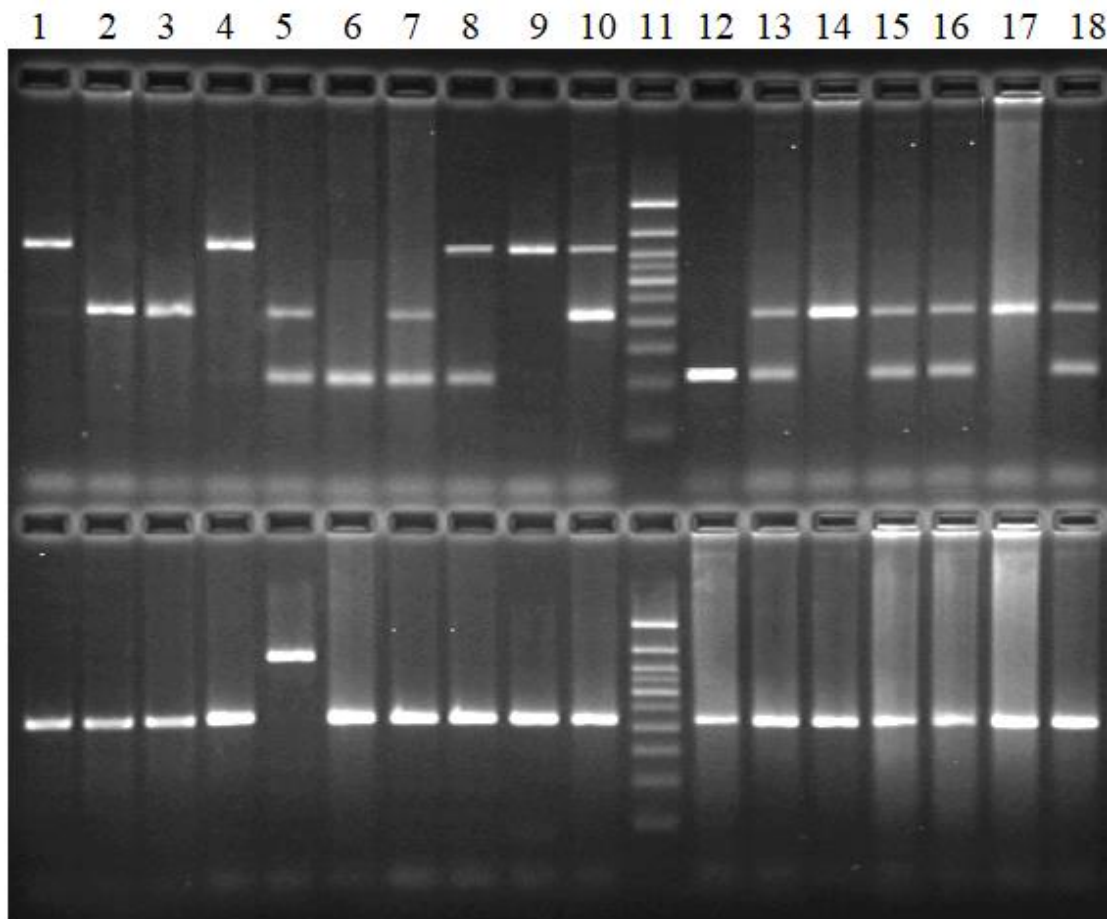


Рис. 3.5. Фрагмент электрофореграммы мультимплексной ПЦР генов. Ряд №1: *SAI-1* яДНК. Лунки 1, 4 – *Pelophylax cf. bedriagae* («восточная» форма озерной лягушки); 2, 3, 14, 17 – *P. ridibundus* («западная» форма озерной лягушки); 5, 7, 13, 15, 16, 18 – *P. Esculentus* (родительские виды *P. lessonae* и *P. ridibundus* («западная» форма)); 8 – *P. esculentus* родительские виды *P. lessonae* и *P. cf. bedriagae* («восточная» форма)); 10 – гибридная форма *P. ridibundus* и *P. cf. bedriagae*; 11 – маркер длин ДНК 50+ bp; 12 – *Pelophylax lessonae* (прудовая лягушка). Ряд №2: *COI* мтДНК. Лунки 1–4, 6–10, 12–18 гаплотипы *P. ridibundus*; 5 – гаплотип *P. cf. bedriagae*; 11 – маркер длин ДНК 50 + bp

Тип популяционной системы (ПС) обозначали по общепринятой классификации: R – «Чистые» популяции криптических форм *P. ridibundus*; RE – «смешанные» системы из криптических форм *P. ridibundus* и *P. esculentus*; REL – «смешанные» популяционные системы трех видов (Uzzell, Berger, 1975; Lada et al., 1995; Ручин и др., 2005; Лада, 2012; Свинин, 2015).

Микросателлитный анализ ДНК

Анализ изменчивости ДНК проводили методом мультиплексной (мультипраймерной) полимеразной цепной реакции SSR-PCR (Simple Sequence Repeats). Для проведения амплификации использовали набор «ПЦР-Комплект» (Синтол, Россия). Пробы подготавливали из расчета на одну пробирку следующим образом: 2,5 × Реакционная смесь (ПЦР буфер Б (KCl, TrisHCl (pH 8.8), 6,25 mM MgCl₂), SynTaq ДНК-полимераза – 5 Е/мкл, dNTP – 2,5 mM, глицерол, Tween 20) – 8 мкл; MgCl₂ 25 mM – 0,5 мкл; деионизированная вода – 9,3 мкл, смесь праймеров 0,05 мкл (табл. 3.7) (Mikulíček, Pišút, 2012).

Праймеры были мечены тремя флуоресцентными красителями, детектируемыми в каналах *Blue* (FAM) (рис. 3.6), *Green* (R6G) (рис. 3.7), *Red* (ROX) (рис. 3.8) и подобраны с учетом проведения амплификации всех 7-ми локусов в одной пробирке. Стандарт длины СД 450 (Синтол, Россия) был мечен четвертым, флуоресцентным красителем и детектировался в отдельном канале *Orange* одновременно с продуктами ПЦР.

ПЦР-амплификацию проводили в ДНК-амплификаторе Veriti, Thermo FS. Параметры ПЦР: 94 °C – 3 мин.; 98 °C – 30 сек.; 59 °C – 120 сек., 72 °C – 90 сек., 4 цикла; 94 °C – 30 сек., 59 °C – 120 сек., 72 °C – 90 сек., 6 циклов; 90 °C – 30 сек., 59 °C – 120 сек., 72 °C – 75 сек., 20 циклов; 68 °C – 30 мин.

При этом скорость нагрева с 59 °C до 72 °C составляла не более 0,3 °C/1 сек. После амплификации к 1 мкл ПЦР-продукта добавляли 9 мкл формамида Hi-DiTM и 0,5 мкл раствора размерного стандарта СД 450.

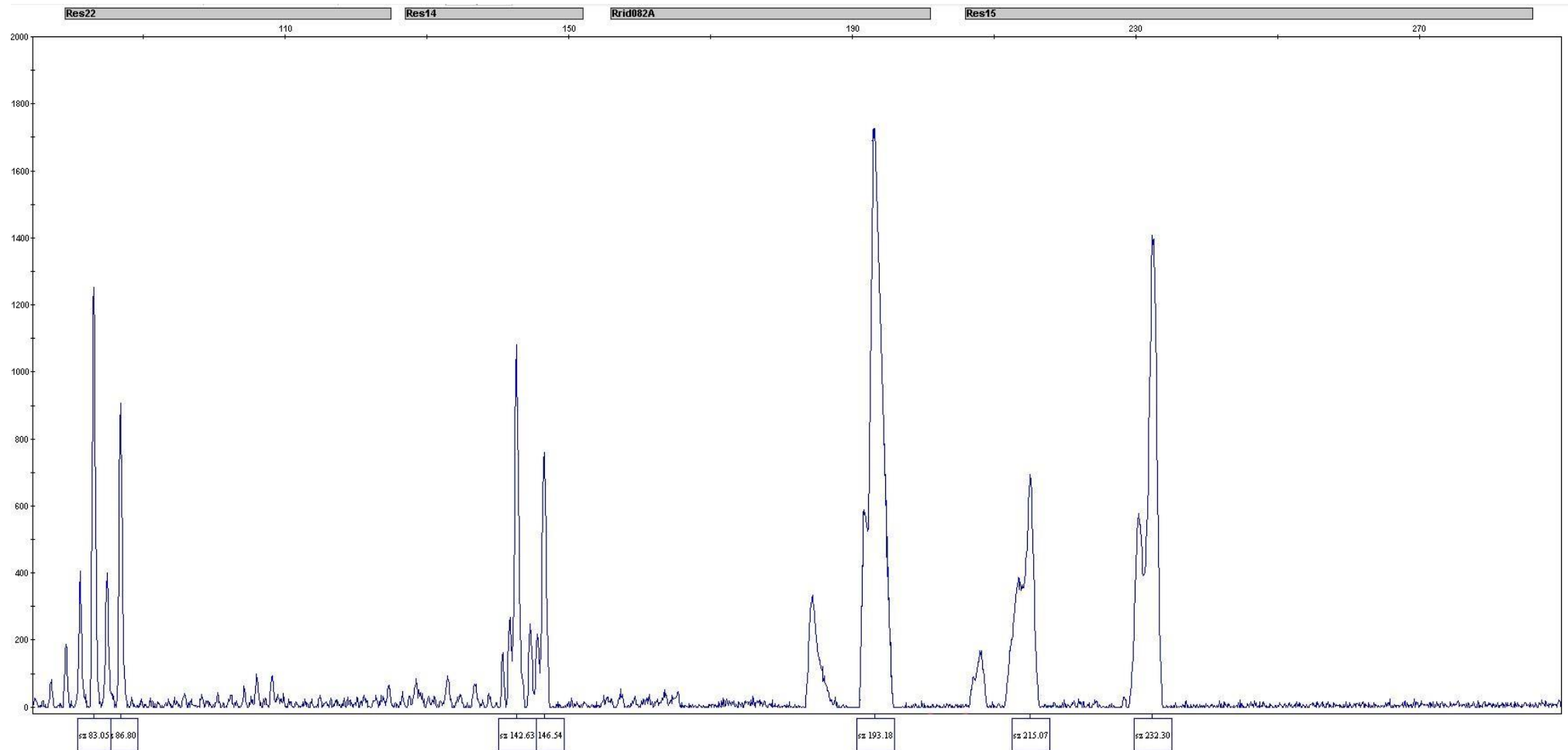


Рис. 3.6. Электрофореграмма мультиплексной ПЦР (флуоресцентный краситель – FAM).

Генотипы: Res 22 (83/87); Res 14 (143/147); Rrid082A (193/193); Res 15 (215/233)

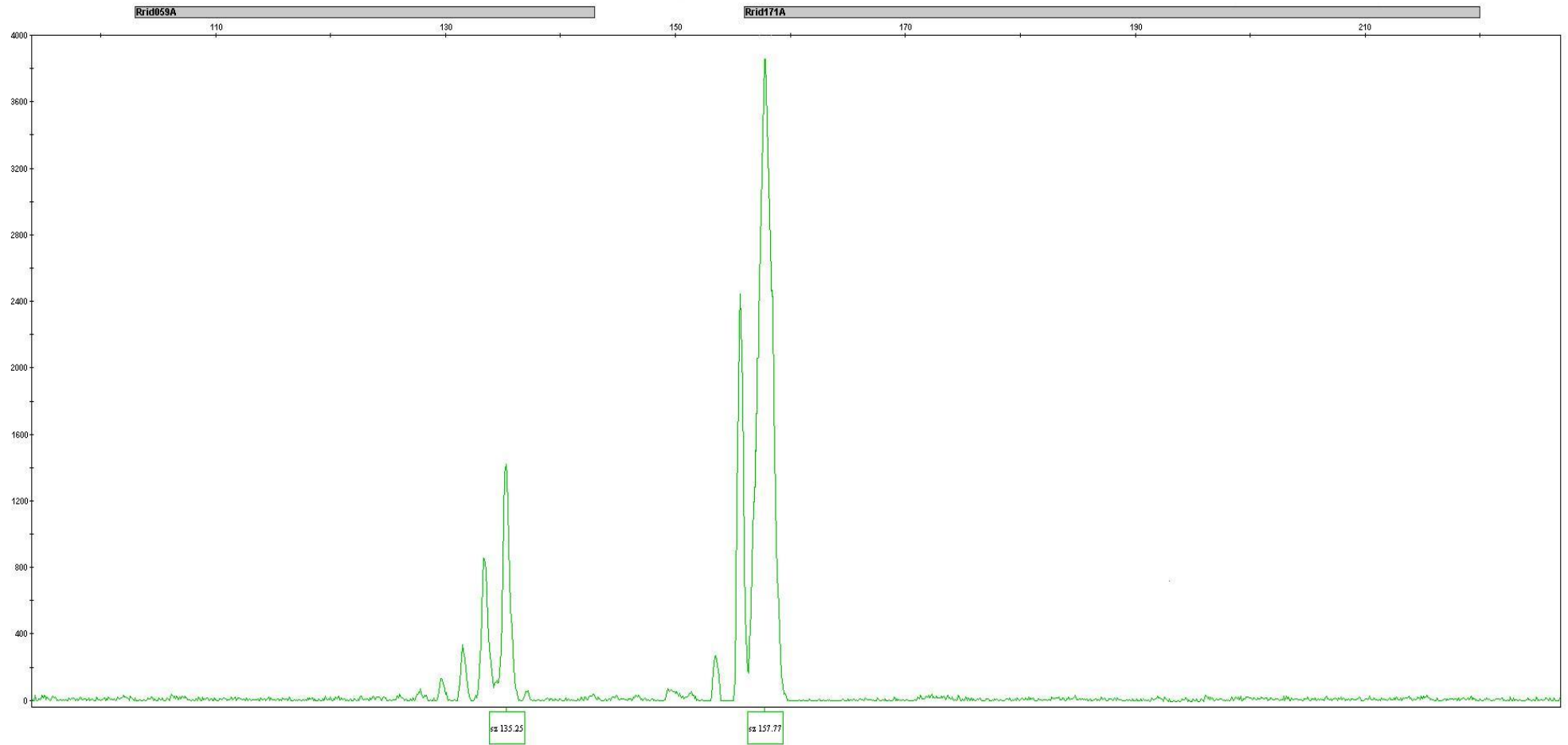


Рис. 3.7. Электрофореграмма мультиплексной ПЦР (флуоресцентный краситель – R6G.

Генотипы: Rrid059A (135/135); Rrid171A (157/157)

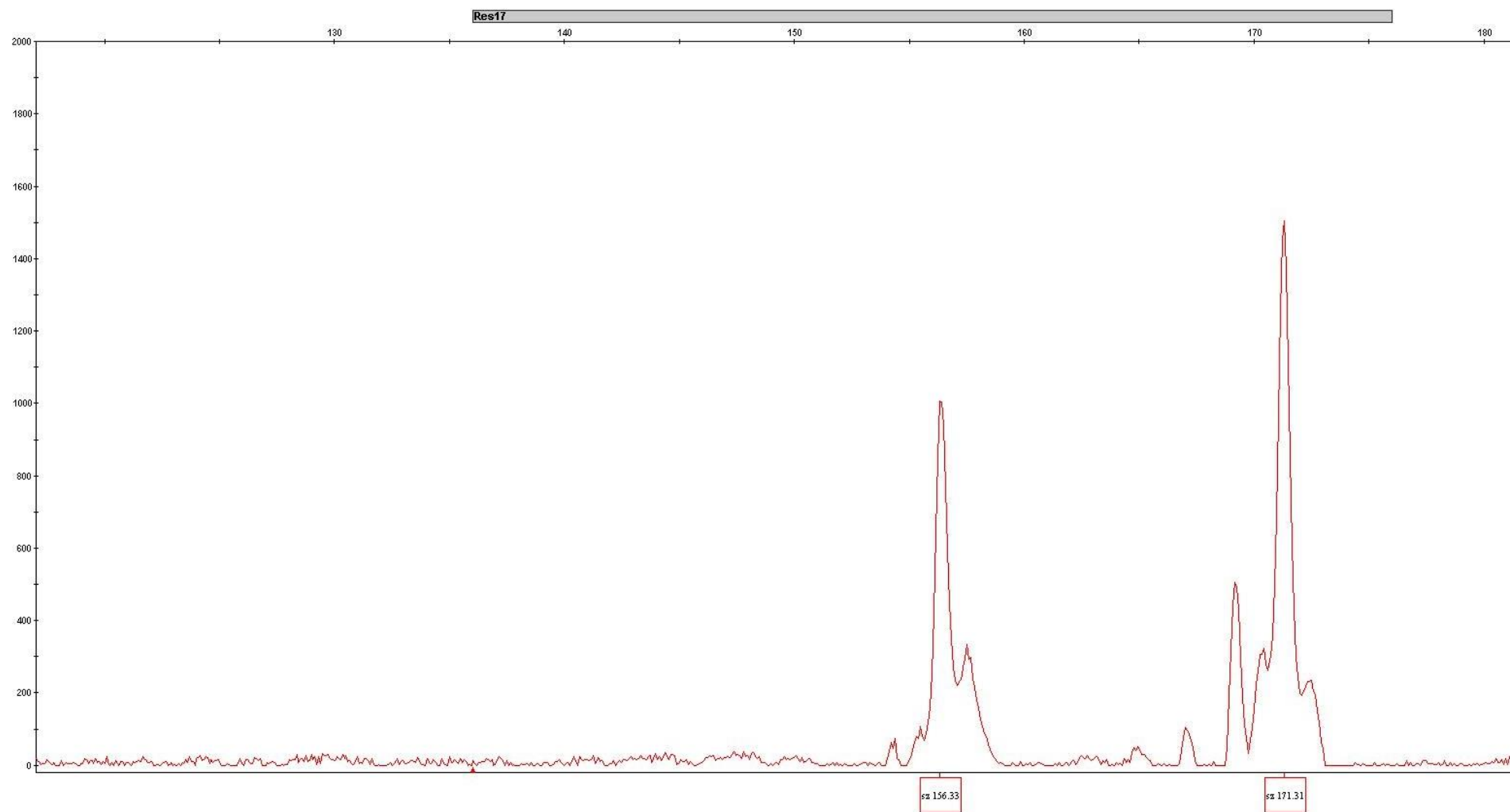


Рис. 3.8. Электрофореграмма мультиплексной ПЦР (флуоресцентный краситель – Rox).

Генотипы: Res17 (156/172)

Характеристика микросателлитных локусов

№	Локус	Последовательность прямого и обратного праймера (5' - 3')	Флуоресцентный краситель	Диапазон размеров аллелей (п.н)	Количество выявленных аллелей
1	Res14	F: gcctagccagcacaatg R: ctaaacagtatgggaggtcag	FAM	127 – 152	13
2	Res15	F: ttttattgctaactgcctgctgtg R: cagcccctctggtacacct	FAM	206 – 286	41
3	Res17	F: ctgtgctggctgggttattgta R: catcgggtctgtctatctatccac	ROX	136 – 176	21
4	Res22	F: atacagggcttagtgaaatgaa R: aaggggttaaaggtgtgactat	FAM	81 – 125	22
5	Rrid059A	F: tgtaccctcatcgctagag R: cccatacatattgttggtcc	R6G	103 – 143	21
6	Rrid082A	F: caatttccataccaaccttc R: actctgggaccttgattcc	FAM	156 – 201	23
7	Rrid171A	F: tgacttgccagcatttctg R: aatgccaggaagattcacc	R6G	156 – 220	34

Фрагментный анализ ПЦР-продуктов был проведен на автоматическом капиллярном ДНК-секвенаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США), при этом использовались капилляры длиной 50 см и полимерную матрицу POP-7TM. Анализ размера фрагментов проводился с помощью программного обеспечения GeneMapper R Software v 4.1 (Applied Biosystems, США).

3.2.3. Метод гель-электрофореза изолированных клеток (Метод ДНК-комет)

Для проведения эксперимента, в каждой анализируемой группе отобрали по 5 особей. В качестве анализируемого органа выбрали печень. Данный орган является основным органом биотрансформации ксенобиотиков и обладает высокой чувствительностью к генотоксикантам (Дурнев, 2006). 150–200 мг ткани гомогенизировали на льду в 3 мл охлажденного до +4° С фосфатно-солевого буфера (рН 7.5), содержащего 20 mM EDTA-Na₂ и 10% ДМСО (ФСБ+). Пробирки выдерживали 5 минут при комнатной температуре для осаждения крупных фрагментов, затем 1,5 мл

клеточной суспензии перенесли в чистые пробирки и центрифугировали 1000 g в течение 10 минут. Супернатант удалили, осадок клеток развели в 1 мл охлажденного буфера. После центрифугирования 60 мкл клеточной суспензии помещали в 1%-й раствор легкоплавкой агарозы ($T_{пл} < 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) в фосфатно-солевом буфере и наносили на гель-слайды, представляющие собой стекла предварительно выдержанные в смеси Никифорова и нанесенной на нее тонким слоем агарозы. Дальнейшие манипуляции проводили в затемненном помещении. Препараты залили охлажденным до $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ лизирующим раствором и поместили в холодильник. Лизис проводили 2 часа. Электрофорез проводили в горизонтальной камере в трис-ЭДТА-боратном буфере. Электрофорез проводили в течение 20 минут, напряжение подбирали из расчета 1В/1 см. По окончании электрофореза препараты фиксировали 70%-м этанолом в течение 15 минут. Окрашивание препаратов проводили в водном растворе SYBR Green, разведенном в соотношении 1:10000. Окрашенные препараты анализировали на люминесцентном тринокулярном микроскопе МИКМЕД-2. На каждом препарате проанализировали не менее 100 клеток. В зависимости от типа степени разрушения ДНК ядра подразделяли на 5 типов (рис. 3.9). Отдельно регистрировали клетки, находящиеся в состоянии апаптоза.

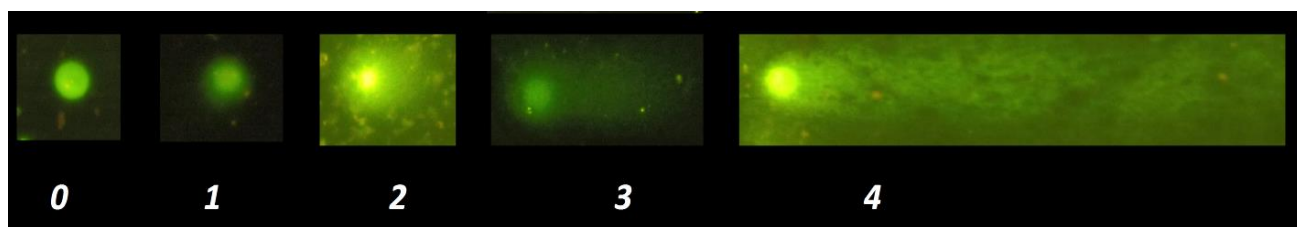


Рис. 3.9. Стадии разрушения клеток: 0 – неразрушенная клетка; 1 – первая стадия; 2 – вторая стадия; 3 – третья стадия; 4 – четвертая стадия (Фото из: Популяционная структура адвентивного вида *Helix Pomatia* L. в условиях юго-восточной части ареала (Артемчук, 2018, С. 83))

3.3. Статистическая обработка данных

Полученные при проведении исследования результаты обрабатывали стандартными методами вариационной статистики с использованием пакета программ PAST V.3.1, GenAlEx v.6.5 (Peakall, Smouse, 2006), divMigrate (Sundqvist et al., 2016), NeEstimator.2 (Do et al., 2014).

Сходство популяций по фенотипическим признакам (r) оценивали по формулам, предложенным Л. А. Животовским (1979, 1991):

$$r = \sum_{i=1}^m \sqrt{p_i q_i},$$

$$\mu = (\sqrt{q_1} + \sqrt{q_2} + \dots + \sqrt{q_m})^2,$$

$$S_m = \sqrt{\mu(m - \mu) / N},$$

$$h = 1 - (\mu / m), S_h = \sqrt{h_\mu(1 - h_\mu) / N},$$

где p и q – частота i -морфы в сравниваемых популяциях, μ – среднее число морф, h – частота редких морф, S_m S_h – ошибки соответствующих показателей μ и h ; q_1, q_2, q_m – частоты соответствующих морф (m), N – объем выборки.

Относительный вес органов рассчитывали по формуле (Мисюра, Залипуха, 2006):

$$C = P1 / P0 \times 1000,$$

где C – относительный вес органов в промилле, $P1$ – масса органа, $P0$ – масса тела.

Для обработки данных метода гель-электрофореза изолированных клеток (Метод ДНК-комет) используется индекс «ДНК-комет», который рассчитывается по формуле:

$$\text{ИДК} = \frac{(0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4)}{\Sigma},$$

где n_0 – n_4 – число «ДНК-комет» каждого типа, Σ – сумма подсчитанных «ДНК-комет».

ГЛАВА 4. ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ *PELOPHYLAX ESCULENTUS* COMPLEX В УСЛОВИЯХ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЛАНДШАФТОВ ЮГА СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ

На первом этапе изучения популяционной структуры *Pelophylax esculentus* complex мы провели видовую идентификацию представителей комплекса. Как правило, родительские виды хорошо идентифицируются по внешним морфологическим признакам, но часто гибридные особи проявляют схожесть с одним из родительских видов, что затрудняет определение их видовой принадлежности. Кроме того, внешние морфологические признаки не позволяют выявить криптические формы озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex).

Результаты молекулярно-генетического анализа видового состава комплекса представлены в таблице 4.1 и распределение частот аллелей и гаплотипов в таблице 4.2.

Согласно полученным данным молекулярно-генетического анализа в районе исследования преобладают (58,33%) «чистые» популяции R-типа (представлены только «восточной» и «западной» формами *P. ridibundus*).

Смешанные популяционные системы RE-типа выявлены в 14 локалитетах, при этом 11 из них приходятся на бассейн реки Северский Донец. Стоит отметить, что в указанном бассейне доля гибридных особей может достигать до 83% от общего объема выборки (например, пункт № 6 «Устье»). Большое количество особей *P. esculentus* обусловлено уникальным образованием, которое известно как Северско-Донецкий центр разнообразия *Pelophylax esculentus* complex, в котором были открыты «чистые» популяционные системы E-типа, а также многочисленные триплоидные особи с генотипами LLR и LRR (Borkin et al, 2004). Единичные особи съедобной лягушки встречаются в Днепровском бассейне (№ 12 «Готово»; № 31 «Ворскла»; № 32 «Ракита»; № 33 «Пена»). Смешанная система REL-типа на территории региона крайне редка и отмечена только в локалитете

№ 31 Ворскла. Чистых популяций L-типа, E-типа, а также смешанных популяционных систем LE-типа в регионе исследования не выявлены.

Соотношение частот аллелей «восточной» и «западной» форм озерных лягушек практически одинаково и статистически не значимо (табл. 4.2). Однако в случае мтДНК наблюдается преобладание гаплотипа «западной» формы (*P. ridibundus*) в 6 раз ($R_{mt} - 85\%$; $B_{mt} - 15\%$). Различия распределения частот аллелей маркеров яДНК и мтДНК статистически значимы ($\chi^2 = 24,38$; $p < 0,001$), что согласуется с опубликованными данными восточной части ареала озерной лягушки (Ермаков и др., 2014; Замалетдинов и др., 2015; Файзулин и др., 2017; Файзулин и др., 2018; Иванов, 2019). При этом в изучаемых популяциях отсутствуют гаплотипы прудовой лягушки (*P. lessonae*).

У озерной лягушки были обнаружены все шесть возможных комбинаций маркеров мтДНК и яДНК: R_{mt}/R_nR_n (29,34%); R_{mt}/R_nB_n (35,44%); R_{mt}/B_nB_n (12,21%); B_{mt}/R_nB_n (2,86%); B_{mt}/B_nB_n (8,55%); B_{mt}/R_nR_n (0,39%).

Для съедобной лягушки из шести теоретически возможных генетических вариантов (Иванов, 2019), мы диагностировали четыре: R_{mt}/R_nL_n (5,31%), B_{mt}/R_nL_n (0,25%), R_{mt}/B_nL_n (2,85%), B_{mt}/B_nL_n (2,71%).

Что касается прудовой лягушки (*P. lessonae*), то в ходе массового скрининга комплекса среднеевропейских зеленых лягушек была обнаружена только одна особь этого вида. При этом у данной особи отмечена интрогрессия митохондриальной ДНК восточной формы озерной лягушки (*P. cf. bedriagae*). Митохондриальная интрогрессия представляет собой процесс, происходящий в случае межвидовой гибридизации. Митохондрии одного вида на части ареала или на всем ареале замещают митохондрии другого вида (Куфтина и др., 2019). С другой стороны, данная особь могла быть продуктом «гибридолиза», процесса при котором гибриды производят родительские особи (Günther, Plötner, 1988; Plötner, 2005).

Таблица 4.1

Распределение генетических вариантов яДНК и мтДНК в популяциях
Pelophylax esculentus complex юга Среднерусской возвышенности

Локалитет	Тип	SAI1 яДНК						COI мтДНК	
		RR	RB	RL	BB	BL	L	R	B
1. С. Донец	RE	3	6	1	7	2	0	17	2
2. Везелка	R	9	2	0	9	0	0	8	12
3. Оскочное	RE	2	3	3	9	3	0	16	4
4. Ячневский	RE	2	7	2	4	1	0	14	2
5. Дубовое	RE	1	1	5	0	11	0	16	2
6. Устье	RE	1	5	6	2	12	0	24	2
7. Майский	RE	3	6	4	3	0	0	17	0
8. Северный	RE	4	8	3	4	3	0	17	5
9. Шопино	RE	2	6	4	7	4	0	21	2
10. Нежеголь	RE	4	8	1	7	2	0	20	2
11. Графовка	R	2	9	0	6	0	0	12	5
12. Глотова	RE	6	6	8	4	1	0	22	3
13. Плотва	R	4	7	0	2	0	0	13	0
14. Сазон	R	6	11	0	3	0	0	16	4
15. Оскол 1	R	17	3	0	2	0	0	16	6
16. Волчья	R	7	7	0	4	0	0	17	1
17. Губкин	R	16	35	0	9	0	0	53	7
18. Орлик	R	6	14	0	5	0	0	22	3
19. Ольшанка	R	8	4	0	2	0	0	13	1
20. Халань	R	15	14	0	5	0	0	23	11
21. Беленькая	R	10	10	0	4	0	0	22	2
22. Оскол	R	5	9	0	4	0	0	14	4
23. Чуфичка	R	6	8	0	1	0	0	12	3
24. Корень	RE	4	8	3	4	0	0	12	7
25. Короча	RE	2	5	0	7	0	0	13	1
26. Сейм	R	9	7	0	1	0	0	14	3
27. Т. Сосна	R	4	9	0	9	0	0	21	1
28. Валуй	R	12	9	0	3	0	0	22	2
29. Г. Дунай	R	5	10	0	6	0	0	21	0
30. Айдар	R	20	13	0	0	0	0	28	5
31. Ворскла	REL	3	2	0	11	2	1	9	10
32. Ракита	RE	4	11	1	5	0	0	20	1
33. Пена	RE	7	10	2	7	1	0	25	2
34. Полная	R	14	7	0	1	0	0	22	0
35. Белая	R	0	9	0	3	0	0	12	0
36. Дон	R	6	6	0	0	0	0	12	0

Примечание: ПС – тип популяционной системы; R – аллели и гаплотипы «западной» формы озерной лягушки; B – аллели и гаплотипы «восточной» формы L – аллели прудовой лягушки (гаплотипы прудовой лягушки в регионе исследования отсутствуют).

Частоты аллелей яДНК и гаплотипы мтДНК в популяциях

P. esculentus complex

Локалитет	n	SAI-1 яДНК			COI мтДНК	
		R	B	L	R	B
1. С. Донец	19	0,342	0,579	0,079	0,895	0,105
2. Везелка	20	0,500	0,500	0,000	0,400	0,600
3. Оскочное	20	0,250	0,600	0,150	0,800	0,200
4. Ячевский	16	0,406	0,500	0,094	0,875	0,125
5. Дубовое	18	0,222	0,333	0,444	0,944	0,056
6. Устье	26	0,250	0,404	0,346	0,923	0,077
7. Майский	16	0,500	0,375	0,125	1,000	0,000
8. Северный	22	0,432	0,432	0,136	0,773	0,227
9. Шопино	23	0,304	0,522	0,174	0,913	0,087
10. Нежеголь	22	0,386	0,545	0,068	0,909	0,091
11. Графовка	17	0,382	0,618	0,000	0,706	0,294
12. Глотова	25	0,520	0,300	0,180	0,880	0,120
13. Плотва	13	0,577	0,423	0	1,000	0,000
14. Сазон	20	0,575	0,425	0	0,800	0,200
15. Оскол 1	22	0,841	0,159	0	0,727	0,273
16. Волчья	18	0,583	0,417	0	0,944	0,056
17. Губкин	60	0,558	0,442	0	0,883	0,117
18. Орлик	25	0,520	0,480	0	0,880	0,120
19. Ольшанка	14	0,714	0,286	0	0,929	0,071
20. Халань	34	0,647	0,353	0	0,676	0,324
21. Беленькая	24	0,625	0,375	0	0,917	0,083
22. Оскол	18	0,528	0,472	0	0,778	0,222
23. Чуфичка	15	0,667	0,333	0	0,800	0,200
24. Корень	19	0,500	0,421	0,079	0,632	0,368
25. Короча	14	0,321	0,643	0,036	0,929	0,071
26. Сейм	17	0,735	0,265	0	0,824	0,176
27. Т. Сосна	22	0,386	0,614	0	0,955	0,045
28. Валуй	24	0,688	0,313	0	0,917	0,083
29. Г. Дунай	21	0,476	0,524	0	1,000	0
30. Айдар	33	0,803	0,197	0	0,848	0,152
31. Ворскла	19	0,211	0,684	0,105	0,474	0,526
32. Ракита	21	0,476	0,500	0,024	0,952	0,048
33. Пена	27	0,481	0,463	0,056	0,926	0,074
34. Полная	22	0,795	0,205	0,000	1,000	0
35. Белая	12	0,375	0,583	0,042	1,000	0
36. Дон	12	0,750	0,250	0,000	1,000	0

Примечание: R – аллели и гаплотипы «западной» формы озерной лягушки; B – аллели и гаплотипы «восточной» формы L – аллели прудовой лягушки (гаплотипы прудовой лягушки в регионе исследования отсутствуют).

Передача митохондриальной ДНК известна для многих организмов (Bergthorsson et al., 2003; Croucher et al., 2004; Babik et al., 2005; Plötner et al., 2008). Естественную передачу митохондриальной ДНК от *P. lessonae* к *P. ridibundus* описали еще в 1984 году С. Spolsky и Т. Uzzell (Spolsky, Uzzell, 1984). Позже, J. Plötner и соавторы выявили, что более 30% озерных лягушек в Центральной Европе имеют чужеродную мтДНК прудовой лягушки (*P. lessonae*) (Plötner et al., 2008). При этом первый случай обратного переноса был обнаружен совсем недавно в национальном парке «Смольный» (Республика Мордовия, Россия) (Ivanov et al., 2019). В обоих случаях гибридогенная *P. esculentus* является средством однонаправленного переноса мтДНК (Plötner et al., 2008; Ivanov et al., 2019).

Установлено, что популяции, состоящие из гибридных или интрогрессивных особей, перекрывают ниши «чистых» популяций зеленых лягушек, а также способствуют селективному преимуществу при обитании в условиях антропогенного пресса, что может свидетельствовать о воздействии естественного отбора (Ballard, Whitlock, 2004; Иванов, 2019; Вершинин и др., 2019).

Диагностированная нами митохондриальная интрогрессия восточной формы озерной лягушки у единственной выявленной особи прудовой лягушки свидетельствует об активной экспансии *Pelophylax ridibundus* complex. Криптические формы озерных лягушек и гибридогенная съедобная лягушка, обладая большей экологической пластичностью и резистентностью к антропогенному прессу, вытесняют *P. lessonae*. В большинстве случаев гибридизация в природных популяциях может свидетельствовать об ухудшении состояния окружающей среды, как правило, вызванная деградацией биотопов (Mallet, 2005).

Известно, что зеленые лягушки населяют различные биотопы (Лада, 1995; Кузьмин, 2012). Так, например, прудовая лягушка предпочитает малые лесные водоемы, в то время как озерная, как правило, встречается в крупных

открытых водоемах (Plötner, 2005; Berger, 2008; Ручин и др., 2009; Кузьмин, 2012). Однако трансформация естественных биотопов приводит к синтопии *Pelophylax esculentus* complex (Лада, 2012). Негативное влияние на популяции *P. lessonae* заключается и в значительном сокращении лесных массивов, которое наблюдается в районе исследования. Прудовая лягушка предпочитает слабопроточные или стоячие водоемы крупных лесных массивов, площадь которых в области составляет в среднем 8,9% от всей территории Белгородской области (Дегтярь и др., 2016).

По данным многолетних наблюдений Г. А. Лады (2021) на территории Русской равнины происходит изменение популяционных систем среднеевропейских зеленых лягушек от LE-типа к REL-типу, а также от E-типа к RE-типу. Изменение типов популяционных систем является следствием активных миграций (см. гл. 6).

Миграции среднеевропейских зеленых лягушек в регионе исследования обусловлены как воздействием антропогенных факторов, к которым можно отнести разрушение естественных биотопов, создание искусственных водоемов, мелиорацию земель, интродукцию, так и абиотическими факторами среды, а именно аридизацией климата. Аридизация климата приводит к временному (сезонному) или постоянному пересыханию водоема. Деградация водных объектов в районе исследования (рис. 4.1) вынуждает земноводных мигрировать в новые нерестовые водоемы. Слабо выраженный «репродуктивный консерватизм» позволяет данной группе особенно в маловодные годы нереститься в соседних водоемах, образовывая метапопуляции (Ермохин и др., 2017), в которых и осуществляется гибридизация, при этом происходит вытеснение популяций *P. lessonae*. На рисунке 4.2 представлено фото биотопа (пункт №11 «Графовка»), характерного для обитания популяций прудовой лягушки.



Рис. 4.1. Пересохший водоем, Красногвардейский район,
Белгородская область



Рис. 4.2. Озеро Банное, пункт №11 «Графовка»

Однако по данным молекулярно-генетического анализа (табл. 4.1) в указанном локалитете обитают только криптические формы озерной лягушки.

Необходимо подчеркнуть, что в связи с аридизацией климата, а также разрушением местообитаний на изучаемой территории под угрозой исчезновения уже находятся два вида земноводных: серая жаба (*Bufo bufo* Linnaeus, 1758); травяная лягушка (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758). И один вероятно вымерший вид: восточная квакша (*Hyla orientalis* Bedriaga, 1890) (Красная книга ..., 2019).

Таким образом, отсутствие в регионе исследования не интрогрессивных особей *P. lessonae* является следствием изменения популяционных систем комплекса средневропейских зеленых лягушек в сторону преобладания генома *P. ridibundus*, который является более устойчивым и к мутагенной нагрузке (см. гл. 7). Кроме того, значительное влияние на изменение видового состава комплекса оказывает пересыхание водоемов, вызванное влиянием антропогенных (техногенных) или абиотических факторов (аридизации) вынуждает земноводных мигрировать в другие водоемы, о чем свидетельствуют данные по генетической структуре, приведенные в главе 6.

На основании вышеизложенного необходимы дальнейшие исследования по поиску «генетически чистых» популяций *P. lessonae*, а также с целью сохранения популяций прудовой лягушки считаем необходимостью включить *P. lessonae* в региональную Красную книгу Белгородской области с присвоением 4 категории статуса редкости – виды редко встречающиеся, но с неопределенной категорией (недостаточно данных).

ГЛАВА 5. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСА ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК В УСЛОВИЯХ ЮГА СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ

Известно, что морфологические параметры организма обусловлены не только генетическими факторами, но и многочисленными факторами окружающей среды. При этом, абиотические и биотические факторы, оказывая комплексное воздействие, могут приводить к увеличению или уменьшению темпов роста и развития на каждом жизненном этапе земноводного (Morrison, Hero, 2003). В связи с этим, анализ морфологической изменчивости представляет собой один из важнейших параметров оценки популяций зеленых лягушек.

Морфологические признаки, даже у далеких в систематическом отношении организмов, в условиях антропогенного пресса формируются общие структурно-функциональные особенности на популяционном уровне. Данные изменения касаются морфометрических и морфофизиологических признаков, а также фенотипической изменчивости и других показателей (Вершинин, 2007).

5.1. Морфометрическая изменчивость криптоических форм *P. ridibundus*

В связи с тем, что в общей выборке присутствует малое количество половозрелых особей съедобной лягушки (*P. esculentus*) и одна особь прудовой (*P. lessonae*), анализ морфологической изменчивости проводили только у озерной лягушки (*P. ridibundus*). Из-за того, что изучаемые локальные группы, обитающие в условиях одной реки, представляют собой единую панмиктическую популяцию (см. гл. 6), для получения репрезентативной выборки нами было принято решение объединить локалитеты в 6 групп (группы «Дон» и «Сейм» из-за малого количества половозрелых особей были исключены из анализа). Средние значения индексов морфометрических показателей представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1

Индексы метрических показателей *P. ridibundus* ($M \pm m$)

	Пол	N	L./Lt.c	L./F	L./T.	L./C.s	L./D.p	L./C.int	F./T.	T./C.int.l	D.p./C.int.l
Пена	♂	18	3,07 ± 0,05	2,09 ± 0,03	2,25 ± 0,07	3,55 ± 0,03	6,98 ± 0,14	18,43 ± 0,37	0,95 ± 0,01	8,91 ± 0,46	2,96 ± 0,12
	♀	26	3,12 ± 0,03	2,14 ± 0,03	2,09 ± 0,03	3,58 ± 0,07	6,85 ± 0,24	20,66 ± 0,63	0,94 ± 0,01	9,22 ± 0,53	3,2 ± 0,24
Ворскла	♂	13	3,04 ± 0,05	2,11 ± 0,03	2,18 ± 0,07	3,57 ± 0,04	7,05 ± 0,14	20,54 ± 0,89	0,93 ± 0,02	9,61 ± 0,59	3,05 ± 0,14
	♀	14	3,11 ± 0,04	2,13 ± 0,04	2,09 ± 0,03	3,46 ± 0,09	6,81 ± 0,53	20,63 ± 0,86	0,95 ± 0,1	9,07 ± 0,69	3,05 ± 0,18
С. Донец	♂	57	2,95 ± 0,04	3,39 ± 0,57	2,01 ± 0,04	3,41 ± 0,07	6,65 ± 0,24	21,51 ± 0,86	0,88 ± 0,03	11,48 ± 0,49	3,19 ± 0,07
	♀	61	2,88 ± 0,04	2,28 ± 0,15	2,15 ± 0,05	3,82 ± 0,1	7,28 ± 0,41	23,35 ± 0,75	0,87 ± 0,02	11,02 ± 0,34	3,05 ± 0,25
Оскол	♂	76	2,97 ± 0,05	2,19 ± 0,02	1,98 ± 0,02	3,39 ± 0,08	7,35 ± 0,12	19,87 ± 0,41	0,91 ± 0,01	10,11 ± 0,21	2,84 ± 0,06
	♀	95	3,18 ± 0,09	2,18 ± 0,03	1,95 ± 0,03	3,39 ± 0,08	7,23 ± 0,15	20,25 ± 0,38	0,9 ± 0,01	10,46 ± 0,2	2,88 ± 0,07
Айдар	♂	37	3,22 ± 0,05	2,24 ± 0,03	1,95 ± 0,02	2,91 ± 0,13	8,06 ± 0,23	19,97 ± 0,58	0,87 ± 0,01	10,02 ± 0,32	2,68 ± 0,09
	♀	19	3,22 ± 0,11	2,21 ± 0,05	1,94 ± 0,03	3,17 ± 0,21	8,07 ± 0,3	18,96 ± 0,71	0,89 ± 0,01	9,83 ± 0,35	2,82 ± 0,13
Т. Сосна	♂	10	3,37 ± 0,09	2,33 ± 0,04	2,04 ± 0,03	2,96 ± 0,16	8,21 ± 0,23	19,72 ± 0,72	0,88 ± 0,02	9,69 ± 0,38	2,84 ± 0,15
	♀	10	3,54 ± 0,11	2,36 ± 0,05	2,12 ± 0,04	3,05 ± 0,23	8,62 ± 0,26	20,31 ± 0,76	0,9 ± 0,02	9,61 ± 0,41	2,84 ± 0,21

Учитывая тот факт, что у зеленых лягушек половой диморфизм подвержен географической изменчивости (Лада, 2012; Свинин, 2015), анализ морфологической изменчивости для самцов и самок проводили отдельно.

Проведенный однофакторный дисперсионный анализ на основе Н-критерия Краскела-Уоллиса морфометрических индексов выявил достоверные отличия по всем индексам за исключением признаков L./C.int у самцов и L./F., D.p./C.int.l. у самок (табл. 5.2 и табл. 5.3).

Проведенный кластерный анализ выявил неоднозначную картину. Географически близкие локалитеты оказываются в разных кладах. Например, самцы из близко расположенных популяций «Пена» и «Ворскла» по результатам анализа расположились в разных кладах, в то время как отдаленные реки «Айдар» и «Тихая Сосна» образуют одну кладу (рис. 5.1). Подобное распределение наблюдается и у самок (рис. 5.2).

Таблица 5.2

Результаты Н-критерия Краскела-Уоллиса
морфометрических индексов самцов *P. ridibundus*

Признак	Н-критерий Краскела-Уоллиса	Р
L./Lt.c	24,69	$2,6 \cdot 10^{-4}$ *
L./F.	20,97	$8,2 \cdot 10^{-4}$ *
L./T.	29,76	$1,6 \cdot 10^{-5}$ *
L./C.s	24	$2,1 \cdot 10^{-4}$ *
L./D.p	23,6	$2,6 \cdot 10^{-4}$ *
L./C.int	10,64	0,059
F./T.	42,12	$5,56 \cdot 10^{-8}$ *
T./C.int.l	16,09	0,007*
D.p./C.int.l	20,62	$6,2 \cdot 10^{-4}$ *

Примечание: здесь и в таблице 4.3. * – достоверные различия $p < 0,05$.

Таблица 5.3

Результаты Н-критерия Краскела-Уоллиса
морфометрических индексов самок *P. ridibundus*

Признак	H	P
L./Lt.c	42,04	$5,8 \cdot 10^{-8}$
L./F.	9,79	0,081
L./T.	31,68	$6,8 \cdot 10^{-6}$ *
L./C.s	20,35	0,001*
L./D.p	18,54	0,002*
L./C.int	19,4	0,002*
F./T.	20,59	0,001*
T./C.int.l	14,14	0,015*
D.p./C.int.l	5,928	0,307

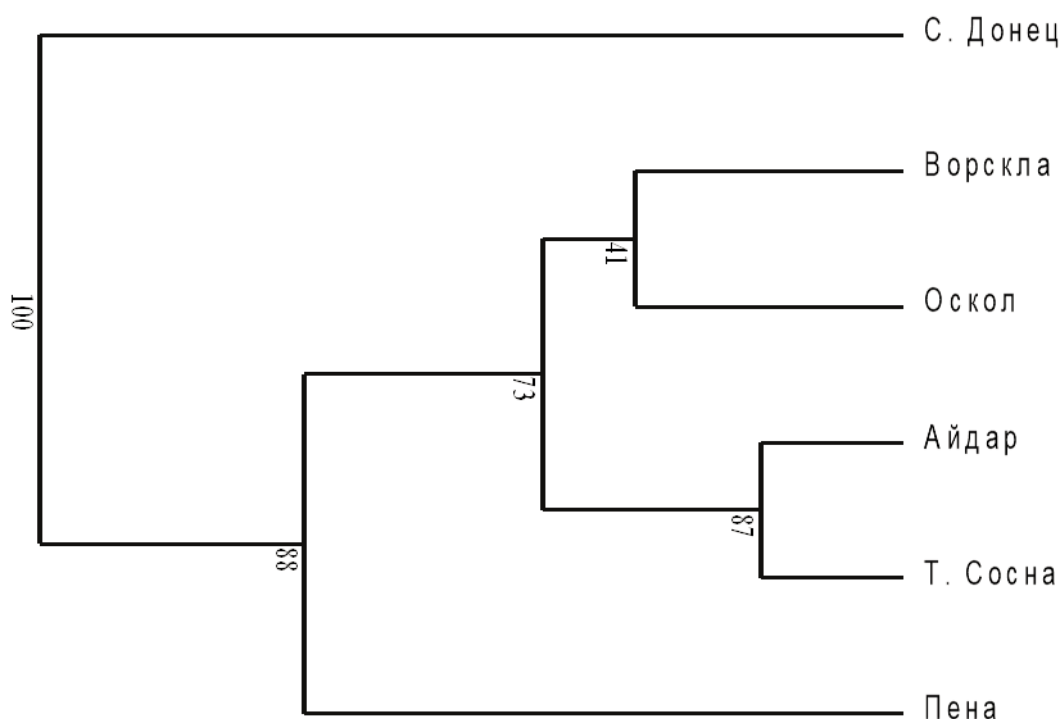


Рис. 5.1. Кластерный анализ морфометрических индексов самцов
(с числом бутстреп-реализаций 5000)

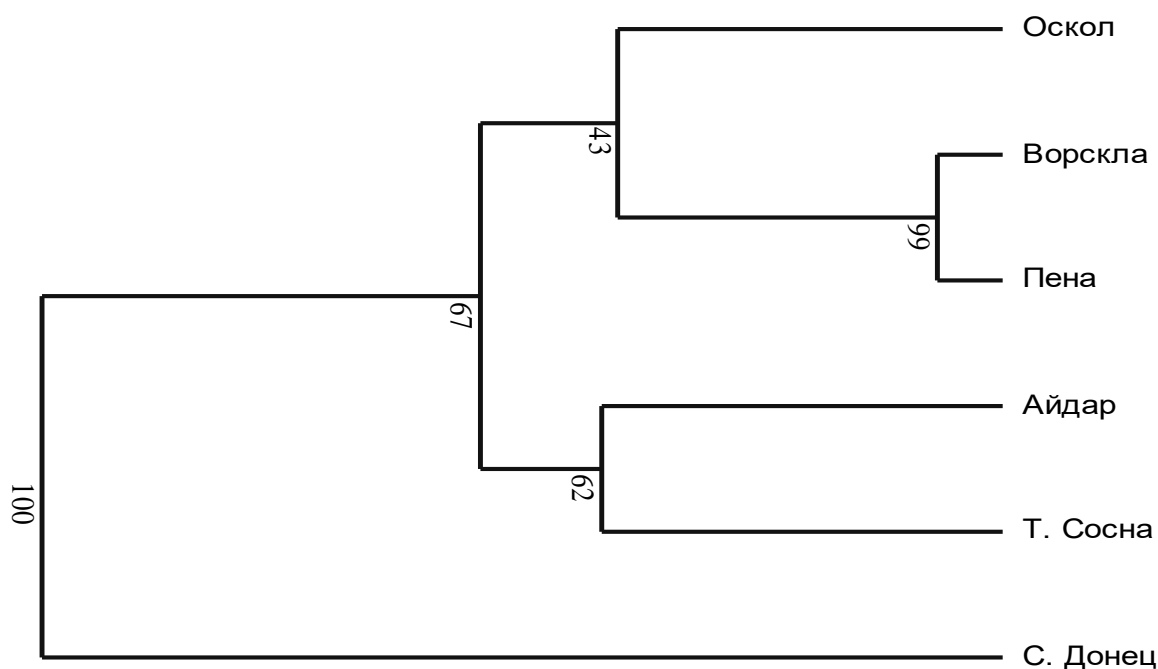


Рис. 5.2. Кластерный анализ морфометрических индексов самок
(с числом бутстреп-реализаций 5000)

Обращает на себя внимание тот факт, что в обоих случаях (среди самцов и самок) отдельный кластер образует популяция «Северский Донец». Примечательно, что по данным анализа изоферментов и микросателлитных маркеров ДНК также наблюдается обособление группы «Северский Донец» (см. гл. 6).

Как отмечает в своей работе Г. А. Лада (2012), географическая изменчивость метрических признаков часто не позволяет выявить какую-либо закономерность или направление изменчивости. При этом автор выделяет две группы факторов, которые оказывают влияние на характер географической изменчивости, а именно: «климатические», «биотические и биотопические». В первом случае (климатические факторы), характеризуются медленным и плавным изменением на большой территории, при котором наблюдается незначительная изменчивость. Во втором случае биотопические и биотические факторы оказывают ненаправленное локальное воздействие, что приводит к непредвиденной ответной реакции популяций

(Лада, 2012). К вышеизложенному стоит добавить и третий наиболее непредсказуемый фактор – антропогенный. В загрязненных водоемах отмечается изменение экстерьерных показателей бесхвостых земноводных (Спирина, 2007). Причем интересен тот факт, что по данным Т. Ю. Песковой (2001) годовалые особи *P. ridibundus* значительно крупнее в «чистом» водоеме, чем их сородичи в «загрязненном». Однако по данным других исследователей (Вершинин, 1995), на загрязненных территориях наоборот преобладают особи более крупных размеров, что является следствием адаптивной реакции популяций.

Это мнение подтверждается и другими работами, где изменение размеров земноводных рассматривается как адаптация к биотопическим условиям (Спирина, 2007).

По результатам наших исследований, климатические факторы среды, вероятно, не оказывают значительного влияния на морфометрические показатели. В пользу данного заключения свидетельствует кластерный анализ, который выявил близость популяций по размерным характеристикам, обитающих в разных бассейнах и природно-территориальных комплексах района исследования (см. гл. 2). Например, группа из р. Ворскла (Днепровский бассейн) и р. Оскол (Донской бассейн).

Другим фактором, определяющим морфометрические различия между популяциями, могут быть их генетические особенности. Как уже было отмечено ранее, на территории исследования, озерная лягушка представлена двумя криптическими формами «восточная» и «западная». При этом имеются данные, что изменчивость метрических показателей может быть обусловлена совместным обитанием «восточной» и «западной» форм озерной лягушки (Закс, 2013). Полагаем, что дальнейшие исследования подтвердят это предположение.

5.2. Анализ фенотипической структуры популяций

Pelophylax esculentus complex

Известно, что распределение частот морф имеет важное значение при анализе фенотипического разнообразия популяций. В условиях антропогенной нагрузки отмечается значительное изменение фенотипического состава в популяциях бесхвостых земноводных, в частности зеленых лягушек (Зарипова и др., 2009; Кузовенко, 2018). Наше исследование подтверждает этот факт.

Результаты фенотипического анализа в популяциях *Pelophylax esculentus* complex представлены в таблице 5.4 и на рисунке 5.4. Согласно полученным результатам, наибольшее фенотипическое разнообразие отмечается в естественных или мало нарушенных биотопах. Например, наибольшее значение показателя внутривидового разнообразия (μ) отмечено в популяции №14 «Сазон» ($6,815 \pm 0,251$). Сходный уровень фенотипического разнообразия зафиксирован в группах №30 «Айдар» ($6,527 \pm 0,306$); №29 «Голубой Дунай» ($6,430 \pm 0,418$); №20 «Халань» ($6,429 \pm 0,328$); №28 «Валуй» ($6,342 \pm 0,417$); №10 «Нежеголь» ($6,321 \pm 0,442$). Стоит отметить, что указанные группы относятся к Донскому бассейну. Наиболее мономорфными оказались популяции, обитающие на урбанизированных ландшафтах: №4 «Ячневский» ($2,494 \pm 0,838$); №3 «Оскочное» ($2,742 \pm 0,764$); №6 «Устье» ($2,848 \pm 0,674$); №2 «Везелка» ($2,914 \pm 0,077$); №1 «Северский Донец» ($3,419 \pm 0,803$). В данных популяциях присутствуют только особи со светлой дорсомедиальной полосой, которые имеют селективное преимущество в условиях загрязнения по сравнению с бесполосыми, что подтверждает работы по фенотипическому составу популяций бесхвостых земноводных (Вершинин, 1997; Никашин, 2007; Спирина, 2007).

Другим важным показателем фенотипического состояния популяции является доля редких морф (h). По данным, представленным в таблице 5.4,

видно, что с уменьшением фенотипического разнообразия (μ) при увеличении антропогенной нагрузки, пропорционально увеличивается доля редких морф (h), что в свою очередь может представлять собой ответную реакцию популяции на давление какого-либо нового фактора в стремительно меняющихся условиях под действием антропогенного пресса (Павлов, 1982; Вершинин, 2007).

Анализ главных компонент (РСА) попарного сравнения на основе фенотипического сходства (r) (рис. 5.4) показал схожесть большинства популяций. Однако при этом на первую и вторую компоненту приходится 5,88% и 4,35% от общей дисперсии, соответственно. Равномерное распределение дисперсии, представленное на рисунке 5.3, объясняется значительной фенотипической близостью изучаемых популяций, что может служить еще одним доказательством наличие единой панмиктической популяции в районе исследования ввиду активной миграции особей.

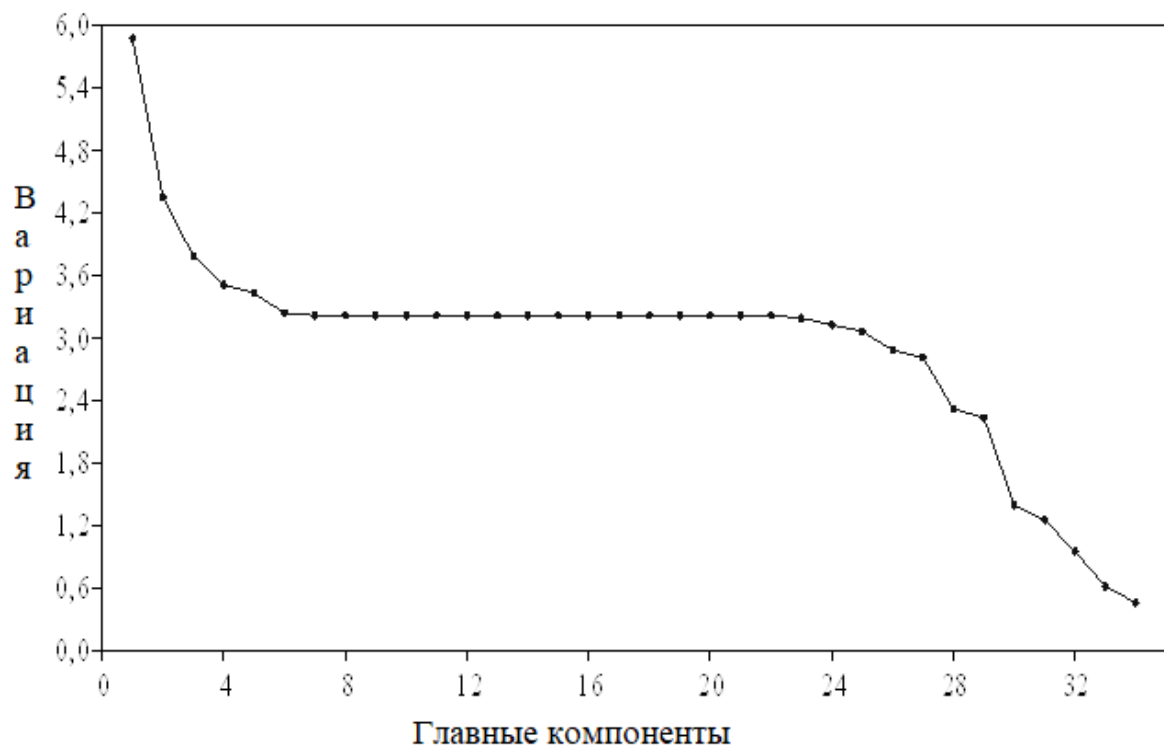


Рис. 5.3. Линейный график значений главных компонент

Таблица 5.4. Частоты фенотипов и показатели фенетического разнообразия в популяциях

Фенотипы	1. Сев. Донец	2. Везелка	3. Оскочное	4. Ячевский	5. Дубовое	6. Устье	7. Майский	8. Северный	9. Шопино	10. Нежеголь	11. Графовка	12. Глогово	13. Плотва	14. Сазон	15. Оскол I	16. Волчья	17. Губкин
S	0,368	0,25	0,5	0,25	0,222	0,346	0,312	0,091	0,087	0,182	0,176	0,2	0,077	0,1	0,182	0,278	0,3
M	0,11	0	0	0	0,111	0	0,25	0,227	0,217	0,182	0,176	0,16	0,231	0,15	0,091	0,111	0,117
P	0	0	0	0	0,111	0	0	0	0,087	0,136	0,117	0	0,077	0,15	0,045	0	0,033
B	0	0	0	0	0,167	0	0	0	0,043	0,091	0,117	0,08	0,077	0,1	0,091	0,111	0
SM	0,474	0,5	0,40	0,687	0,389	0,5	0,312	0,55	0,217	0,318	0,294	0,32	0,231	0,25	0,5	0,333	0,4
SP	0,053	0,25	0,1	0,063	0	0,154	0,125	0,136	0,347	0,045	0,12	0,16	0,23	0,15	0,091	0,111	0,13
SMP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,045	0,00	0,08	0,077	0,1	0	0,055	0
$\mu \pm S\mu$	3,419± 0,803	2,914± 0,077	2,742± 0,764	2,494± 0,838	4,708± 0,774	2,848± 0,674	3,887± 0,869	3,557± 0,746	5,385± 0,615	6,321± 0,442	5,815± 0,637	5,658± 0,551	6,505± 0,497	6,815± 0,251	5,068± 0,667	5,476± 0,681	4,283 ± 0,441
$h \pm Sh$	0,511± 0,115	0,584± 0,11	0,608± 0,109	0,644± 0,119	0,327± 0,111	0,593± 0,096	0,444± 0,124	0,492± 0,106	0,231± 0,088	0,097± 0,063	0,169± 0,091	0,192± 0,079	0,071± 0,071	0,026± 0,036	0,276± 0,095	0,218± 0,097	0,388 ± 0,063
N	19	20	20	16	18	26	16	22	23	22	17	25	13	20	22	18	60

Примечание: μ - показатель внутривидового разнообразия; $S\mu$ – ошибка показателя внутривидового разнообразия; h – показатель доли редких морф; Sh – ошибка показателя доли редких морф; N – число особей в выборке.

продолжение таблицы 5.4

Фенотипы	18. Орлик	19. Ольшанка	20. Халань	21. Беленькая	22. Оскол	23. Чуфичка	24. Корень	25. Короча	26. Сейм	27. Т. Сосна	28. Валуй	29. Г. Дунай	30. Айдар	31. Ворскла	32. Ракига	33. Пена	34. Белая	35. Дон
S	0,08	0,357	0,176	0,125	0,222	0,267	0,211	0,214	0,235	0,227	0,167	0,143	0,128	0,105	0,238	0,148	0,333	0,167
M	0,12	0,143	0,147	0,125	0,055	0,067	0,105	0,214	0,059	0,091	0,042	0,095	0,121	0,105	0,048	0,074	0,083	0,167
P	0,04	0,071	0,176	0,042	0,111	0,067	0	0,071	0,059	0,045	0,083	0,095	0,151	0,158	0,095	0,037	0,083	0,083
B	0,04	0	0,059	0,042	0	0	0,105	0	0,117	0	0,083	0,095	0,061	0,105	0	0,074	0	0
SM	0,44	0,286	0,265	0,375	0,389	0,4	0,263	0,286	0,412	0,409	0,25	0,333	0,303	0,368	0,238	0,333	0,333	0,25
SP	0,28	0,143	0,147	0,25	0,222	0,2	0,211	0,214	0,118	0,227	0,292	0,19	0,121	0,158	0,238	0,333	0,167	0,333
SMP	0	0	0,029	0,042	0	0	0,105	0	0	0	0,083	0,047	0,061	0	0,143	0	0	0
$\mu \pm S\mu$	4,936± 0,638	4,645± 0,884	6,429± 0,328	5,914± 0,517	4,56± 0,786	4,462± 0,869	5,779± 0,609	4,798 ± 0,868	5,28± 0,731	4,443± 0,719	6,342± 0,417	6,43± 0,418	6,527± 0,306	5,641± 0,635	5,61± 0,609	5,182± 0,591	4,581± 0,961	4,763± 0,942
$h \pm Sh$	0,295± 0,091	0,336± 0,126	0,081± 0,047	0,155± 0,074	0,348± 0,112	0,362± 0,124	0,174± 0,087	0,314 ± 0,124	0,246± 0,104	0,365± 0,103	0,094± 0,059	0,081± 0,059	0,067± 0,044	0,194± 0,091	0,198± 0,087	0,259± 0,084	0,345± 0,137	0,319± 0,135
N	25	14	34	24	18	15	19	14	17	22	24	21	33	19	21	27	12	12

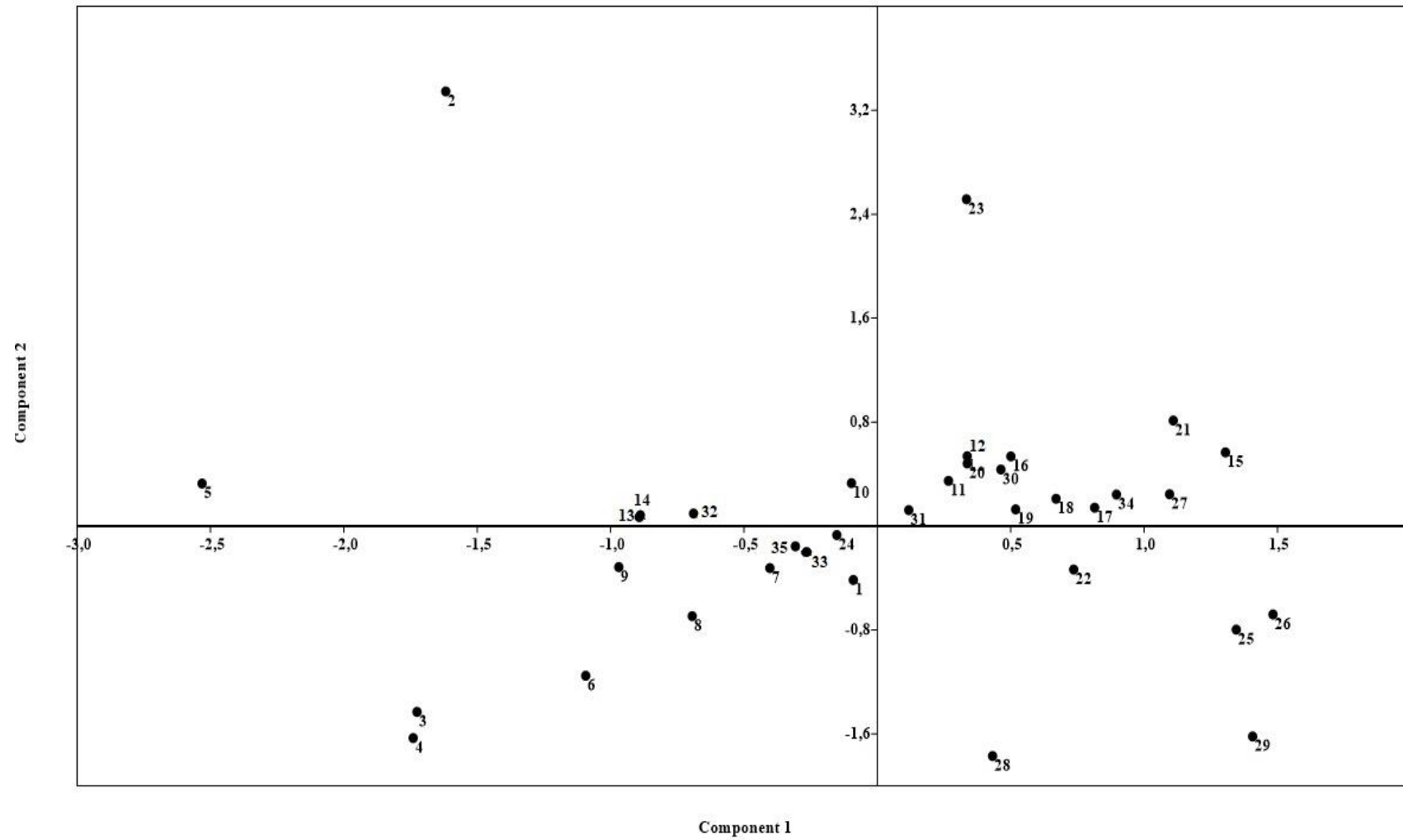


Рис. 5.4. Ординация центроидов на основании матрицы попарных оценок фенотипического сходства (r) популяций *P. esculentus* complex

Тем не менее, анализ РСА позволил выявить оригинальные группы, а именно: №2 «Везелка»; №5 «Ячневский»; №23 «Чуфичка»; №28 «Валуи»; №29 «Голубой Дунай», которые по соотношению частот фенотипов сильно дистанцировались от остальных групп региона. Примечательно, что среди них есть группы, обитающие, как на импактных территориях, так и в относительно чистых биотопах. Данный факт свидетельствует о неоднородности условий среды обитания зеленых лягушек в районе исследования и об эффективных компенсаторных реакциях популяций в ответ на антропогенный прессинг. Данное обстоятельство подтверждается множеством работ, проведенных в других регионах. Например, ряд авторов наблюдали изменение фенотипического состава популяций, обитающих в условиях антропопрессии г. Казани, г. Липецка и Республики Башкортостан (Замалетдинов, 2002; Никашин, 2007; Файзулин, Кузовенко, 2012; Файзулин и др., 2013).

Тем не менее, в условиях антропогенной нагрузки у бесхвостых земноводных не всегда происходит снижение фенотипического разнообразия. Так, например, у прудовой лягушки в урбанизированных ландшафтах г. Тольятти отмечалось повышение уровня фенотипической изменчивости (Кузовенко, 2018). Подобный феномен отмечен также у травяной лягушки (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758) в Нижнем Новгороде (Лебединский, 1984; Лебединский, Поморина, 2008).

Изменение в фенотипической структуре популяций изучаемого комплекса среднеевропейских зеленых лягушек в условиях антропогенного пресса, обусловлено рядом факторов. При этом к ним можно отнести селективное преимущество физиологических реакций, которые могут быть отличны у полосатых и бесполосых особей. Тем не менее, сама окраска спины также может иметь селективное значение. В зависимости от биотопа криптическая окраска в разных условиях позволяет снижать пресс хищников,

как для полосатых (Лада, 1990), так и для бесполосых особей (Замалетдинов, 2002).

Другим фактором, оказывающим влияние на фенотипическую структуру, является географическая изменчивость. Как отмечается в ряде работ, у озерной лягушки частота морфы «*striata*» на востоке нативного ареала значительно ниже, чем в Центрально-Черноземном регионе (Зарипова, Файзулин, 2012; Файзулин, Кузовенко, 2012; Лада, 1990).

5.3. Анализ морфофизиологических индикаторов популяций *Pelophylax esculentus* complex

Согласно концепции С. С. Шварца, любое изменение условий окружающей среды приводит к морфофункциональным сдвигам организма (Шварц, 1958, 1980; Спирина, 2007). В нашем исследовании в качестве морфофизиологических индикаторов мы используем индексы печени, сердца и почек. Значения индексов внутренних органов представлены в таблице 5.5.

Индекс печени представляет собой один из показателей «экологического благополучия популяции» (Спирина, 2007; Корж, Задорожная, 2013). Вес печени может сильно варьировать благодаря накоплению или расходу углеводов и жиров (Ковылина, 1999). Помимо запасающей, функции печень, выполняет роль по детоксикации различных поллютантов (Дурнев и др., 2006). Все это позволяет использовать данный орган для комплексного изучения жизнеспособности популяции, включая оценку степени повреждения ДНК (см. гл. 7).

По индексу печени выявлены статистически значимые отличия между популяциями, обитающими в естественных, мало нарушенных биотопах и на импактных территориях ($p < 0,001$). Снижение индекса печени указывает на значительные энергетические затраты на биотрансформацию ксенобитиков (Спирина, 2007; Дурнев и др., 2006).

Таблица 5.5

Индексы внутренних органов в популяциях *P. esculentus complex* (M±m)

Локалитет	n	печень	сердце	почки
1. Северский Донец	15	29,99±2,08	4,02±0,25	4,05±0,26
2. Везелка	13	17,86±0,88	3,31±0,18	4,01±0,29
3. Оскочное	15	20,13±1,52	3,25±0,23	4,38±0,31
4. Ячневский	10	26,47±1,21	3,42±0,33	3,25±0,29
5. Дубовое	15	24,39±2,23	3,73±0,25	3,44±0,24
6. Устье	14	21,51±2,78	3,75±0,25	4,11±0,24
7. Майский	12	24,83±2,91	3,11±0,23	2,79±0,19
8. Северный	15	18,22±1,01	3,35±0,17	4,03±0,25
9. Шопино	15	27,34±2,84	3,65±0,31	3,12±0,13
10. Нежеголь	11	32,65±1,63	3,32±0,11	3,94±0,54
11. Графовка	11	33,01±2,11	2,91±0,15	2,68±0,17
12. Глотово	16	28,92±2,81	4,11±0,64	3,67±0,29
13. Плотва	7	27,54±1,53	4,02±0,42	2,78±0,09
14. Сазон	13	38,54±2,52	3,82±0,28	4,68±0,41
15. Оскол 1	12	26,23±3,91	4,07±0,31	3,71±0,42
16. Волчья	10	28,25±1,87	3,81±0,33	3,47±0,14
17. Губкин	10	21,99±2,01	4,41±0,31	3,08±0,45
18. Орлик	10	20,28±2,57	4,17±0,29	3,35±0,52
19. Ольшанка	7	16,57±1,06	3,01±0,16	4,02±0,39
20. Халань	12	21,27±1,29	3,24±0,16	3,33±0,31
21. Беленькая	14	30,97±1,46	4,77±0,21	4,06±0,12
22. Оскол	14	33,43±2,53	4,83±0,31	4,69±0,37
23. Чуфичка	14	21,77±2,29	4,02±0,34	4,64±0,31
24. Корень	9	33,71±2,36	4,35±0,58	4,67±0,41
25. Короча	8	16,39±0,94	3,21±0,24	4,09±0,35
26. Тихая сосна	20	37,93±1,73	5,85±0,48	4,43±0,42
27. Валуй	16	32,39±1,72	3,69±0,13	4,15±0,08
28. Голубой Дунай	17	37,22±3,32	3,09±0,33	4,16±0,45
29. Айдар	27	44,27±3,56	3,79±0,29	4,09±0,69
30. Ворскла	13	25,65±1,35	2,88±0,21	2,75±0,17
31. Ракига	23	34,22±0,91	4,94±0,21	4,88±0,28
32. Пена	21	36,01±1,26	4,41±0,22	4,51±0,41
33. Белая	5	24,11±0,78	4,75±0,47	3,92±0,27
34. Дон	7	23,65±1,41	5,76±0,26	4,22±0,34

Наибольшее значение индекса печени отмечено в группах №29 «Айдар» ($44,27 \pm 3,56$); №14 «Сазон» ($38,54 \pm 2,52$); №26 «Тихая Сосна» ($37,93 \pm 1,73$); №28 «Голубой Дунай» ($37,22 \pm 3,32$). При этом, в указанных популяциях, также наблюдается высокий уровень фенотипической изменчивости, что указывает на низкую интенсивность антропогенного пресса в указанных локалитетах.

Снижение значения индекса печени отмечены в зоне с наибольшей антропогенной нагрузкой в центральной и северо-восточной части Белгородской области (см. §2.6). Так, наименьшие значения индекса печени отмечены в урбанизированных ландшафтах г. Белгорода №2 «Везелка» ($17,86 \pm 0,88$); №8 «Северный» ($18,22 \pm 1,01$); №3 «Оскочное» ($20,13 \pm 1,52$); №6 «Устье» ($21,51 \pm 2,78$). Также и в отдаленных от городской черты пунктах: №25 «Короча» ($16,39 \pm 0,94$); №19 «Ольшанка» ($16,57 \pm 1,06$); №18 «Орлик» ($20,28 \pm 2,57$); №20 «Халань» ($21,27 \pm 1,29$) и №23 «Чуфичка» ($21,77 \pm 2,29$). Снижение индекса печени в популяциях, удаленных от городских территорий, обусловлено, вероятно, смывом удобрений и пестицидов с полей дождевыми и талыми водами, а также расположенными рядом Горно-обогатительными комбинатами Курской магнитной аномалии (ГОК КМА). Стоит отметить, что ранее на примере наземных моллюсков было отмечено статистически значимое увеличение степени повреждения геномной ДНК в заповедных участках, примыкающих к сельскохозяйственным угодьям (Снегин, 2014).

Поллютанты различной природы, также оказывают влияние на индексы сердца и почек. Так, согласно концепции С. С. Шварца, индекс сердца напрямую связан с уровнем метаболизма (Шварц, 1980), при его «интенсификации» происходит увеличение индекса данного органа (Шварц и др., 1968). По мнению Е. В. Спириной (2007) в загрязненных водоемах уровень метаболизма у животных может быть выше, чем в чистых водоемах. Данная адаптация, позволяет повысить выживаемость организма и

популяции в целом. Известно, что увеличение индекса сердца и почек, указывает на возрастание роли данных органов в выведении метаболитов и поллютантов. При этом имеются данные, что у некоторых особей в загрязненных водоемах появляется третья почка и вторая селезенка, что с одной стороны, по мнению А. Н. Мисюры и соавторов, может быть генетическим дефектом, а с другой, может приводить к повышению резистентности организма (Мисюра и др., 2007).

В нашем исследовании корреляции между индексами сердца и почек с одной стороны, и действием антропогенного пресса с другой, не было выявлено. Однако были выявлены статистические значимые отличия ($p < 0,05$) между изучаемыми популяциями по указанным индексам. Это свидетельствует об отличии уровня метаболизма между разными группами лягушек, которые вызваны естественными причинами.

Регрессионный анализ индексов сердца и почек выявил достоверную зависимость между этими показателями $R = 0,438$ ($p < 0,001$). При этом аналогичная зависимость между индексами печени и почек, а также печени и сердца отсутствовала. Стоит отметить, что подобные разнонаправленные изменения морфофизиологических индексов отмечались ранее рядом авторов (Мисюра, 1989; Пескова, 2001; Буракова, 2008; Кузовенко, 2018). Можно предположить, что выявленные неоднозначные изменения индексов обусловлены генетической гетерогенностью комплекса средневропейских зеленых лягушек (см. гл. 4 и гл. 6).

В заключение стоит отметить, что выявленные нами изменения морфологической структуры популяций средневропейских зеленых лягушек могут иметь полифакторную природу. В частности, межпопуляционная изменчивость морфометрических показателей также может быть обусловлена помимо внешних воздействий внутренними факторами, связанными с генетической оригинальностью изучаемых популяций, отмеченной в 4 и 6 главах диссертационного исследования.

Кроме того, несмотря на высокий уровень свободного скрещивания особей между собой (панмиксии) и активной миграции (гл. 6), было выявлено изменение частот фенотипов и повышении доли редких морф в градиенте антропогенной нагрузки в трансформированных биотопах, что обусловлено деградацией экосистем. При этом в популяциях, обитающих в центральной и северо-восточной части региона, т. е. в зоне наивысшего антропогенного пресса, прослеживается снижение индекса печени по сравнению с локалитетами отдаленными от промышленной части региона.

ГЛАВА 6. АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ
PELOPHYLAX ESCULENTUS COMPLEX
НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

6.1. Анализ генетической структуры популяционных систем
Pelophylax esculentus complex

На следующем этапе нашей работы мы проанализировали генетическую структуру популяций изучаемого комплекса на основе локусов изоферментов и микросателлитных маркеров ДНК.

Частоты аллелей по используемым локусам представлены в таблицах 2 и 3 приложения.

Результаты оценки генетического разнообразия изучаемых групп *Pelophylax esculentus* complex, представленные в таблицах 6.1 и 6.2, демонстрируют их высокую генетическую гетерогенность. Среднее число аллелей на локус (А) по изоферментам составило 2,89. Микросателлиты содержали от 13 до 41 аллеля на локус (в среднем 9 аллелей на локус). При этом наибольшим аллельным разнообразием обладает локус Res15.

Все изучаемые изоферментные и микросателлитные локусы были полностью полиморфны ($P = 100\%$).

Наибольшее генетическое разнообразие по данным анализа аллозимов отмечено в популяциях, обитающих в мало нарушенных или естественных биотопах в условиях минимальной антропогенной нагрузки (см. § 2.6): №34 «Полная», №33 «Айдар»; №35 «Белая»; №36 «Дон»; №31 «Ворскла». Наиболее мономорфными оказались популяции, обитающие в г. Белгороде, а именно: №6 «Устье»; №4 «Ячевский»; №8 «Северный»; №7 «Майский»; №5 «Дубовое».

Однако, по данным микросателлитного анализа, мы наблюдаем обратную картину.

Показатели генетического разнообразия в популяциях
P. esculentus complex, полученных на основе изоферментных маркеров

Популяция	N	%P	A	Ae	I	Ho	He	F	Тип ПС
1. С. Донец	19	100	2,667	2,257	0,840	0,509	0,508	-0,035	RE
2. Везелка	20	100	3,000	2,120	0,850	0,433	0,507	0,097	R
3. Оскочное	20	100	3,000	2,098	0,828	0,383	0,488	0,256	RE
4. Ячневский	16	100	3,000	1,756	0,650	0,417	0,368	-0,065	RE
5. Дубовое	18	100	2,667	1,888	0,718	0,407	0,419	0,003	RE
6. Устье	26	100	2,333	1,757	0,529	0,231	0,305	0,073	RE
7. Майский	16	100	2,667	2,068	0,709	0,438	0,421	-0,030	RE
8. Северный	22	100	2,667	1,988	0,709	0,515	0,430	-0,172	RE
9. Шопино	23	100	2,667	2,121	0,731	0,348	0,439	0,116	RE
10. Нежеголь	22	100	3,000	2,422	0,953	0,682	0,571	-0,171	RE
11. Графовка	17	100	3,000	2,601	1,024	0,784	0,615	-0,275	R
12. Глотово	25	100	3,000	2,386	0,962	0,667	0,578	-0,152	RE
13. Плотва	13	100	3,000	2,497	0,967	0,744	0,595	-0,246	R
14. Сазон	20	100	3,000	2,418	0,967	0,683	0,574	-0,191	R
15. Оскол I	22	100	3,000	2,417	0,962	0,742	0,578	-0,276	R
16. Волчья	18	100	3,000	2,518	0,996	0,741	0,600	-0,254	R
17. Губкин	60	100	3,000	2,386	0,961	0,506	0,571	0,108	R
18. Орлик	25	100	3,000	2,338	0,926	0,667	0,552	-0,222	R
19. Ольшанка	14	100	3,000	2,322	0,928	0,690	0,565	-0,242	R
20. Халань	34	100	2,667	2,144	0,803	0,559	0,511	-0,139	R
21. Бельнякая	24	100	2,667	2,347	0,855	0,694	0,560	-0,313	R
22. Оскол	18	100	3,000	2,427	0,974	0,704	0,582	-0,223	R
23. Чуфичка	15	100	3,000	2,377	0,928	0,711	0,576	-0,244	R
24. Корень	19	100	3,000	2,371	0,943	0,579	0,564	-0,036	RE
25. Короча	14	100	2,667	2,335	0,862	0,619	0,525	-0,195	RE
26. Сейм	17	100	3,000	2,122	0,863	0,373	0,528	0,294	R
27. Т. Сосна	22	100	3,000	2,644	1,018	0,545	0,610	0,070	R
28. Валуй	24	100	2,667	2,136	0,784	0,653	0,497	-0,348	R
29. Г. Дунай	21	100	2,667	2,323	0,892	0,810	0,563	-0,478	R
30. Айдар	33	100	3,000	2,780	1,054	0,859	0,639	-0,344	R
31. Ворскла	19	100	3,000	2,671	1,026	0,702	0,624	-0,129	REL
32. Ракига	21	100	3,000	2,514	0,966	0,746	0,594	-0,236	RE
33. Пена	27	100	3,000	2,650	1,017	0,704	0,620	-0,138	RE
34. Полная	22	100	3,000	2,823	1,065	0,758	0,645	-0,180	R
35. Белая	12	100	3,000	2,727	1,048	0,611	0,633	0,033	R
36. Дон	12	100	3,000	2,713	1,037	0,639	0,630	-0,003	R
Среднее		100	2,889± 0,030	2,346 ±0,050	0,898 ±0,022	0,607 ±0,023	0,544 ±0,014	-0,119 ±0,031	–

Примечание здесь и в таблице 6.2: N – число особей в выборке; P – процент полиморфных локусов; A – среднее число аллелей; Ae – эффективное число аллелей; I – индекс Шеннона; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность; F – индекс фиксации (коэффициент инбридинга).

Таблица 6.2

Показатели генетического разнообразия в популяциях *P. esculentus* complex, полученных на основе микросателлитных маркеров ДНК

Локалитеты	N	%P	A	Ae	I	Ho	He	F	Тип ПС
1. С. Донец	19	100	10,143	5,136	1,761	0,549	0,735	0,282	RE
2. Везелка	20	100	9,571	4,889	1,683	0,429	0,699	0,365	R
3. Оскочное	20	100	14,000	8,520	2,139	0,621	0,809	0,260	RE
4. Ячевский	16	100	11,714	7,016	1,968	0,589	0,774	0,271	RE
5. Дубовое	18	100	8,857	4,196	1,560	0,373	0,664	0,478	RE
6. Устье	26	100	9,714	4,943	1,660	0,401	0,696	0,438	RE
7. Майский	16	100	7,286	3,579	1,318	0,339	0,582	0,403	RE
8. Северный	22	100	7,857	4,026	1,333	0,409	0,586	0,304	RE
9. Шопино	23	100	9,286	3,755	1,424	0,447	0,596	0,238	RE
10. Нежеголь	22	100	9,000	4,968	1,495	0,455	0,642	0,282	RE
11. Графовка	17	100	5,429	2,964	1,185	0,588	0,597	0,006	R
12. Глотова	25	100	11,571	5,557	1,929	0,611	0,783	0,224	RE
13. Плотва	13	100	9,571	6,536	1,715	0,571	0,708	0,243	R
14. Сазон	20	100	11,571	6,672	1,837	0,621	0,749	0,186	R
15. Оскол 1	22	100	9,429	4,181	1,602	0,429	0,682	0,409	R
16. Волчья	18	100	7,286	4,040	1,402	0,500	0,640	0,163	R
17. Губкин	60	100	17,143	5,150	2,009	0,510	0,775	0,361	R
18. Орлик	25	100	14,143	7,819	1,943	0,566	0,737	0,288	R
19. Олышанка	14	100	7,143	3,208	1,392	0,469	0,653	0,306	R
20. Халань	34	100	14,429	5,387	1,982	0,546	0,776	0,319	R
21. Беленькая	24	100	9,714	4,983	1,548	0,429	0,655	0,325	R
22. Оскол	18	100	8,714	5,675	1,838	0,500	0,792	0,376	R
23. Чуфичка	15	100	9,857	5,263	1,853	0,514	0,779	0,341	R
24. Корень	19	100	6,714	3,993	1,389	0,571	0,644	0,142	RE
25. Короча	14	100	5,571	2,740	1,177	0,520	0,575	0,113	RE
26. Сейм	17	100	7,143	4,445	1,451	0,471	0,653	0,237	R
27. Т. Сосна	22	100	7,571	4,124	1,480	0,474	0,685	0,354	R
28. Валуй	24	100	7,571	2,687	1,260	0,488	0,588	0,197	R
29. Г. Дунай	21	100	8,000	3,593	1,399	0,463	0,601	0,265	R
30. Айдар	33	100	12,143	4,348	1,761	0,502	0,701	0,328	R
31. Ворскла	19	100	7,571	3,881	1,518	0,534	0,691	0,266	REL
32. Ракита	21	100	6,000	3,252	1,330	0,571	0,655	0,152	RE
33. Пена	27	100	6,286	3,109	1,300	0,476	0,650	0,298	RE
34. Полная	22	100	9,143	4,409	1,652	0,487	0,724	0,349	R
35. Белая	12	100	4,286	2,704	1,005	0,357	0,519	0,261	R
36. Дон	12	100	4,429	2,753	1,127	0,429	0,599	0,347	R
Среднее		100	9,052± 0,342	4,569± 0,219	1,567± 0,040	0,495± 0,016	0,678± 0,011	0,283± 0,019	—

Наибольшая генетическая гетерогенность отмечена в популяциях, обитающих в зоне с высокой антропогенной нагрузкой (№3 «Оскочное»; №18 «Орлик»; №4 «Ячневский»), а наиболее мономорфные популяции оказались в мало нарушенной естественной среде (№35 «Белая», №36 «Дон», №28 «Валуй»). При этом в указанных популяциях, по данным изоферментных маркеров, наблюдается высокий уровень генетического полиморфизма.

Данное противоречие обусловлено тем, что естественный отбор оказывает значительное влияние на формирование аллельного состава популяции по изоферментным локусам. О чем также свидетельствует довольно высокая корреляция ($R = 0,699$, $p < 0,001$) между показателями внутривнутрипопуляционного фенотипического разнообразия и наблюдаемой гетерозиготности по аллелимам, при этом по микросателлитным маркерам подобная зависимость отсутствует. Известно, что в урбанизированных ландшафтах, в условиях антропогенного пресса определенные аллели изоферментов могут получать селективное преимущество (Майр, 1968), что ведет к мономорфизму по данным локусам. В то время как распределение аллельных частот селективно нейтральных микросателлитов в основном подчиняется генетико-автоматическим процессам (дрейф генов или эффект Райта), что на фоне высокой численности популяций лягушек можно рассматривать как их ответную реакцию на нестабильные условия окружающей среды обитания в антропогенно-измененных биотопах (Шмальгаузен, 1968). Увеличение доли гибридных особей в группах также способствует генетической гетерогенности.

Значения коэффициента инбридинга в изучаемых популяциях оказались на низком уровне. В ряде случаев были отмечены отрицательные значения коэффициента инбридинга, что свидетельствует об избытке гетерозигот. Наибольшие значения коэффициента инбридинга отмечены в локалитете №3 «Оскочное» по изоферментам и пункте №5 «Дубовое» по данным

микросателлитного анализа, стоит отметить, что указанные выше пункты представляют собой изолированные водоемы малого размера, что, вероятно, обуславливает близкородственное скрещивание.

Интересен тот факт, что только в популяции №5 «Дубовое» выявлены 4 особи, имеющие приватные аллели микросателлитных локусов. Их генотипы и частота представлены в таблице 6.3. Данный факт свидетельствует о генетической уникальности данной группы. При этом по данным изоферментного анализа в изучаемых локусах приватных аллелей не выявлено.

Таблица 6.3

Частота приватных аллелей в популяции «Дубовое»

Популяция	Локус	Аллель	Частота
«Дубовое»	Res17	150	0,002
«Дубовое»	Res17	166	0,002
«Дубовое»	Res17	176	0,002
«Дубовое»	Rrid171A	155	0,002

Уровень подразделенности изучаемых популяций *P. esculentus* complex рассчитывали при помощи модели Райта. Данные представлены в таблицах 6.4. и 6.5.

Таблица 6.4

Значения полокусных значений коэффициентов инбридинга и уровня потока генов в изучаемых популяциях по данным изоферментов

Локусы	Показатели			
	Fis	Fit	Fst	Nm
<i>Est 1</i>	-0,256	-0,105	0,120	1,828
<i>Est 2</i>	-0,302	-0,111	0,147	1,451
<i>LDH 3</i>	0,143	0,192	0,056	4,205
M ± m	-0,138±0,141	-0,008±0,100	0,108±0,027	2,495±0,862

Примечание здесь и в таблице 6.5: Fis – коэффициент инбридинга особи относительно субпопуляции; Fit – коэффициент инбридинга особи относительно большой популяции; Fst – коэффициент инбридинга субпопуляции относительно большой популяции; Nm – средний показатель интенсивности обмена генами между популяциями.

Таблица 6.5

Значения полокусных значений коэффициентов инбридинга и уровня потока генов в изучаемых популяциях по данным ДНК-маркеров

Показатели	Локусы							M ± m
	Res14	Res15	Res17	Res22	Rrid059A	Rrid082A	Rrid171A	
Fis	0,461	0,277	0,551	0,009	0,219	0,293	0,154	0,281 ±0,069
Fit	0,530	0,399	0,639	0,237	0,318	0,459	0,306	0,413 ±0,053
Fst	0,128	0,168	0,195	0,230	0,127	0,235	0,180	0,180 ±0,017
Nm	1,711	1,237	1,034	0,836	1,716	0,814	1,140	1,212 ±0,142

Согласно F-статистике Райта, рассчитанной по данным аллозимов (табл. 6.4), индекс подразделенности популяций (Fst) в среднем имеет низкое значение, а уровень потока генов (Nm) больше 1, что «согласно теории эволюции со смещающимся равновесием» (Wright, 1970), свидетельствует о присутствующем обмене генами между популяциями *P. esculentus* complex и их активных миграциях. При этом коэффициент инбридинга особей в субпопуляциях (Fis) и коэффициент инбридинга относительно большой популяции (Fit) имеют отрицательные значения, что в свою очередь указывает на избыток гетерозигот. Подобный результат получен при анализе микросателлитных маркеров. Индекс подразделенности популяций (Fst), имеет также низкое значение, а уровень потока генов Nm по всем локусам за исключением Rrid082A оказался больше 1 и составил в среднем 1,212±0,142, что также указывает на значительный обмен генами между популяциями из-за высокого уровня миграций. Большой вклад в генетическое разнообразие вносит разнородность особей внутри популяций, что находит свое отражение в индексах Fit и Fis, и является следствием влияния гибридных интрогрессивных особей (см. гл. 4).

Для оценки степени различия между локальными популяциями изучаемого комплекса, мы использовали метод главных компонент (PCA),

рассчитанный на основе генетических дистанций Неи (Nei, 1972) по данным изоферментных и микросателлитных маркеров (рис. 6.1, 6.2).

Проведенный анализ главных компонент генетических расстояний Неи изоферментных маркеров, представленный на рисунке 6.1, демонстрирует генетическую близость большинства изучаемых популяций, несмотря на их географическую удаленность. При этом на первую компоненту (PC1) приходится 37,03% наблюдаемой изменчивости популяций, а на вторую (PC2) – 30,13% от общей дисперсии. Вопреки генетической близости большинства групп, на графике наблюдаются и уникальные популяции. В связи со значительной географической удаленностью дистанцируются локалитет №36 «Дон»; изолированная популяция №5 «Дубовое»; также дистанцируется пункт №26 «Сейм» (исток реки Сейм.) Отдельного внимания на графике заслуживает пункт №1 «Северский Донец», который, несмотря на географическую близость к другим локалитетам (№2 «Везелка»; №6 «Устье»), значительно дистанцируется от них, что указывает на генетическую уникальность данной популяции.

Анализ главных компонент, проведенный на основе генетических расстояний Неи микросателлитных маркеров ДНК, представленный на рисунке 6.2, также показал существенную схожесть большинства популяций. При этом первая главная компонента (PC1) отражала 30,46% наблюдаемой изменчивости популяций, а вторая (PC2) – 18,84 % общей дисперсии. Ввиду активной миграции средневропейских зеленых лягушек генетическое сходство отмечено не только географически близких популяций, таких как №28 «Валуй», №30 «Айдар», №29 «Голубой Дунай», но и географически удаленных групп – № 25 «Короча», №32 «Ракита», №33 «Пена».

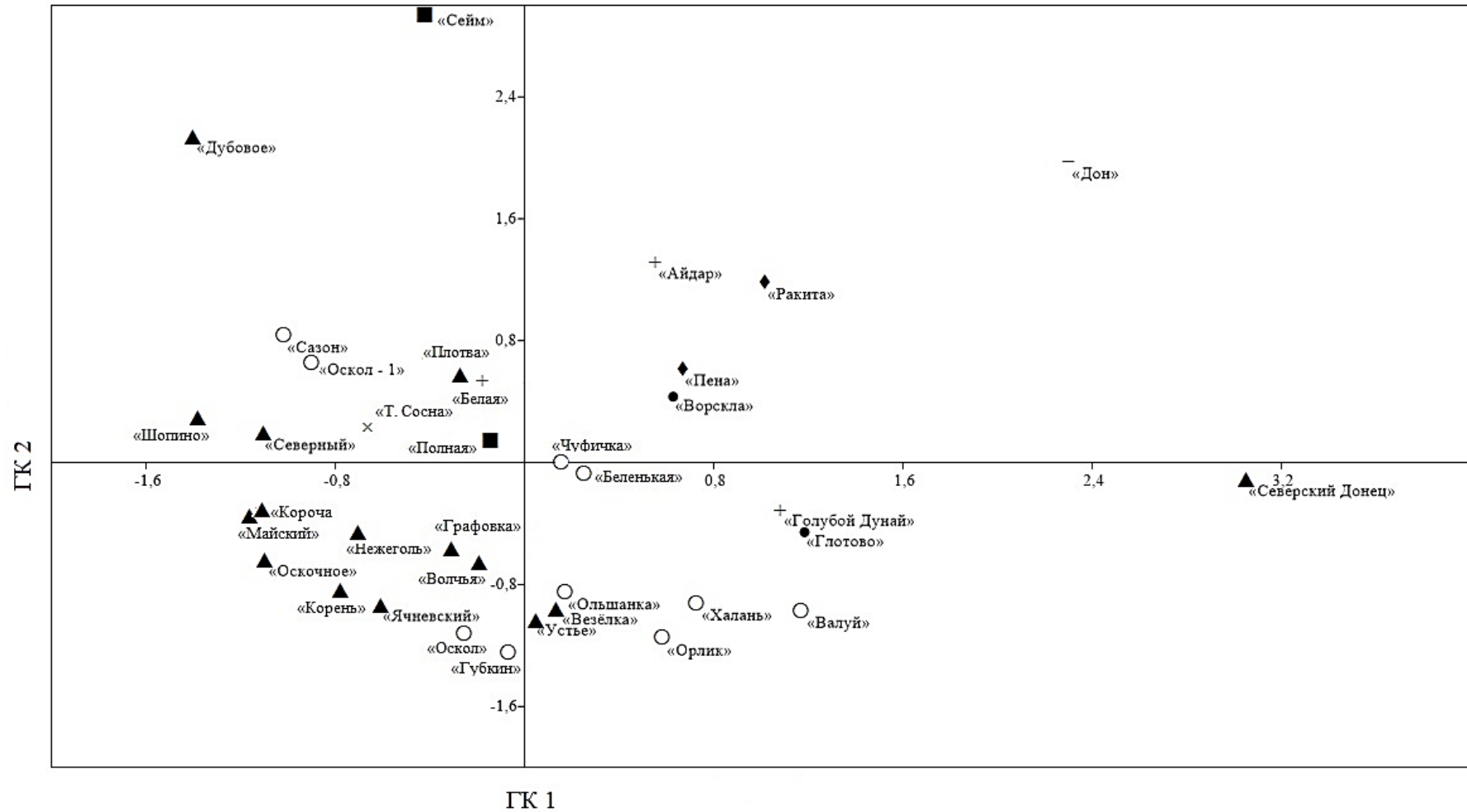


Рис. 6.1. Результаты анализа по методу главных компонент генетических расстояний Неii изоферментных маркеров. Значками обозначены популяции бассейнов: ◆ – р. Пена; ● – р. Ворскла; ■ – р. Сейм; ▲ – р. Северский Донец; ○ – р. Оскол; + – р. Айдар; × – р. Тихая Сосна; — – р. Дон

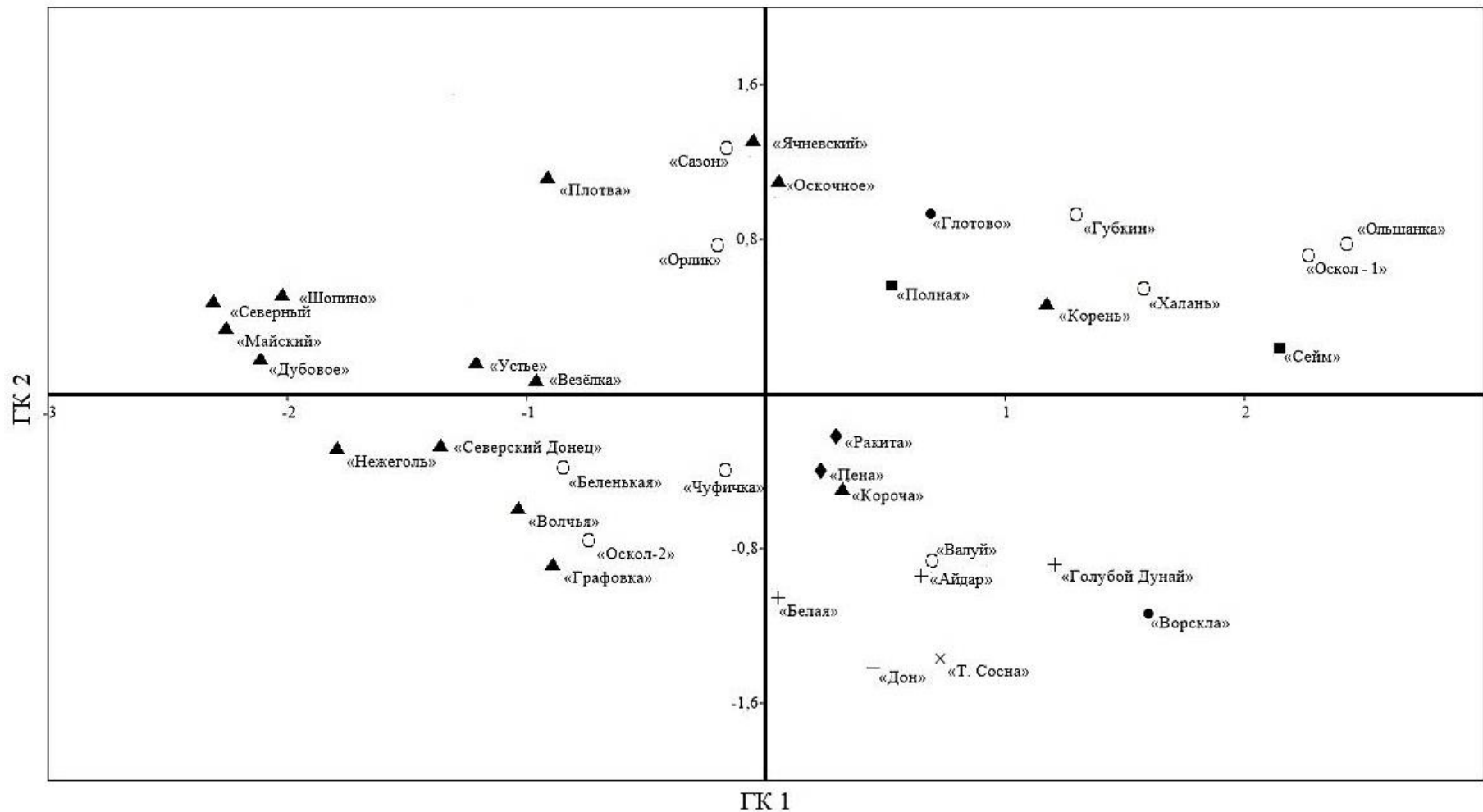


Рис. 6.2. Результаты анализа по методу главных компонент генетических расстояний Неи микросателлитных маркеров ДНК. Значками обозначены популяции бассейнов: ◆ – р. Пена; ● – р. Ворскла; ■ – р. Сейм; ▲ – р. Северский Донец; ○ – р. Оскол; + – р. Айдар; × – р. Тихая Сосна; — – р. Дон

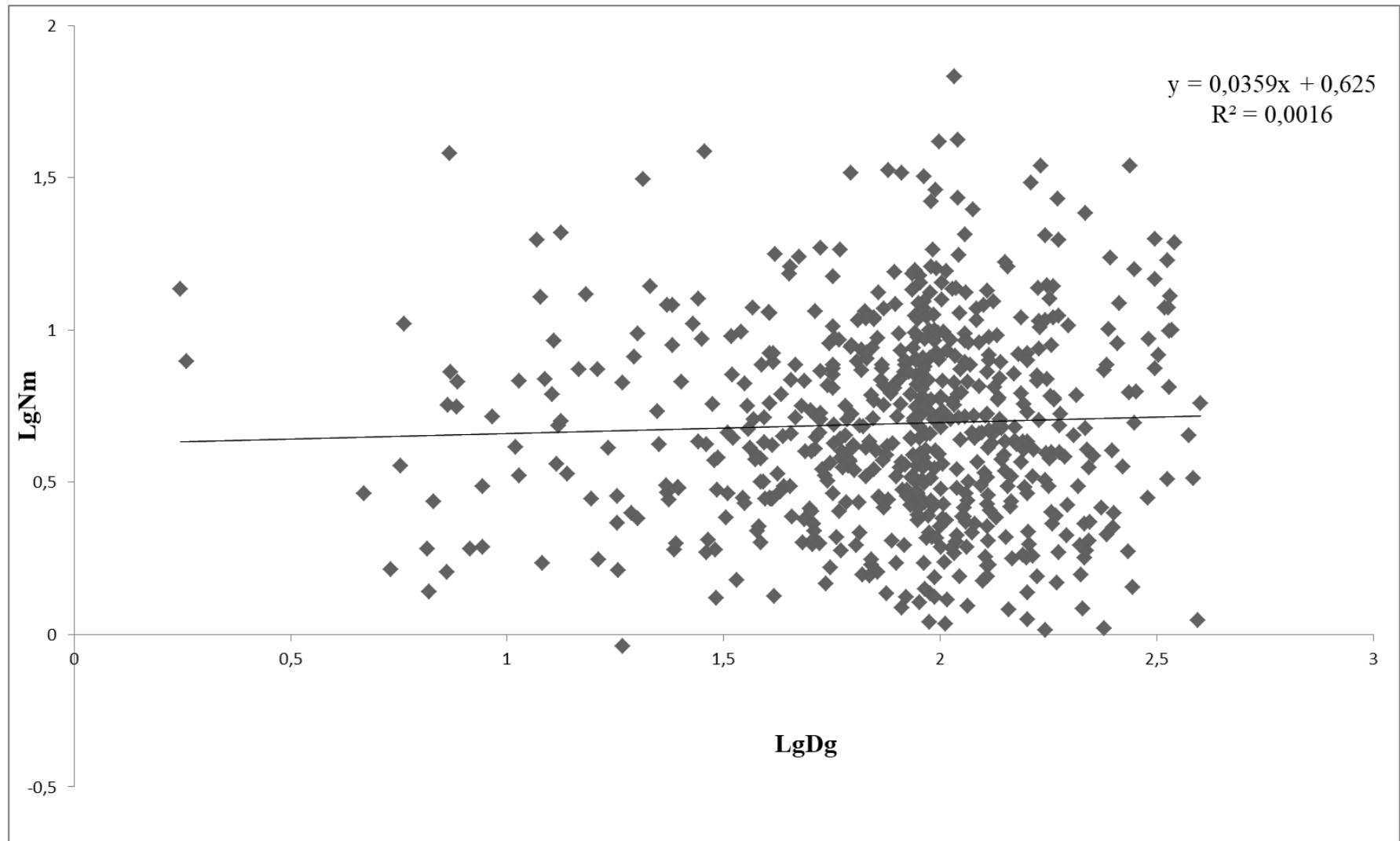


Рис. 6.3. Линейная регрессия логарифма потока генов (Nm) между парами популяций на логарифм географического расстояния между ними (Dg) по данным изоферментных маркеров

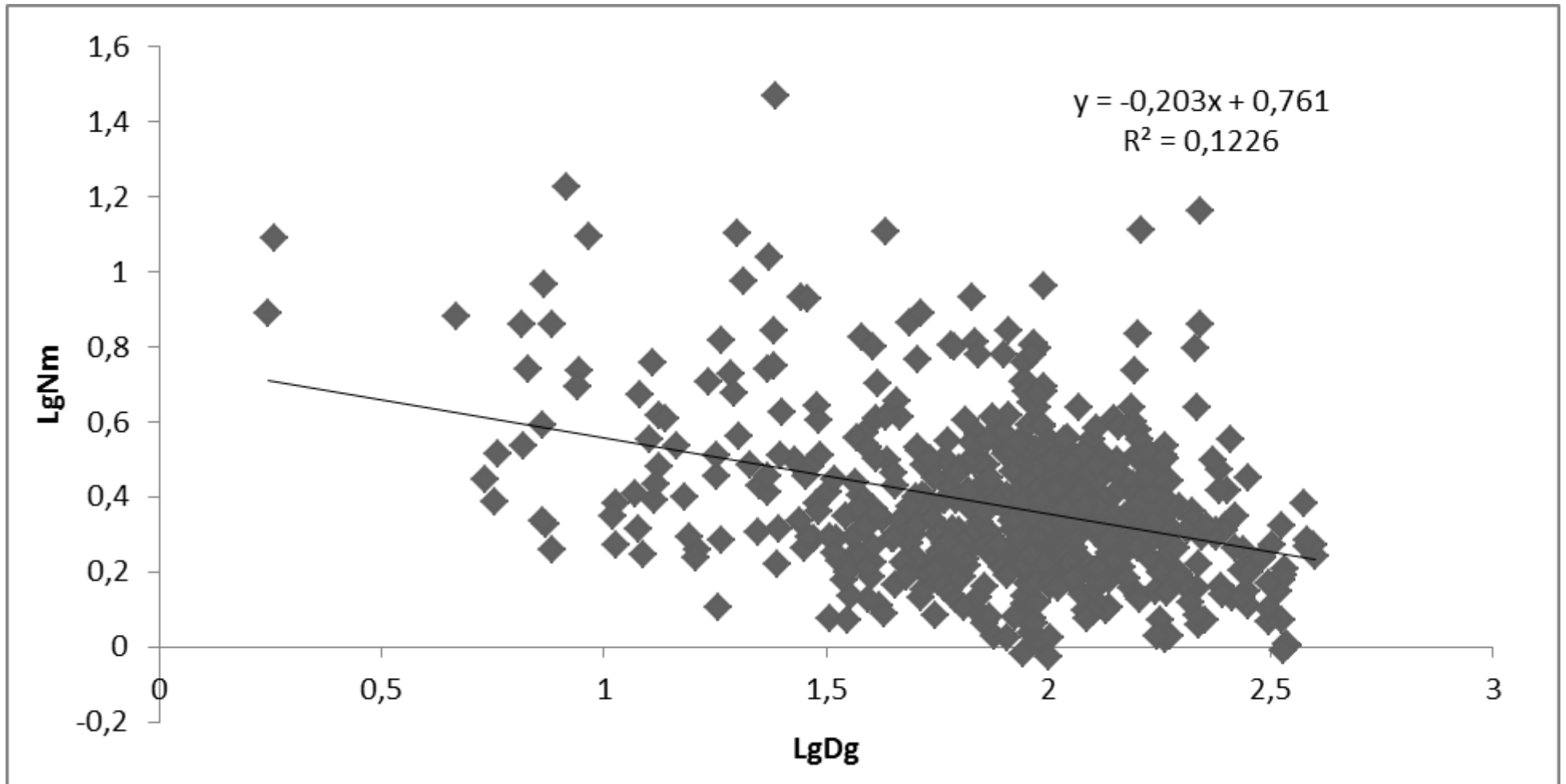


Рис. 6.4. Линейная регрессия логарифма потока генов (Nm) между парами популяций на логарифм географического расстояния между ними (Dg) по данным микросателлитных маркеров ДНК

Данные метода главных компонент (РСА) подтверждают и график зависимости уровня потока генов (Nm) между популяциями от географических дистанций между ними (Dg), представленные на рисунке 6.3 по изоферментам, и рисунке 6.4 по микросателлитам.

Стоит отметить, что данные по микросателлитным маркерам ДНК (рис. 6.4) позволили выявить слабую обратную зависимость между этими показателями (коэффициент корреляции Пирсона $R = -0,350$, $p < 0,001$). По изоферментным маркерам подобная зависимость отсутствовала. Это может свидетельствовать о нарушении модели «изоляции расстоянием» в изучаемом комплексе и приближении ее к «островной модели» (Wright, 1943).

Ввиду того, что полученные данные свидетельствуют о наличии в регионе исследования единой панмиктической популяции, мы провели филогенетический анализ популяций 8 бассейнов полноводных рек юга Среднерусской возвышенности на основе генетических дистанций Неи при помощи метода невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA). Результаты филогенетического анализа по аллозимным маркерам представлены на рисунке 6.5.

Первый и отдельный кластер образовала группа «Дон», с высоким значением бутстреп-поддержки (100%), вероятнее всего это связано с ее значительной географической отдаленностью. Второй кластер образует бассейн реки Северский Донец с бутстреп-поддержкой 93%. Третий кластер включает в себя 2 группы. В первую группу вошли «Сейм» и «Тихая Сосна» с бутстреп-поддержкой 72%, а во вторую «Айдар» и «Пена» с бутстреп-поддержкой 79%. Четвертый кластер образовали «Ворскла» и «Оскол» (бутстреп-поддержкой 75%).

Результаты филогенетического анализа по микросателлитным маркерам ДНК представлены на рисунке 6.6.

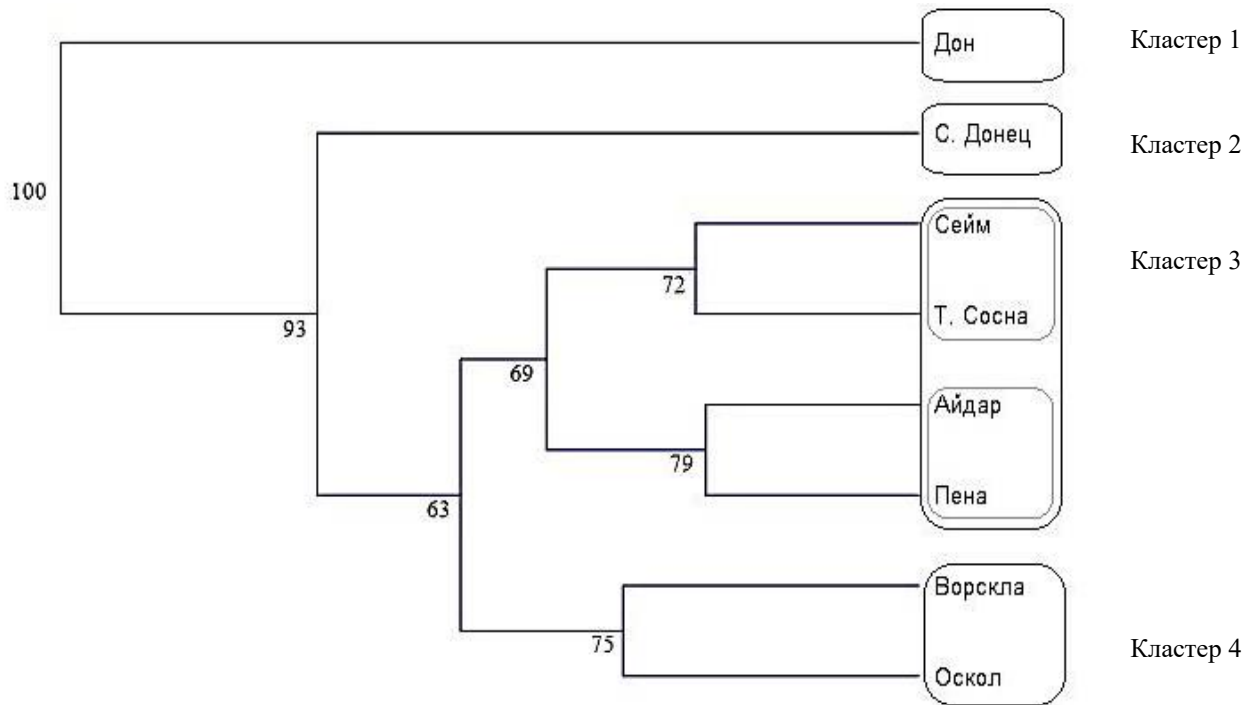


Рис. 6.5. Дендрограмма генетических расстояний Неи на основе изоферментных маркеров, построенная методом UPGMA с числом бутстреп-реализаций 5000

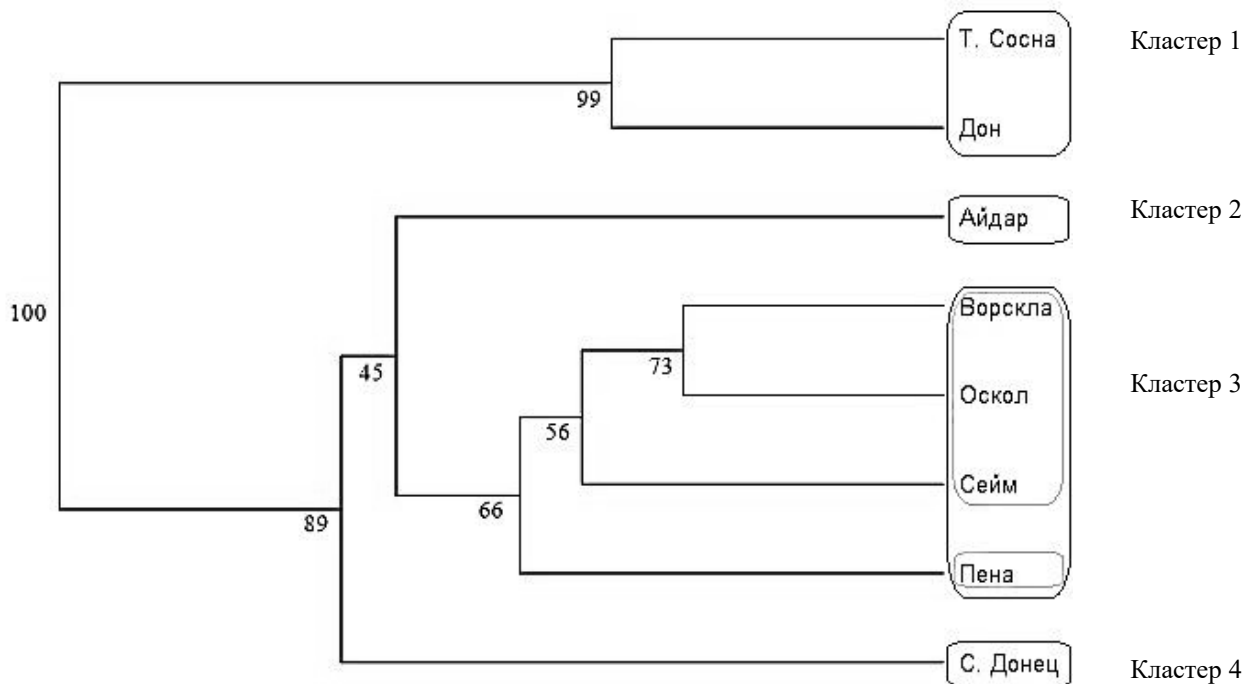


Рис. 6.6. Дендрограмма генетических расстояний по Неи на основе микросателлитных маркеров ДНК, построенная методом UPGMA с числом бутстреп-реализаций 5000

Как и в случае с изоферментами, первый и отдельный кластер с 100% бутстреп-поддержкой образовали выборки «Дон» и «Тихая Сосна». При этом внутри кластера популяции «Дон» и «Тихая Сосна» также достоверно кластеризуются. Река Тихая Сосна является правым притоком Дона, что и обуславливает генетическое сходство данных популяций.

Второй кластер образует популяция «Айдар» с низким уровнем достоверности (45%). Третий кластер образован популяциями Днепровского водосборного бассейна (за исключением реки Оскол).

Отдельный кластер образует бассейн реки Северский Донец с высоким уровнем бутстреп-поддержки 89%. Стоит отметить, что на протяжении всего исследования зафиксирована отдаленность популяций, обитающих в бассейне реки Северский Донец от других крупнейших рек региона, по данным морфометрических индексов (см. §5.1), фенотипической структуры (см. §5.2). Полученные данные указывают на уникальность популяций бассейна реки Северский Донец. Данный район в некоторых работах получил название «Северско-Донецкий центр разнообразия *Pelophylax esculentus* complex» (Borkin et al., 2004; Коршунов, 2010; Шабанов, Литвинчук, 2010). Наше исследование подтверждает это определение.

Для дальнейшего анализа популяционной структуры комплекса среднеевропейских зеленых лягушек, мы создали миграционную сеть, используя критерий N_m (уровень потока генов между популяциями за поколение, рис. 6.7). Данные, полученные на основе результатов моделирования миграционной сети потока генов, подтверждают выводы, сделанные на основе анализа главных компонент, кластерного и регрессионного анализа: была выявлена генетическая близость изучаемых популяций, что свидетельствует о значительном обмене генами между популяциями, обитающими в Донском и Днепровском водосборном бассейне, несмотря на их географическую отдаленность и изоляцию.

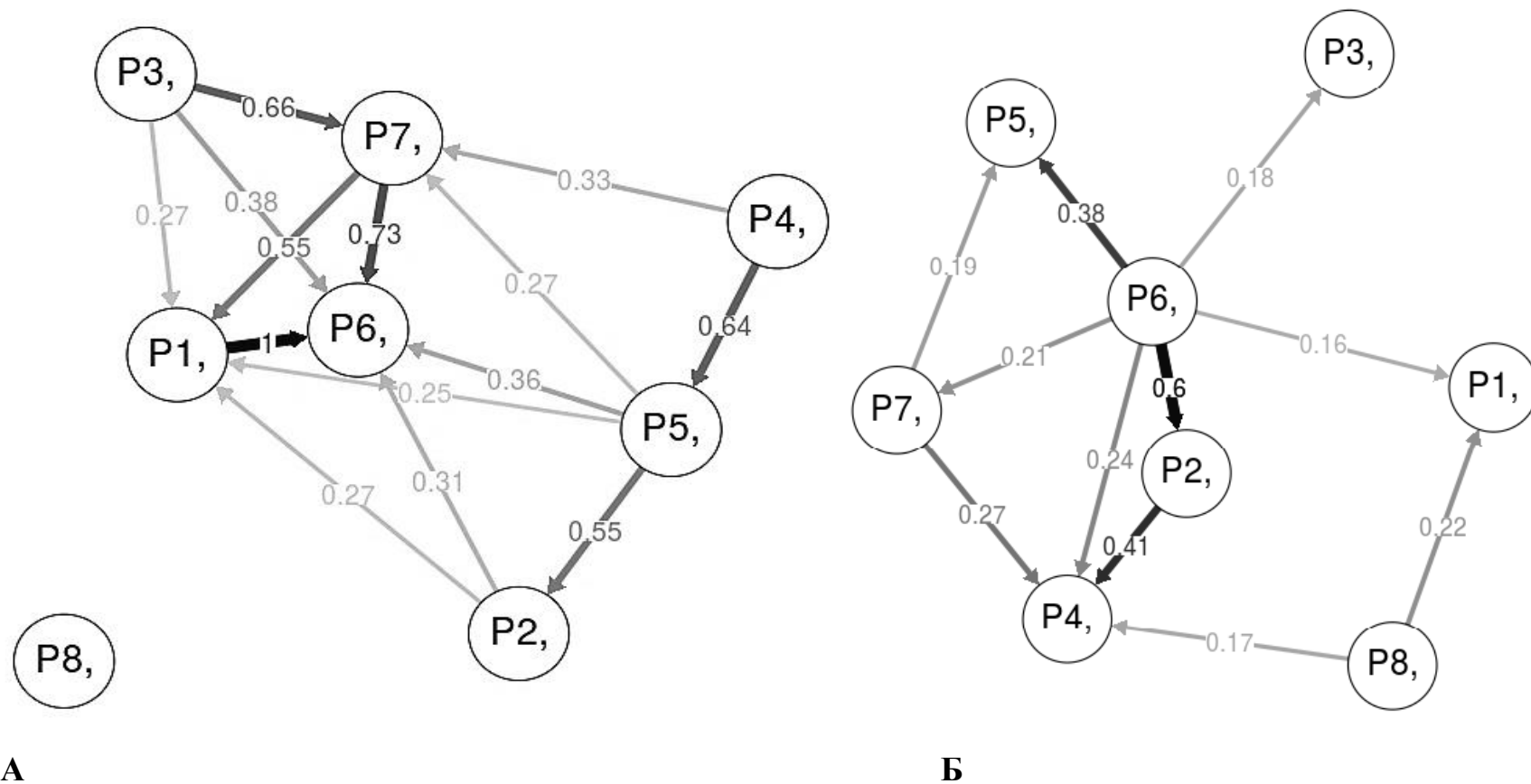


Рис. 6.7. Уровень потока генов между популяциями, обитающими в различных реках при бутстреп-реализаций 5000.

А. По данным изоферментных маркеров. Б. По данным микросателлитных маркеров ДНК.

(стрелками указаны направления потока генов)

(P1 – Пена, P2 – Ворскла, P3 – Сейм, P4 – Северский Донец, P5 – Оскол, P6 – Айдар, P7 – Тихая Сосна, P8 – Дон).

Невысокие значения генетических дистанций F_{st} между группами популяций Донского и Днепровского водосборного бассейна по аллозимам и микросателлитам ($D = 0,053$ и $D = 0,184$, соответственно), а также низкие значения индекса подразделенности ($F_{st} = 0,017$, $F_{st} = 0,021$) и высокий уровень потока генов ($Nm = 14,57$ и $Nm = 11,9$), также указывает на активные миграции лягушек изучаемого комплекса между бассейнами.

Миграции средневропейских зеленых лягушек могут быть обусловлены воздействием антропогенных факторов, к которым можно отнести создание искусственных водоемов, мелиорация земель, преднамеренная или случайная интродукция, например, с мальками рыб (Кузьмин, 2012; Лада 2012; Mikulíček, Pišút, 2012; Ляпков, 2014).

Тем не менее, миграции представителей *P. esculentus* complex в регионе исследования вероятнее всего во многом вызваны абиотическими факторами среды. Аридизация климата региона исследования приводит к временному (сезонному) или постоянному пересыханию водоема, что заставляет земноводных мигрировать в новые нерестовые водоемы. В литературе имеются данные о способности зеленых лягушек (в частности *P. ridibundus* и *P. lessonae*) активно мигрировать из изолированных водоемов, преодолевая значительные расстояния (Holenweg, Peter, 2001; Smith, Green, 2005; Кузьмин, 2012).

6.2. Оценка эффективной численности популяций

На следующем этапе анализа генетической структуры популяционных систем *P. esculentus* complex на основе данных микросателлитного анализа мы рассчитали эффективную численность популяций методом неравновесного сцепления генов (LD-метод (linkage disequilibrium)). Данные представлены в таблице 6.6. Стоит отметить, что анализ эффективной численности популяции представляет собой один из важнейших параметров для оценки их жизнеспособности.

Таблица 6.6

Оценки эффективной численности популяции (N_e)

Популяция	N_e	95% CI
1. Северский Донец	37,8	17,5-339,4
2. Везелка	22,4	12,7-52,7
3. Оскочное	26,3	15,6-57,7
4. Ячневский	25,5	12,2-124,7
5. Дубовое	299,4	36,0-∞
6. Устье	25,8	13,8-69,2
7. Майский	70,7	14,4-∞
8. Северный	52,9	17,8-∞
9. Шопино	31,7	12,4-∞
10. Нежеголь	89,7	18,0-∞
11. Графовка	11,4	4,6-35,9
12. Готово	12,8	8,5-20,0
13. Плотва	9,3	3,2-28,9
14. Сазон	31,8	15,6-147,5
15. Оскол 1	15,3	8,2-35,1
16. Волчья	15,2	7,7-40,3
17. Губкин	19,8	14,2-28,0
18. Орлик	12,0	7,4-20,4
19. Ольшанка	5,9	2,4-15,9
20. Халань	18,3	10,9-33,6
21. Беленькая	21,6	9,7-92,1
22. Оскол	20,4	12,2-42,4
23. Хомичка	30,6	12,2-∞
24. Корень	17,9	9,5-45,8
25. Короча	102,2	15,6-∞
26. Сейм	14,5	7,4-37,8
27. Тихая сосна	6,5	3,1-11,2
28. Валуй	2,4	1,7-3,4
29. Голубой Дунай	8,7	4,1-17,2
30. Айдар	11,1	6,8-17,6
31. Ворскла	31,8	13,7-528,0
32. Ракита	213,4	32,3-∞
33. Пена	157,4	29,8-∞
34. Полная	17,2	8,8-45,7
35. Белая	32,6	16,1-∞
36. Дон	31,7	21,4-∞

Примечание: 95% CI – 95% доверительный интервал

Наибольшее значение N_e зафиксированы в 11 популяциях, где верхний рубеж доверительного интервала оказался бесконечным (∞), что означает эффективный размер популяции был оценен как «бесконечно большой». Этот результат можно интерпретировать как наличие в районе исследования

единой панмиктической популяции. Характерная способность особей изучаемого комплекса преодолевать большие расстояния и их высокая плодовитость способствуют тому, что миграции даже небольшого количества особей хватает для нивелирования эффектов генетического дрейфа и географической удаленности популяций.

Еще в 4-х популяциях верхняя граница доверительного интервала вышла за 100 особей (№1 «Северский Донец», №4 «Ячневский», №14 «Сазон», №31 «Ворскла»).

Тем не менее, в большинстве изученных популяций диапазон эффективной численности оказался меньше 100 особей. Из них в 17 группах эффективная численность оказалась меньше 50 особей. При этом полученные данные эффективной численности популяций сопоставимы с предыдущими исследованиями комплекса средневропейских зеленых лягушек (Mikulíček, Pišút, 2012).

Самое низкое значение эффективного размера отмечено в популяции №28 «Валуй». Данный факт может свидетельствовать о снижении жизнеспособности и уязвимости этой группы.

6.3. Анализ генетической структуры ювенильных и половозрелых форм популяционных систем *Pelophylax esculentus complex*

Изучение возрастной структуры популяций имеет важное значение при оценке адаптивных реакций популяции на воздействие экологических факторов. Известно, что рост постметаморфозных амфибий происходит ритмично (Романова и др., 2019), при этом определение возраста бесхвостого земноводного по длине тела не дает точной оценки, зачастую самые крупные особи не являются самыми старыми. Наиболее точным методом оценки возраста бесхвостого земноводного является скелетохронологический анализ (Смирин, 1989). Однако ввиду отсутствия возможности использования этого метода для выявления возрастных изменений частот аллелей изоферментных

и микросателлитных маркеров, мы разделили особей средневропейских зеленых лягушек на две группы взрослые (половозрелые) и ювенильные (неполовозрелые).

Известно, что изменение частот аллелей, как правило, вызванное гибелью особей на разных стадиях онтогенеза, отражает реакцию популяции на пресс естественного отбора.

Для выявления возможных векторов отбора в популяционных системах *P. esculentus* complex мы сопоставили данные генетической структуры по аллозимным и микросателлитным маркерам особей двух возрастных групп.

Для получения репрезентативных выборок, анализ возрастной изменчивости генетической структуры был проведен по объединенным популяциям 8 бассейнов полноводных рек.

Ввиду того, что выборка популяции р. Полная (№34 «Полная») была предоставлена в виде замороженной ткани, определить возраст особей не представлялось возможным. Поэтому данная выборка была исключена из анализа. Также из сравнительного анализа были исключены популяции «Сейм» (из-за отсутствия в выборке половозрелых особей), популяции «Тихая Сосна» и «Пена» (из-за малого количества в выборке ювенильных особей). Но, результаты по этим группам использовались для получения общих средних показателей.

Результаты сравнения приведены в таблицах 6.7, 6.8, 6.9 и в таблице приложения 6. Полученные данные показали, что в большинстве популяций нет достоверно значимых отличий ($p < 0,05$) между частотами аллелей и уровнем генетической изменчивости разновозрастных групп. Тем не менее, в ряде случаев удалось зафиксировать достоверные изменения.

Таблица 6.7

Показатели генетического разнообразия половозрелых и ювенильных форм популяционных систем *P. esculentus* complex по данным изоферментных маркеров

Популяция	Форма	N	%P	A	Ae	I	Ho	He	F
Пена	З	46	100	3,000	2,659	1,024	0,717	0,621	-0,152
	Ю	2	-	-	-	-	-	-	-
Ворскла	З		100	3,000	2,245	0,916	0,690	0,546	-0,256
	Ю	15	100	3,000	2,575	0,996	0,667	0,607	-0,100
Сейм	З	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ю	17	100	3,000	2,122	0,863	0,373	0,528	0,294
С. Донец	З	112	100	3,000	2,267	0,921	0,509	0,541	0,063
	Ю	171	100	3,000	2,278	0,900	0,505	0,535	0,052
Оскол	З	171	100	3,000	2,433	0,971	0,639	0,583	-0,116
	Ю	85	100	3,000	2,469	0,971	0,612	0,588	-0,055
Айдар	З	56	100	3,000	2,826	1,069	0,804	0,646	-0,243
	Ю	10	100	3,000	2,474	0,983	0,767	0,595	-0,292
Т. Сосна	З	20	100	3,000	2,588	1,006	0,550	0,600	0,050
	Ю	2	-	-	-	-	-	-	-
Дон	З	7	100	3,000	2,617	1,001	0,571	0,605	0,109
	Ю	5	100	2,667	2,444	0,919	0,733	0,580	-0,295
Обобщенные данные	З		100	3	2,582± 0,196	1,015± 0,04	0,633± 0,053	0,609± 0,028	-0,053± 0,129
	Ю		100	3	2,509± 0,26	0,99± 0,06	0,549± 0,034	0,533± 0,049	0,067± 0,06

Примечание здесь и в таблице 6.8: З – половозрелые особи комплекса среднеевропейских лягушек; Ю – ювенильные (неполовозрелые) особи комплекса среднеевропейских лягушек; N – число особей в выборке; P – процент полиморфных локусов; A – среднее число аллелей; Ae – эффективное число аллелей; I – индекс Шеннона; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность; F – индекс фиксации (коэффициент инбридинга). Шрифтом выделены статистически значимые отличия между показателями ($p < 0,05$).

Таблица 6.8

Показатели генетического разнообразия половозрелых и ювенильных форм популяционных систем *P. esculentus* complex по данным микросателлитных маркеров ДНК

Популяция	Форма	N	%P	A	Ae	I	Ho	He	F
Пена	З	46	100	7,714	3,385	1,400	0,509	0,674	0,271
	Ю	2	-	-	-	-	-	-	-
Ворскла	З	29	100	12,714	6,298	2,044	0,576	0,806	0,294
	Ю	15	100	9,714	5,123	1,849	0,581	0,773	0,261
Сейм	З	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ю	17	100	7,143	4,445	1,451	0,471	0,653	0,237
С. Донец	З	112	100	18,000	5,271	1,920	0,431	0,722	0,423
	Ю	171	100	22,571	7,510	2,269	0,509	0,813	0,383
Оскол	З	171	100	22,000	6,865	2,245	0,506	0,820	0,394
	Ю	85	100	20,000	8,363	2,320	0,539	0,843	0,375
Айдар	З	56	100	14,714	4,043	1,746	0,467	0,681	0,354
	Ю	10	100	4,857	3,064	1,109	0,443	0,545	0,223
Т. Сосна	З	20	100	7,000	3,976	1,436	0,471	0,677	0,353
	Ю	2	-	-	-	-	-	-	-
Дон	З	7	100	3,286	2,410	0,961	0,429	0,548	0,284
	Ю	5	100	3,429	2,720	1,027	0,429	0,571	0,241
Обобщенные данные	З		100	24,429± 3,585	7,280± 1,286	2,288± 0,214	0,484± 0,055	0,823± 0,041	0,422± 0,049
	Ю		100	24,571± 3,631	7,777± 1,447	2,337± 0,211	0,514± 0,065	0,833± 0,038	0,395± 0,062

Так, в группе популяций «Ворскла» достоверные изменения частот аллелей отмечены во всех локусах изоферментов. Кроме того, подобный «дрейф» был зафиксирован по отдельным локусам в группе популяций «Северский Донец» – EST-1 и «Айдар» – LDH-3. Выявленные изменения, вероятно, указывают на селективные преимущества одних аллелей над другими.

Частота аллелей изоферментных маркеров двух возрастных групп

Локус	Аллель	Частота аллеля	
		Половозрелые	Ювенильные
Ворскла			
EST-1	1	0,300	0,121*
	2	0,500	0,207*
	3	0,200	0,672*
EST-2	1	0,400	0,489*
	2	0,067	0,109*
	3	0,533	0,402*
LDH-3	1	0,300	0,261*
	2	0,267	0,217*
	3	0,433	0,522*
С. Донец			
EST-1	1	0,339	0,214*
	2	0,102	0,143*
	3	0,558	0,643*
EST-2	1	0,763	0,714
	2	0,170	0,179
	3	0,067	0,107
LDH-3	1	0,313	0,375
	2	0,406	0,375
	3	0,281	0,250
Оскол			
EST-1	1	0,271	0,275
	2	0,118	0,123
	3	0,612	0,602
EST-2	1	0,529	0,588
	2	0,088	0,111
	3	0,382	0,301
LDH-3	1	0,400	0,436
	2	0,318	0,289
	3	0,282	0,275
Айдар			
EST-1	1	0,500	0,277
	2	0,200	0,313
	3	0,300	0,411
EST-2	1	0,500	0,455
	2	0,100	0,295
	3	0,400	0,250
LDH-3	1	0,550	0,268*
	2	0,150	0,259*
	3	0,300	0,473*
Дон			
EST-1	1	0,400	0,429
	2	0,200	0,286
	3	0,400	0,286
EST-2	1	0,000	0,357
	2	0,400	0,357
	3	0,600	0,286
LDH-3	1	0,500	0,286
	2	0,200	0,071
	3	0,300	0,643

Примечание: * – статистически значимые отличия частот аллелей между группами половозрелых и неполовозрелых особей, χ^2 при $p < 0,05$

Кроме того, учитывая действие естественного отбора, отмеченные возрастные изменения частот аллелей могут быть следствием явления иного рода, а именно потоком взрослых мигрантов из других популяций (см. рис. 6.7, §6.1), которые приносят с собой дополнительные аллели, тем самым изменяя их частоту. Это еще раз подтверждает высказанное нами предположение относительно панмиктической природы большинства изученных групп лягушек.

По уровню генетического разнообразия по аллелимам в половозрелой группе наблюдается статистически значимое увеличение среднего числа аллелей на локус (A), индекса Шеннона (I) и ожидаемой гетерозиготности (He) только в группе популяций «Айдар» (табл. 6.7). Во всех остальных случаях, включая данные по обобщенным группам, достоверные отличия между возрастными группами не выявлены.

Несколько иная картина распределения частот аллелей в возрастных группах наблюдается по данным микросателлитных маркеров ДНК (табл. 6.8, табл. прил. 6).

Статистически значимые отличия частот аллелей по всем популяциям были выявлены в 3-х из 7-ми локусов, а именно: Res17, Rrid059A, Rrid082A. При этом только в группе популяций из бассейна реки Северский Донец выявлено достоверное изменение частот аллелей по всем 7-ми микросателлитным локусам. Подобное расхождение частот аллелей наблюдается в группе популяций реки Оскол, в которой достоверные различия распределения частот аллелей зафиксированы во всех локусах, за исключением Res15. Значительное изменение частот аллелей в указанных популяциях также может быть вызвано либо активными миграциями взрослых особей, либо изменением численности популяций, под действием антропогенного пресса. Реки Северский Донец и Оскол протекают по центральной части Белгородской области, в которой сосредоточена большая часть промышленности региона, а в северо-восточной части значительное

влияние оказывают горно-обогатительные комбинаты, что, вероятно, обуславливает сокращение численности популяций к моменту полового созревания и, как следствие, изменение частот аллелей.

В отношении уровня генетической изменчивости получена аналогичная картина с аллозимами. Достоверные отличия между возрастными группами вывалены только в группе популяций «Айдар» (табл. 6.8).

Таким образом, полученные данные расширяют представления о популяционной структуре *Pelophylax esculentus* complex, как сложного гибридогенного комплекса. По результатам анализа генетической структуры в районе исследования на основе изоферментов и микросателлитных маркеров наблюдается высокий уровень генетического разнообразия, который обусловлен преобладанием в регионе исследования гибридных и интрогрессивных особей, что является адаптивной реакцией популяций на нестабильные условия среды обитания. Проведенный анализ главных компонент на основе генетических дистанций Неи, F-статистика Райта, анализ миграционной сети в комплексе свидетельствуют о свободных миграциях, вызванных естественными причинами и антропогенными факторами.

ГЛАВА 7. ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ПОПУЛЯЦИЙ *P. RIDIBUNDUS* В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЛАНДШАФТОВ

На заключительном этапе нашей работы мы оценили уровень повреждения ядерной ДНК в популяциях криптических форм *P. ridibundus* методом ДНК-комет.

Известно, что антропогенное загрязнение водных объектов представляет собой серьезную проблему (McGlashan, Hughes, 2001). Поллютанты, попавшие в водные биотопы, приводят к геохимическим изменениям (Reid et al., 2018). Немаловажен тот факт, что некоторые загрязнители представляют собой мутагены, которые вызывают нарушения в структуре нуклеиновых кислот. Вызванные нарушения в структуре ДНК могут иметь отдаленные последствия, которые скажутся на жизнедеятельности последующих поколений (Bickham et al., 2000; Bolognesi, Hayashi, 2010).

Из существующих методов оценки степени повреждения ДНК в виду простоты и высокой чувствительности наибольшее распространение получил метод ДНК-комет (Comet assay) (Ostling, Johanson, 1984; Gajski et al., 2020). Для достоверной оценки воздействия генотоксичных загрязнителей применяют различные виды биоиндикаторы. Важным условием при этом является их способность накапливать поллютанты в тканях и приуроченность к определенной местности (Снегин и др., 2011). Данным требованиям полностью отвечают гидробионты (Russo et al., 2004), в частности бесхвостые земноводные (Zhelev et al., 2020).

Ввиду высокой чувствительности метода и необходимостью проведения эксперимента в день сбора, отбор животных проводили г. Белгороде и его окрестностях. Сбор проведен в 6 локалитетах, которые отличались уровнем антропогенного пресса (рис. 7.1).

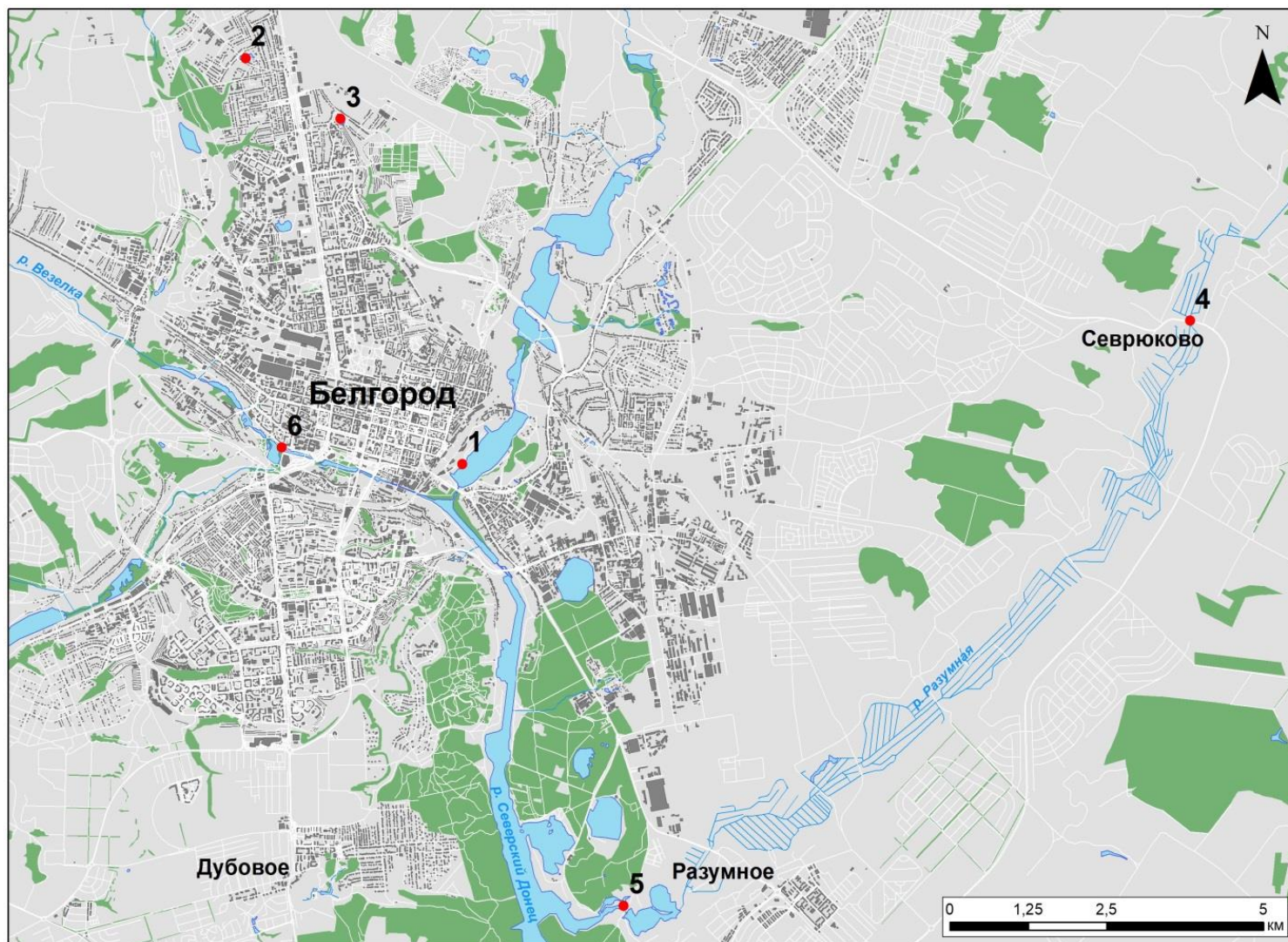


Рис. 7.1. Пункты сбора *Pelophylax ridibundus*: 1. «Северский Донец»; 2. «Оскочное»; 3. «Ячевский»; 4. «Севрюково»; 5. «Устье»; 6. «Везелка»

Согласно данным, представленным в таблице 7.1, наивысшее значение ИДК зарегистрировано в пункте «Устье», а наименьшее – в популяции «Севрюково». Кроме того, нами зафиксированы клетки, находящиеся в состоянии апоптоза (табл. 7.1, рис. 7.3).

Таблица 7.1

Средние значения ИДК ($M \pm n$) в исследуемых локалитетах

Пункт	С. Донец	Ячевский	Оскочное	Севрюково	Устье	Везелка
ИДК	0,454± 0,049	0,186± 0,038	0,472± 0,061	0,057± 0,011	0,521± 0,098	0,416± 0,031
N	512	506	520	585	521	523
Na	7	-	4	-	9	6

Примечание: ИДК – индекс ДНК комет, N – количество проанализированных ядер; Na – количество клеток в состоянии апоптоза.

В результате исследования нами были отмечены клетки с различным уровнем повреждения ДНК, представленными на рисунках 7.2 и 7.3.

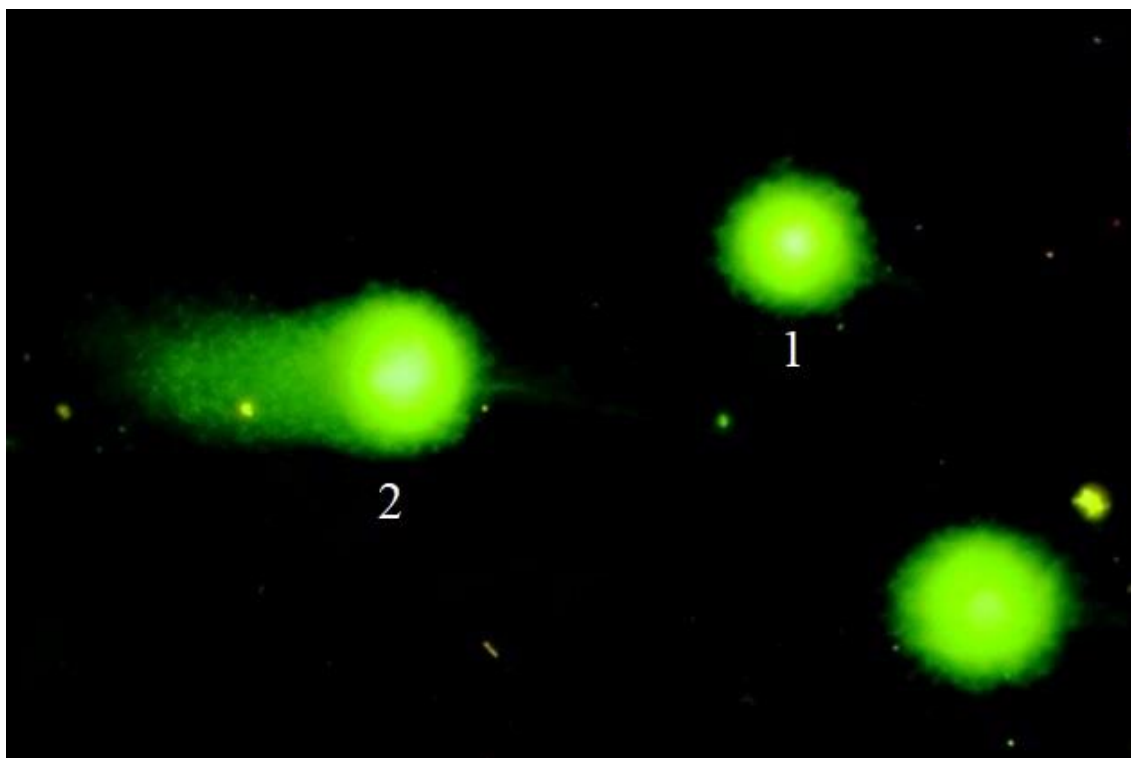


Рис. 7.2. Клетки с различной степенью поврежденности ДНК.

1 – Неразрушенная клетка. 2 – Вторая стадия разрушения

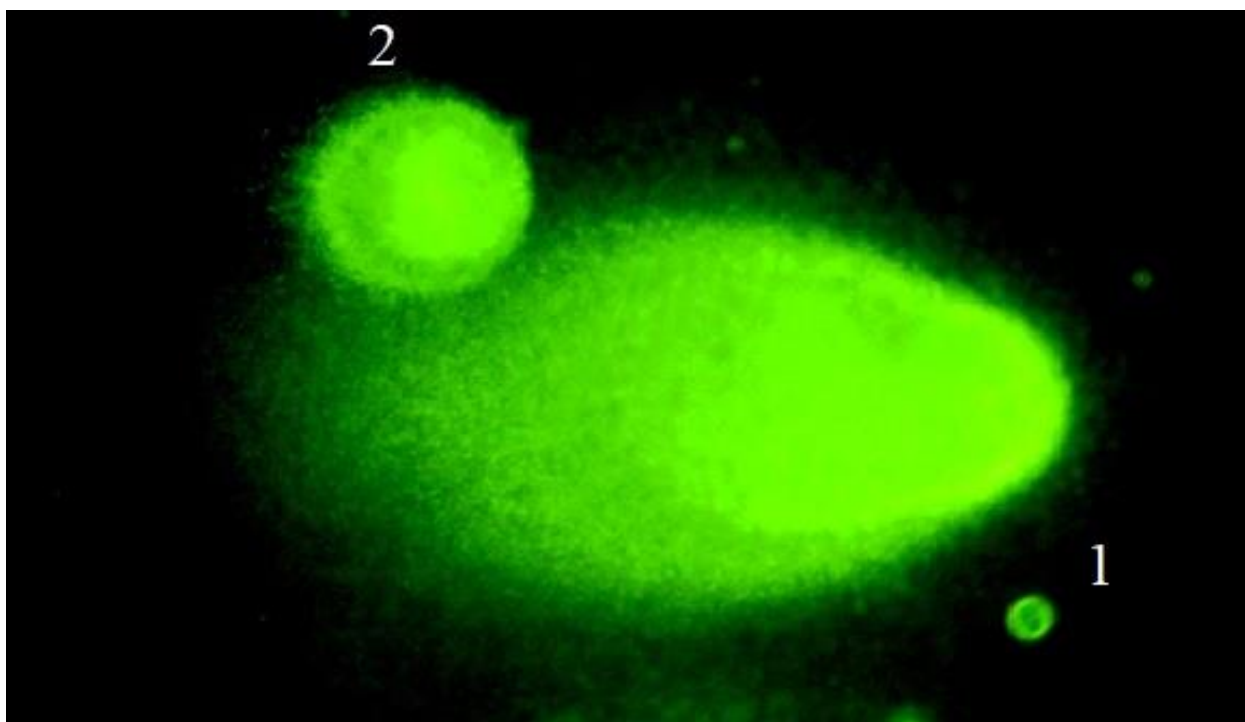


Рис. 7.3. Клетка в состоянии апоптоза.

1 – Клетка в состоянии апоптоза. 2 – Неразрушенная клетка

Несмотря на сильную антропогенную нагрузку в исследуемых популяциях наблюдается незначительный уровень повреждения ДНК. Данный факт может свидетельствовать об эффективной работе репаративной системы озерных лягушек. Тем не менее, значения индекса ДНК комет позволили ранжировать уровень разрушения ДНК в исследуемых группах лягушек в зависимости от степени загрязнения, что подтверждается результатом однофакторного дисперсионного анализа, представленного в таблице 7.2 и попарного сравнения средних значений ИДК сравниваемых выборок (табл. 7.3).

Согласно данным, представленным в таблице 7.1 наблюдается значительное дистанцирование группы «Севрюково», которая находится на удалении от промышленной части города (рис. 7.1). В данном пункте отмечено минимальное значение ИДК и отсутствуют клетки, находящиеся в состоянии апоптоза. Любопытно, что в локалитете «Устье», несмотря на его удаленность от урбанизированных территорий (рис. 7.1), отмечено наибольшее количество поврежденных клеток.

Таблица 7.2

Результат однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)
значений ИДК

Источник вариации	SS	df	MS	F	P-значение	F критическое
Между группами	0,865	5	0,173	9,876	$3,172 \times 10^{-5}$	2,621
Внутри групп	0,421	24	0,017			

Таблица 7.3

Попарные сравнения средних значений ИДК
исследуемых популяций

	«Сев. Донец»	«Ячевский»	«Оскочное»	«Севрюково»	«Устье»	«Везелка»
«Сев. Донец»						
«Ячевский»	14,609*					
«Оскочное»	0,125	15,884*				
«Севрюково»	47,332*	10,555*	45,642*			
«Устье»	0,503	9,964*	0,198	21,688*		
«Везелка»	0,147	21,115*	0,611	120,076*	1,011	

Примечание: * – статистически значимые отличия при $p < 0,05$.

Вне всякого сомнения, генотоксичным воздействием обладают различные химические соединения, которые образуются при производстве в различных видах промышленности (Engström et al., 2015). К ним относят ряд полициклических ароматических углеводородов, тяжелые металлы, а также оксиды серы, углерода и азота (Дурнев, 1998; Koedrith et al., 2013; Tamir et al., 1996). Ввиду отсутствия возможности провести гидрохимический анализ воды для выявления генотоксичных поллютантов, мы проанализировали данные по загрязнению поверхностных вод из доступных литературных источников.

В результате анализа литературных данных мы выявили динамику в части

азотного загрязнения рек Северский Донец, Везелка и Разумная в пределах Белгородского района (Марыныч и др., 2018; Стороженко и др., 2019; Киселев, Корнилов, 2019). Стоит отметить, что широко распространенные соли азотной кислоты, в частности, нитраты, в процессе биохимических реакций превращаются в генотоксичные нитриты, а в кислой среде желудка могут образовываться нитрозосоединения, относящиеся к классу супермутагенов (Колясникова, 2019).

Согласно данным гидрохимического анализа в промышленном районе города (пункт «Северский Донец»), в котором находится железнодорожный узел, зафиксировано одно из самых высоких значений ИДК – 0,454. При этом в указанном локалитете, отмечается незначительное содержание нитратов и составляет в среднем 1,61 мг/л, что не превышает предельно допустимую концентрацию 40 мг/л. Однако содержание нитритов в данной реке колебалось от 0,654 до 0,695 мг/л, что превышает значения ПДК (0,08 мг/л) в 8 раз. Стоит отметить, что в указанной реке по данным исследований отмечается рост содержания нитратов. Также высокий уровень повреждения ДНК отмечен в пункте «Везелка», значение ИДК при этом составляет 0,416. В одноименной реке наблюдается варьирование концентрации нитритов от 0,483 до 1,583 мг/л, что практически в 20 раз превышает значение ПДК нитритов; нитратов (NO_3) от 1,144 до 6,349 мг/л.

Наибольшее количество поврежденных ядер нами было зарегистрировано в устье реки Разумная (пункт «Устье»), где отмечено самое высокое значение ИДК – 0,521. При предельно допустимой концентрации 0,08 мг/л у NO_2 в данной реке показатели варьируют с 0,124 мг/л до 0,259 мг/л, что превышает ПДК более чем в 3 раза. Подобные значения загрязнителей в устье реки Разумная связаны с тем, что значительная часть водосборной территории этой реки занята «не канализованной» частной застройкой, а также сельскохозяйственными угодьями. В связи с этим наблюдается рост уровня загрязнения по мере течения реки от истока к устью, где она впадает в реку Северский Донец.

Пункт «Севрюково», находящийся в верховье реки Разумная, характеризуется интенсивным течением. Это обстоятельство обуславливает процесс самоочищения реки. В дальнейшем течение реки становится спокойным, наряду с этим она переходит в зону интенсивной городской застройки с высокой долей промышленных предприятий, где городские территории вносят свой вклад в загрязнение водной среды вплоть до устья. Данный факт объясняет наибольшее количество поврежденных ядер у исследованных особей в пункте «Устье», несмотря на его удаленность от промышленного района города.

Стоит отметить, что достоверные отличия средних значений ИДК были выявлены между географически близкими пунктами, например, между прудами «Оскочное» и «Ячевский». Причиной является локальное загрязнение пруда «Оскочное».

Выявленное повышение степени разрушения ДНК в градиенте антропогенного пресса г. Белгорода и его окрестностей свидетельствует о негативном влиянии поллютантов на наследственный аппарат. Это должно вызывать озабоченность природоохранных структур, так как с большой долей вероятности можно утверждать, что подобные изменения могут затрагивать популяции других менее устойчивых гидробионтов, что негативно скажется на биоразнообразии региона в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют об активных адаптационных изменениях в популяционной структуре средневропейских зеленых лягушек в районе исследования. Деграция водных объектов, вызванная абиотическими и антропогенными факторами, вынуждает земноводных мигрировать в соседние водоемы, в которых происходит гибридизация представителей данного комплекса. Интрогрессивные и гибридные формы озерной лягушки, а также гибридные особи съедобной, обладая большей экологической пластичностью и толерантностью к антропогенному прессу, вытесняют популяции *P. lessonae*. Исходя из вышеизложенного, считаем о необходимости включения пудовой лягушки (*P. lessonae*) в региональную Красную книгу Белгородской области.

Влияние факторов окружающей среды вызывают также изменение морфологической структуры популяций *Pelophylax esculentus* complex. Полагаем, что изменчивость морфометрических признаков является следствием генетической гетерогенности популяций. Тем не менее, значительное влияние на популяционную структуру комплекса средневропейских зеленых лягушек оказывают именно антропогенные факторы. В градиенте антропогенного пресса прослеживается снижение индекса печени, изменение частот фенотипов и возрастание доли редких морф. Высокий уровень генетического разнообразия объясняется преобладанием в регионе исследования гибридных и интрогрессивных особей, что является адаптивной реакцией популяций на нестабильные условия среды обитания.

Доминирующие в районе исследования популяционные системы R и RE типа обладают высокой жизнеспособностью, что подтверждается генетической гетерогенностью, высоким значением эффективной численности, а также высокой активностью клеточных систем репарации. Тем не менее, продолжающаяся деграция водных объектов в будущем может привести к дальнейшему обеднению видового состава герпето-батрахофауны региона.

ВЫВОДЫ

1. В регионе исследования выявлены две криптические формы озерной лягушки «восточная» и «западная», при этом доминируют гаплотипы «западной» формы (*P. ridibundus*). Для съедобной лягушки диагностированы четыре из шести возможных генетических вариантов: R_{mt}/R_nL_n , B_{mt}/R_nL_n , R_{mt}/B_nL_n , B_{mt}/B_nL_n . При этом стоит отметить, что в изучаемых популяциях отсутствуют гаплотипы *P. lessonae*, а выявленная у единственной особи прудовой лягушки интрогрессия митохондриальной ДНК восточной формы (*P. cf. bedriagae*) может являться продуктом гибридизации. Отсутствие в общей выборке особей *P. lessonae* свидетельствует об угнетенном состоянии популяции прудовой лягушки и необходимости ее включения в региональную Красную книгу Белгородской области.

2. Изменчивость морфометрических признаков *P. ridibundus* в значительной степени обусловлена генетической особенностью популяций, а именно присутствием в регионе исследования ряда криптических форм и их гибридов.

3. В условиях антропогенного пресса в популяциях *Pelophylax esculentus* complex наблюдается снижение фенотипического разнообразия и возрастание доли редких морф.

4. В условиях высокого уровня урбанизации отмечается снижение индекса печени, что свидетельствует о значительных энергетических затратах, направленных на детоксикацию загрязнителей. При этом изменения индексов сердца и почек не зависят от степени антропогенной нагрузки.

5. В популяциях комплекса средневропейских зеленых лягушек в районе исследования на основе изоферментов и микросателлитных маркеров наблюдается высокий уровень генетического разнообразия. Результаты анализа генетической структуры популяций *P. esculentus* complex свидетельствуют об интенсивных миграциях.

6. Значительная часть изучаемых популяций комплекса средневропейских зеленых лягушек обладает высоким уровнем жизнеспособности, что

подтверждается высокими значениями их эффективной численности.

7. Возрастные изменения частот аллелей и показателей генетического разнообразия в популяциях является следствием естественного отбора, интенсивных миграций взрослых особей, а также сокращения численности исследуемых групп под действием антропогенных факторов.

8. Значения индекса ДНК-комет во всех изученных группах, несмотря на генотоксичные загрязнения, не превышает первого уровня разрушения, что свидетельствует об интенсивных репаративных процессах, протекающих в организмах лягушек, что также говорит о высоком уровне жизнеспособности популяций *P. ridibundus*, обитающих на урбанизированных территориях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авраменко, П.М. Природные ресурсы и окружающая среда Белгородской области / П.М. Авраменко, П.Г. Акулов, Ю.Г. Атанов; под ред. С.В. Лукина. – Белгород: Белгород, 2007. – 556 с.
2. Агроклиматические ресурсы Белгородской области. – Л., Управление гидрометеорологич. службы Центр.-Чернозем. областей, 1972. – 92 с.
3. Акимов, Л.М. Анализ жесткости климатических условий Белгородской области в зимний период / Л.М. Акимов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: География. Геоэкология. – 2012. – № 2. – С. 76-80.
4. Алтухов, Ю.П. Генетические процессы в популяциях / Ю.П. Алтухов. – М.: ИКЦ Академкнига, 2003. – 431 с.
5. Ананьева, Н.Б. Класс Амфибии, или Земноводные – Amphibia / Н.Б. Ананьева, Л.Я. Боркин, И.С. Даревский, Н.Л. Орлов. – Энциклопедия природы России: Земноводные и пресмыкающиеся. – М.: АВФ, 1998. – 576 с.
6. Антимонов, Н.А. Природа Белгородской области / Н.А. Антимонов. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2003. – 140 с.
7. Артемчук, О.Ю. Популяционная структура адвентивного вида *Helix pomatia* L. в условиях юго-восточной части ареала: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / О.Ю. Артемчук. – Белгород, 2018. – 176 с.
8. Банников, А.Г. Определитель земноводных и пресмыкающихся СССР / А.Г. Банников, И.С. Даревский, В.Г. Ищенко, А.К. Рустамов. – М.: Просвещение, 1977. – 415 с.
9. Барабанова, О.А. Экология: курс лекций / О.А. Барабанова, И.Н. Безкоровайная, Е.Б. Бухарова, Е.Н. Заворуева и др. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2010. – 325 с.
10. Бардов, В.Г. Здоровье населения как критерий качества окружающей среды / В.Г. Бардов // Медицинская география на пороге XXI века: Материалы X Всерос. конф. с междунар. участием. – СПб.: РГО, 1999. – С. 58-60.

11. Бархатов, А.С. Морфогенетическая структура популяций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* Белгородского района: магистерская диссертация / А.С. Бархатов; науч. рук. Э.А. Снегин. – Белгород, 2017. – 70 с.

12. Бархатов, А.С. Фенотипическая структура популяций *Pelophylax esculentus* complex в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности / А.С. Бархатов, Э.А. Снегин // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2021. – № 3. – С. 68-84.

13. Бархатов, А.С. Генетическая структура популяций комплекса зеленые лягушки (*Pelophylax esculentus* complex) на территории юга Среднерусской возвышенности / А.С. Бархатов, Э.А. Снегин, С.Р. Юсупов // Экологическая генетика. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 107-119.

14. Беляева, Л.Н. Экологические последствия аграрного природопользования в Центрально-Черноземном районе / Л.Н. Беляева // Проблемы региональной экологии. – 2004. – № 1. – С. 81-86.

15. Борисовский, А.Г. Морфометрическая характеристика зеленых лягушек (комплекс *Rana esculenta*) в Удмуртии / А.Г. Борисовский, Л.Я. Боркин, С.Н. Литвинчук, Ю.М. Розанов // Вестник Удмуртского университета. – 2000. – № 5. – С.70-75.

16. Боркин, Л.Я. Анализ внутривидового полиморфизма по признаку «striata» и его корреляция с размерными признаками у остромордой лягушки *Rana arvalis* Nilsson / Л.Я. Боркин // Труды ЗИН. – 1979. – Вып. 89. – С. 17-22.

17. Боркин, Л.Я. Сетчатое (гибридогенное) видообразование у позвоночных / Л.Я. Боркин, И.С. Даревский // Журн. общей биол. – 1980. – Т. 41, № 4. – С. 485-506.

18. Боркин, Л.Я., Гибридизация, видообразование и систематика животных / Л.Я. Боркин, С.Н. Литвинчук // Труды Зоологического института РАН. – 2013. – Приложение № 2. – С. 83-139.

19. Боркин, Л.Я. Некоторые аспекты морфологической изменчивости полиморфизма окраски, роста, структуры популяции и суточной активности *Rana*

lessonae на северной границе ареала / Л.Я. Боркин, Н.Д. Тихенко // Труды зоологического института АН СССР. – Т. 89. Экология и систематика амфибий и рептилий. Л., 1979. – С. 18-54.

20. Буракова, А.В. Морфофизиологические особенности остромордой лягушки *R. arvalis* Nilss. в зонах с разным уровнем антропогенного воздействия / А.В. Буракова // Материалы конф. молодых ученых «Биосфера Земли: прошлое, настоящее, будущее». – Екатеринбург, 2008. – С. 33-39.

21. Бутов, Г.С. Особенности питания земноводных и пресмыкающихся в антропогенных биотопах г. Воронежа / Г.С. Бутов, Л.Н. Хицова // Вестн. Воронежского университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2003. – № 2. – С. 108-115.

22. Вершинин, В.Л. Некоторые особенности фенетической структуры группировок остромордой лягушки в условиях промышленного города / В.Л. Вершинин // Влияние условий среды на динамику структуры и численности популяций животных. Свердловск. – 1987. – С. 74-79.

23. Вершинин, В.Л. Морфологические аномалии амфибий городской черты // Экология. – 1989. – № 3. – С. 58-66.

24. Вершинин, В.Л. О встречаемости морфы стриата у озерной лягушки на городской территории / В.Л. Вершинин // Фенетика природных популяций. – М.: Наука, 1990. – С. 44.

25. Вершинин, В.Л. Морфофизиологические особенности сеголеток бурых лягушек на городских территориях / В.Л. Вершинин // Животные антропогенных ландшафтов. – Екатеринбург: УрО РАН. – 1992. – С. 3-11.

26. Вершинин, В.Л. Экологические особенности популяций амфибий урбанизированных территорий: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.16 / В.Л. Вершинин. – Екатеринбург, 1997. – 47 с.

27. Вершинин, В.Л. Морфа *Striata* и ее роль в путях адаптациогенеза рода *Rana* в современной биосфере / В.Л. Вершинин // Докл. Академии наук. – 2004. – Т. 396, № 2. – С. 280-282.

28. Вершинин, В.Л. Биота урбанизированных территорий / В.Л. Вершинин. – Екатеринбург, 2007. – 73 с.

29. Вершинин, В.Л. Морфа *striata* у представителей рода *Rana* (amphibia, Anura) – причины адаптивности к изменениям среды / В.Л. Вершинин // Журнал общей биологии. – 2008. – Т. 69, № 1. – С. 65-71.

30. Вершинин, В.Л. Митохондриальная гетероплазмия у озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771) / В.Л. Вершинин, И.А. Ситников, С.Д. Вершинина, А.Г. Трофимов, А.А. Лебединский, И.И. Миура // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 8. – С. 972-977.

31. Воронцов, Н.Н. Эволюция, видообразование, система органического мира: Избр. тр. / Н.Н. Воронцов; отв. ред. Е.А. Ляпунова. – М.: Наука, 2005. – 365 с.

32. Галимская, К.К. География Белгородской области / К.К. Галимская, Л.И. Родникова. – Воронеж: Центр-Черноземное кн. изд-во, 1986. – 111 с.

33. Галинская, Т.В. Предубеждения о микросателлитных исследованиях и как им противостоять / Т.В. Галинская, Д.М. Щепетов, С.Н. Лысенков // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 6. – С. 1-16.

34. Ганеев, И.Г. О некоторых аспектах экологии и полиморфизме рисунка озерной лягушки на северо-востоке ареала / И.Г. Ганеев // Вопросы герпетологии. – Л.: Наука, 1981. – С. 34-35.

35. География Белгородской области / Под общ. ред. Г.Н. Григорьева. – Белгород: Изд-во БелГУ, 1996. – 144 с.

36. Географический атлас Белгородской области: природа, общество, хозяйство: учеб.-справ. картограф. пособие / отв. ред. А. Г. Корнилов. – Белгород: БелГУ, 2017. – 200 с.

37. Голеусов, П.В. География Белгородской области / П.В. Голеусов; науч. ред.: А.Н. Петин, Н.В. Чугунова, О.В. Гаврилов. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во Московского ун-та, 2008. – 135 с.

38. Дгебуадзе, Ю.Ю. Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100) / Ю.Ю. Дгебуадзе, В.Г. Петросян, Л.А. Хляп. – М.: Т-во научных изданий КМК, 2018. – 688 с.

39. Дегтярь, А.В. Экология Белогорья в цифрах: монография / А.В. Дегтярь, О.И. Григорьева, Р.Ю. Татаринцев. – Белгород: КОНСТАНТА, 2016. – 122 с.

40. Дедух, Д.В. Элиминация и эндорепликация геномов в ходе гаметогенеза у межвидовых гибридных лягушек комплекса *Pelophylax esculentus*: дис. ... канд. биол. наук: 03.03.04 / Д.В. Дедух. – Санкт-Петербург, 2016. – 165 с.

41. Дедух, Д.В. Методические подходы к изучению комплекса средневропейских зеленых лягушек *Pelophylax esculentus* / Д.В. Дедух, А.В. Красикова // Генетика. – 2017. – Т. 53, № 8. – С. 885-894.

42. Дурнев, А.Д. Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействий) / А.Д. Дурнев, С.Б. Середин. – М.: Медицина, 1998. – 328 с.

43. Дурнев, А.Д. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений: Методические рекомендации / А.Д. Дурнев, А.К. Жанатаев, Е.А. Анисина и др.; Российская академия медицинских наук, Российская академия сельскохозяйственных наук. – М.: Издание официальное, 2006. – 29 с.

44. Ермаков, О.А. Диагностика и распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s.l. в Пензенской области (по данным анализа гена COI мтДНК) / О.А. Ермаков, М.М. Закс, С.В. Титов // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2013. – Т. 18, № 6–1. – С. 2999-3002.

45. Ермаков, О.А. Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. l. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) / О.А. Ермаков, А.И. Файзулин, М.М. Закс, Э.И. Кайбелева, Ф.Ф. Зарипова // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – Т. 16, № 5(1). – С. 409-412.

46. Ермохин, М.В. Размерно-весовая и половая структура популяций *Pelophilax ridibundus* и *bombina bombina* (Amphibia, Anura) в пойме Р. Медведица (Саратовская область) / М.В. Ермохин, В.Г. Табачишин, Г.А. Иванов // Современная герпетология. – 2017. – № 1/2. – С. 10-20.

47. Животовский, Л.А. Показатель сходства популяций по полиморфным признакам / Л.А. Животовский // Журнал общей биологии. – 1979. – Т. 40, № 4. – С. 587-602.

48. Животовский, Л.А. Популяционная биометрия / Л.А. Животовский. – М.: Наука, 1991. – 276 с.

49. Жукова, Т.И. Некоторые популяционные характеристики озерной лягушки при обитании в чистом и загрязненном пестицидами водоемах / Т.И. Жукова, Т.Ю. Пескова // Тез. докл. 4-й Междунар. (7-й Всерос.) науч.-практ. конф. «Экология и охрана окружающей среды». – Рязань, 1998. – С. 34-35.

50. Закс, М.М. Экология зеленых лягушек (*Rana esculenta* complex) Пензенской области: распространение, популяционная изменчивость, влияние антропогенных факторов: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / М.М. Закс. – Пенза, 2013. – 20 с.

51. Замалетдинов, Р.И. Фенотипическая структура популяций зеленых лягушек на урбанизированных территориях / Р.И. Замалетдинов // Поволжский экологический журнал. – 2002. – № 2. – С. 163-165.

52. Замалетдинов, Р.И. Молекулярно-генетическая характеристика лягушек *Pelophylax esculentus* комплекса на восточной периферии ареала (Поволжье, Республика Татарстан) / Р.И. Замалетдинов, А.В. Павлов, М.М. Закс, А.Ю. Иванов, О.А. Ермаков // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2015. – № 3(31). – С. 54-66.

53. Зарипова, Ф.Ф., Юмагулова Г.Р., Файзулин А.И. Характеристика состояния популяции озерной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura, Amphibia) в Республике Башкортостан по полиморфизму рисунка окраски спины /

Ф.Ф. Зарипова, Г.Р. Юмагулова, А.И. Файзулин // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 78-82.

54. Зарипова, Ф.Ф. Эколого-фаунистическая характеристика земноводных урбанизированных территорий Республики Башкортостан: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08: Ф.Ф. Зарипова. – Тольятти, 2012. – 20 с.

55. Зарипова, Ф.Ф. Характеристика морфофизиологических показателей популяций озерной лягушки *Rana ridibunda* (Anura, amphibia) урбанизированных территорий Республики Башкортостан / Ф.Ф. Зарипова, А.И. Файзулин // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14, № 5. – С. 145-149.

56. Зарипова, Ф.Ф. Характеристика состояния популяции озерной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura, Amphibia) в Республике Башкортостан по полиморфизму рисунка окраски спины / Ф.Ф. Зарипова, Г.Р. Юмагулова, А.И. Файзулин // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 78-82.

57. Иванов, А.Ю. Молекулярно-генетические и экологические особенности распространения криптических форм озерной лягушки в восточной части ареала: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / А.Ю. Иванов. Пенза, 2019. – 137 с.

58. Иванова, О.И. Введение в природообустройство: учебное пособие / О.И. Иванова. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2021. – 88 с.

59. Иорданский, Н.Н. Эволюция жизни / Н.Н. Иорданский. – М.: Академия, 2001. – 425 с.

60. Ищенко, В.Г. Динамический полиморфизм бурых лягушек фауны СССР / В.Г. Ищенко. – М.: Наука, 1978. – 148 с.

61. Киселев, В.В. Геоэкологические аспекты развития современного интенсивного свиноводства на территории Белгородской области / В.В. Киселев, А.Г. Корнилов // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2019. – Т. 43, № 1. – С. 98-108.

62. Ковылина, Н.В. Использование озерной лягушки (*R. ridibunda* Pall.) для оперативной индикации техногенного загрязнения водотоков: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Н.В. Ковылина. Волгоград, 1999. – 139 с.

63. Колясникова, Н.Л. Проблемы генетической безопасности: учебное пособие / Н.Л. Колясникова; М-во с.-х. РФ; ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет им. акад. Д.Н. Прянишникова». – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2019. – 94 с.

64. Корж, А.П. Морфометрические и морфофизиологические показатели зеленых лягушек городской и сельской местности юго-востока Украины / А.П. Корж, В.Ю. Задорожня // Региональные геосистемы. – 2013. – № 3 (146). – С. 72-77.

65. Коршунов, А.В. Экологические закономерности распределения *Pelophylax esculentus complex* в биотопах бассейна верхнего течения реки Северский донец: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / А.В. Коршунов. Днепропетровск, 2010. – 184 с.

66. Красная книга Белгородской области. Редкие и исчезающие растения, лишайники, грибы и животные. – 2-е официальное издание / общ. науч. ред. Ю.А. Присный. – Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ», 2019. – 668 с.

67. Кузовенко, А.Е. Эколого-фаунистическая характеристика амфибий урбанизированных территорий Самарской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / А.Е. Кузовенко. Тольятти, 2018. – 19 с.

68. Кузнецов, Н.А. Белгородская область / Н.А. Кузнецов, К.М. Новоспаский, В.П. Соболев. – Воронеж: Центр.-Черноземное кн. изд-во, 1979. – 259 с.

69. Кузьмин, С.Л. Земноводные бывшего СССР. – 1-е изд. / С.Л. Кузьмин. – М.: Т-во науч. изд. КМК, 1999. – 298 с.

70. Кузьмин, С.Л. Земноводные бывшего СССР. – 2-е изд. / С.Л. Кузьмин. – М.: Т-во науч. изд. КМК, 2012. – 370 с.

71. Кукушкин, О.В. О генетической неоднородности населения озерных лягушек Крыма, выявляемой по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК (*Pelophylax ridibundus* complex; Anura, Ranidae) / О.В. Кукушкин, А.Ю. Иванов, О.А. Ермаков // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2018. – № 3 (23). – С. 32-54.

72. Куфтина, Г.Н. Межвидовая гибридизация у чешуекрылых насекомых: роль митохондриальной интрогрессии в филогении и систематике отдельных групп / Г.Н. Куфтина, Н.А. Шаповал, Р.В. Яковлев // Тез. докладов VII съезда ВОГиСб. Санкт-Петербург, 2019. – С. 1004.

73. Лада, Г.А. О генетическом полиморфизме озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в Центральном Черноземье / Г.А. Лада // Фенетика природных популяций: Материалы IV Всес. совещ. М., 1990. – С. 151-152.

74. Лада, Г.А. Среднеевропейские зеленые лягушки (гибридогенный комплекс *Rana esculenta*): введение в проблему / Г.А. Лада // Флора и фауна Черноземья. Тамбов, 1995. – С. 88-109.

75. Лада, Г.А. Бесхвостые земноводные (Anura) Русской равнины: изменчивость, видообразование, ареалы, проблемы охраны: дис. ... д-ра. биол. наук: 03.02.04 / Г.А. Лада. – Казань, 2012. – 626 с.

76. Лада, Г.А. Изменения популяционных систем зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) на территории Русской равнины / Г.А. Лада // Полевой журнал биолога. – 2021. – № 3 (1). – С. 53-63.

77. Лада, Г.А. Методы исследования земноводных. Научно-методическое пособие / Г.А. Лада, А.С. Соколов. – Тамбов: ТамбГУ, 1999. – 75 с.

78. Лебедева, М.Г. Современные климатические изменения и опасные гидрометеорологические явления на юге Центрально-Черноземного региона (на примере Белгородской области) / М.Г. Лебедева, О.В. Крымская // Проблемы природопользования и экологическая ситуация в Европейской России и сопредельных странах: Материалы V Междунар. науч. конф. – Белгород: КОНСТАНТА, 2013. – С. 281-283.

79. Лебединский, А.А. Об адаптациях амфибий к условиям урбанизированной территории / А.А. Лебединский // Проблемы региональной экологии животных. Тез. докл. Всес. конфер. зоологов пединститутов. – Витебск, 1984. – С. 106.

80. Лебединский, А.А. Некоторые особенности популяции травяной лягушки в связи с ее обитанием на урбанизированной территории / А.А. Лебединский, Е.Н. Поморина // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2008. – № 2. – С. 91–95.

81. Лисецкий, Ф.Н. Реки и водные объекты Белогорья / Ф.Н. Лисецкий, А.В. Дегтярь, Ж.А. Буряк [и др.]. – Белгород: КОНСТАНТА, 2015. – 362 с.

82. Лисецкий, Ф.Н. Природные ресурсы и экологическое состояние Белгородской области: Атлас / Ф.Н. Лисецкий, С.В. Лукин, А.Н. Петин [и др.]. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2005. – 179 с.

83. Ляпков, С.М. Озерная лягушка (*Pelophylax ridibundus*) в термальных водоемах Камчатки / С.М. Ляпков // Зоологический журнал. – 2014. – Т. 93, № 12. – С. 1427-1432.

84. Майр, Э. Зоологический вид и эволюция / Э. Майр. – М.: Мир, 1968. – 598 с.

85. Майр, Э. Популяции, виды и эволюция / Э. Майр. – М.: Мир. 1974. – 460 с.

86. Макеева, В.М. Оценка состояния генофонда природных популяций позвоночных животных в условиях фрагментированного ландшафта Москвы и Подмосковья (на примере бурых лягушек) / В.М. Макеева, М.М. Белоконь, О.П. Малюченко, О.А. Леонтьева // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 5. – С. 628-642.

87. Марыныч, С.Н. Гидрохимическая ситуация на водных объектах разного типа бассейна реки Северский Донец (в части азотного загрязнения) / С.Н. Марыныч, Е.А. Стороженко, А.Г. Корнилов // Эколого-географические исследования в речных бассейнах. – 2018. – С. 212-216.

88. Мильков, Ф.Н. Лесостепь Русской равнины / Ф.Н. Мильков. – М.: Изд-во АН СССР, 1950. – 292 с.

89. Мисюра, А.Н. Влияние отходов предприятий уранодобывающей промышленности на эколого-физиологические показатели земноводных / А.Н. Мисюра, И.Н. Залипуха // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2006. – Т. 2. – С. – 113-117.

90. Мисюра, А.Н. Сравнительная характеристика морфофизиологических показателей представителей батрахофауны из биотопов разной степени загрязнения / А.Н. Мисюра, А.А. Марчинковская // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2007. – № 2. – С. 157–162.

91. Никашин, И.А. Эколого-морфологические признаки популяций озерной лягушки (*Rana ridibunda* Pall.) как средство оценки антропогенного воздействия на водные экосистемы (на примере Липецкой области): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / И.А. Никашин. – Липецк, 2007. – 17 с.

92. Некрасова, О.Д. Межвидовая изменчивость и полиморфизм окраски зеленых лягушек *Rana esculenta* Complex (Amphibia, Ranidae) гибридных популяций / О.Д. Некрасова // Вестник зоологии. – 2001. – Т. 36, № 4. – С. 47–54.

93. Некрич, А.С. Геоэкологическая оценка районов разработки железорудных месторождений Белгородской области: автореф. дис. ...канд геогр. наук: 25.00.36 / А.С. Некрич. – Москва, 2008. – 27 с.

94. Остерман, Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – 288 с.

95. Павлов, Б.К. Генетико-популяционные аспекты оценки реагирования популяций на антропогенные факторы / Б.К. Павлов // Проблемы экологии Прибайкалья. – Иркутск, 1982. – 122 с.

96. Пескова, Т.Ю. Сравнительный анализ реакций трех видов бесхвостых земноводных на загрязнение среды их обитания / Т.Ю. Пескова // Вопросы герпетологии. Пушино. – Москва, 2001. – С. 226-229.

97. Пескова, Т.Ю. Структура популяций земноводных как биоиндикатор антропогенного загрязнения среды / Т.Ю. Пескова. – М.: Наука. – 2002. – 132 с.

98. Петин, А.Н. Природные условия и ресурсы Белгородской области / А.Н. Петин, Л.Л. Новых, В.Н. Квачев [и др.] // Очерки краеведения Белгородчины / Упр. культуры Адм. Белгор. обл., НИИ краеведения; редкол.: В.А. Шаповалов, Н.И. Руднева, С.П. Гринева [и др.]. – Белгород, 2000. – С. 213-262.

99. Петин, А.Н. Экология Белгородской области / А.Н. Петин, Л.Л. Новых, М.А. Петина, Е.Г. Глазунов. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 288 с.

100. Петин, А.Н. Малые водные объекты и их экологическое состояние / А.Н. Петин, Н.С. Сердюкова, В.Н. Шевченко. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2005. – 240 с.

101. Петин, А.Н. Северский Донец: гидрологический режим и экологическое состояние вод: монография / А.Н. Петин, М.А. Петина, Ю.И. Новикова. – Белгород: ИД «Белгород», 2014. – 184 с.

102. Присный, А.В. Животный мир Белгородской области (колл. моногр.) / А.В. Присный, И.Ф. Седин, В.В. Червонный, Ю.А. Присный, А.Ю. Соколов, Б.М. Лобода; под ред. А.В. Присного. – Белгород: Белгородская обл. тип., 2012. – 400 с.

103. Романова, Е.Б. Размерные, возрастные, фенетические, морфофизиологические и цитогенетические характеристики популяций озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) (Amphibia, Ranidae) загрязненных термальных водоемов камчатки / Е.Б. Романова, Е.С. Рябина, С.М. Ляпков // Зоологический журнал. – 2020 – Т. 99, №8. – С. 924-937.

104. Ручин, А.Б. Морфологическая изменчивость, размер генома и популяционные системы зеленых лягушек (*Rana esculenta* Complex) Мордовии / А.Б. Ручин, Л.Я. Боркин, Г.А. Лада, С.Н. Литвинчук, Ю.М. Розанов, М.К. Рыжов // Бюлл. МОИП. – 2005. – Т. 110, Вып. 2. – С. 3-10.

105. Ручин, А.Б. О биотопическом распределении трех видов зеленых лягушек (*Rana esculenta* complex) в бассейне р. Волги / А.Б. Ручин, Г.А. Лада, Л.Я.

Боркин, С.Н. Литвинчук, Ю.М. Розанов, М.К. Рыжов, Р.И. Замалетдинов // Поволж. экол. журн. – 2009. – № 2. – С. 137-147.

106. Рыжов, М.К. Земноводные и пресмыкающиеся республики Мордовия: распространение, распределение, трофические связи и состояние охраны: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / М.К. Рыжов. – Тольятти, 2007. – 19 с.

107. Свинин, А.О. Распространение, типы популяционных систем и морфологическая изменчивость зеленых лягушек гибридогенного *Pelophylax esculentus*-комплекса на северо-востоке их ареалов: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.04 / А.О. Свинин. – Казань, 2015. – 205 с.

108. Свинин, А.О. Синдром аномалии Р у зеленых лягушек: история открытия, морфологические особенности и возможные причины возникновения / А.О. Свинин, О.А., С.Н. Литвинчук, И.В. Башинский // Труды Зоологического института РАН. – Т. 324, № 1. – 2020. – С. 108-123.

109. Свинин, А.О. Распространение и типы популяционных систем зеленых лягушек рода *Pelophylax* Fitzinger, 1843 в Республике Марий Эл / А.О. Свинин, С.Н. Литвинчук, Л.Я. Боркин, Ю.М. Розанов // Современная герпетология. – 2013. – Т. 13, Вып. 3/4. – С. 137-147.

110. Свинин, А.О. Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки, *Pelophylax ridibundus*, и их участие в образовании полуклональных гибридов *P. esculentus* в республике Марий Эл / А.О. Свинин, А.Ю. Иванов, М.М. Закс, С.Н. Литвинчук, Л.Я. Боркин, Ю.М. Розанов, О.А. Ермаков // Современная герпетология. 2015. – Т. 15, № 3/4. – С. 120-129.

111. Северцов, А.С. Эволюционная экология позвоночных животных / А.С. Северцов. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013. – 347 с.

112. Симонян, А.Э. Оценка загрязнения генотоксическими факторами некоторых районов Армении с применением различных биоиндикаторов: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.15 / А.Э. Симонян. – Ереван, 2016. – 108 с.

113. Смирин, Э.М. Методика определения возраста амфибий и рептилий по слоям в кости / Э.М. Смирин // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. – Киев, 1989. – С. 144-153.

114. Снегин, Э.А. Оценка степени повреждения ДНК в популяциях наземных моллюсков урбанизированных ландшафтов Среднерусской возвышенности / Э.А. Снегин, Е.С. Ненашева, О.Ю. Артемчук // Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки. – 2011. – № 21 (116). – С. 26-30

115. Снегин, Э.А. Оценка генетической структуры популяций кустарниковой улитки (*Fruticicola fruticum*) на основе локусов неспецифических эстераз / Э.А. Снегин, Е.А. Снегина, О.Ю. Артемчук // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17, № 4. – С. 15-26.

116. Снегин, Э.А. Оценка цитогенетической стабильности в природных популяциях наземных моллюсков (на основе метода ДНК-комет) / Э.А. Снегин // Онтогенез. – 2014. – Т.45, № 3. – С. 180-186.

117. Снегин, Э.А. Морфогенетическая структура популяций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) в условиях городской среды / Э.А. Снегин, А.С. Бархатов // Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – № 1. – С. 47-53.

118. Снегин, Э.А. Оценка степени повреждения геномной ДНК популяций озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771) Белгородской агломерации методом ДНК-комет / Э.А. Снегин, А.С. Бархатов, В.В. Киселев, С.Р. Юсупов, Е.А. Снегина // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. – 2021. – № 55. – С. 58-76.

119. Созинов, А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / А.А. Созинов. – М.: Наука, 1985. – 272 с.

120. Сорочинская, У.Б. Применение метода ДНК-комет для оценки повреждений ДНК, вызванных различными агентами окружающей среды / У.Б. Сорочинская, В.М. Михайленко // Онкология. – 2008. – Т 10, № 3. – С. 303-309.

121. Спирина, Е.В. Амфибии как биоиндикационная тест-система для экологической оценки водной среды обитания: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.16 / Е.В. Спирина. – Ульяновск, 2007. – 22 с.

122. Стороженко, Е.А. Азотное загрязнение реки Болхолец в период половодья (паводка) в 2019 году / Е.А. Стороженко, С.Н. Марынич, А.Г. Корнилов // Проблемы природопользования и экологическая ситуация в Европейской России и на сопредельных территориях. – 2019. – С. 378-382.

123. Сторожилова, Д.А. Эколого-морфологический анализ популяционной структуры и изменчивости бесхвостых амфибий (*Amphibia*, *Anura*) Северной части Нижнего Поволжья: автореф. дисс... канд. биол. наук: 03.00.16 / Д.А. Сторожилова. – Самара, 2005. – 19 с.

124. Таращук, С.В. Схема морфометрической обработки представителей семейства настоящих лягушек / С.В. Таращук // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. – Киев: Наукова думка. – 1989. – С. 73-74.

125. Терентьев, П.В. К вопросу о взаимоотношении веса и размеров у *Amphibia* / П.В. Терентьев // Известия АН СССР. Серия биол. – 1936. – № 6. – С. 1291-1304.

126. Терентьев, П.В. Корреляции индексов озерной лягушки *Rana ridibunda* Pall. / П.В. Терентьев // Зоологический журнал. – 1943. – Т. 22, № 5. – С. 267-273.

127. Терентьев, П. В. Характер географической изменчивости зеленых лягушек / П.В. Терентьев // Труды Петергофского Биологического института ЛГУ. – 1962. – № 19. – С. 98-121.

128. Терентьев, П.В. Определитель пресмыкающихся и земноводных / П.В. Терентьев, С.А. Чернов. – М.: Советская наука, 1949. – 340 с.

129. Тимофеев-Ресовский, Н.В. Очерк учения о популяции / Н.В. Тимофеев-Ресовский, А.В. Яблоков, Н.В. Глотов. – М.: Наука, 1973. – 277 с.

130. Топоркова, Л.Я. Новый элемент в герпетофауне горно-таежной зоны Среднего Урала / Л.Я. Топоркова // Фауна и экология животных УАССР и прилежащих районов. Ижевск. – 1978. – № 2. – С. 63-65.

131. Топоркова, Л.Я. Становление популяции *Rana ridibunda* / Л.Я. Топоркова // Вопросы герпетологии. – Л., 1985. – С. 212.

132. Файзулин, А.И. Видовой состав и особенности распространения зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) на особо охраняемых природных территориях Среднего Поволжья (Россия) / А.И. Файзулин, Р.И. Замалетдинов, С.Н. Литвинчук, Ю.М. Розанов, Л.Я. Боркин, О.А. Ермаков, А.Б. Ручин, Г.А. Лада, А.О. Свинин, И.В. Башинский, И.В. Чихляев // Nature Conservation Research. Заповедная наука. – 2018. – Т. 3, №1. – С. 1-16.

133. Файзулин, А.И. Влияние техногенного загрязнения тяжелыми металлами и урбанизации на морфофизиологические показатели популяций озерной лягушки *Rana ridibunda* (республика Башкортостан) / А.И. Файзулин, Ф.Ф. Зарипова // Вестник российских университетов. Математика. – 2013. – №3. – С. 834-837.

134. Файзулин, А.И. Характеристика полиморфизма озерной лягушки (*Rana ridibunda*) Самарской Луки / А.И. Файзулин, И.В. Чихляев // Бюл. «Самарская Лука». – 2001. – № 11. – С. 314-318.

135. Файзулин, А.И. О питании прудовой лягушки (*Rana Lessonae*) урбанизированных территорий Среднего Поволжья / А.И. Файзулин, И.В. Чихляев, И.Н. Исаева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 1 – С. 139-143.

136. Файзулин, А. И. Анализ спектра питания озерной лягушки (*Rana ridibunda*) урбанизированных территорий Среднего Поволжья / А.И. Файзулин, И.В. Чихляев, В.А. Кривошеев, А.Е. Кузовенко // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 126-129.

137. Файзулин, А.И. Предварительные данные о молекулярно-генетической структуре *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura, Ranidae) южной части Крымского полуострова, по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК / А.И. Файзулин, О.В. Кукушкин, А.Ю. Иванов, О.А. Ермаков // Современная герпетология. – 2017. – Т. 17, № 1/2. – С. 56-65.

138. Файзулин, А.И. Использование амфибий в мониторинге состояния окружающей среды в условиях Самарской области: фенетическая структура популяций / А.И. Файзулин, А.Е. Кузовенко // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, №1 (3). – С. 829-833.

139. Хижняк, А.А. Приосколье / А.А. Хижняк. – Воронеж: Центр.-Чернозем. кн. изд-во, 1984. – 95 с.

140. Чернявских, В.И. Растительный мир Белгородской области / В.И. Чернявских, О.В. Дегтярь, А.В. Дегтярь, Е.В. Думачева. – Белгород: Белгородская областная типография, 2010. – 471 с.

141. Четвериков, С.С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики / С.С. Четвериков // Журнал экспериментальной биологии. – 1926. – Сер. А, Т. 2, вып. 1. – С. 3-54.

142. Шабанов, Д.А. Зеленые лягушки: жизнь без правил или особый способ эволюции? / Д.А. Шабанов, С.Н. Литвинчук // Природа. – 2010. – № 3. – С. 29-36.

143. Шварц, С.С. Метод морфофизиологических индикаторов экологии животных / С.С. Шварц // Зоол. журн. – 1958. – Т. 37, № 4. – С. 58-63.

144. Шварц, С.С. Динамика генетического состава популяций остромордой лягушки / С.С. Шварц, В.Г. Ищенко // Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы. Отд. биол. – 1968. – Т. 73, № 4. – С. 127-134.

145. Шварц, С.С. Смирнов В. С., Добринский Л. Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // С.С. Шварц, В.С. Смирнов. – Вып. 58. – Свердловск, 1968. – 387 с.

146. Шварц, С.С. Экологические закономерности эволюции / С.С. Шварц. – М.: Наука, 1980. – 278 с.

147. Шмальгаузен, И.И. Факторы эволюции (Теория стабилизирующего отбора) / И.И Шмальгаузен. – М.: Наука, 1968. – 451 с.

148. Щупак, Е.Л. Наследование спинной полосы особями остромордой лягушки / Е.Л. Щупак // Информационные материалы института экологии растений и животных. Свердловск, 1977. – С. 36.

149. Яблоков, А.В. Фенетика / А.В. Яблоков. – М.: Наука, 1980. – 132 с.
150. Abbott, R. Hybridization and speciation / R. Abbott, D. Albach, S. Ansell, J.W. Arntzen, S.J.E. Baird, N. Bierne [et al.] // *J Evol Biol.* – 2013. – V. 26 (2). – P. 229-246.
151. Akin, C.P. Molecular evolution and phylogeography of the Eastern Mediterranean water frog (*Pelophylax*) complex / C.P. Akin // Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. – Ankara: School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, 2015. – 342 p.
152. Akin, C.P. Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs were determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic / C.P. Akin, C.C. Bilgin, P. Beerli, R. Westaway, T. Ohst, S.N. Litvinchuk, T. Uzzell, M. Bilgin, H. Hotz, G.-D. Guex, J. Plötner // *Journal of Biogeography.* – 2010. – V. 37 (11). – P. 2111-2124.
153. Anderson, E. Hybridization as an Evolutionary Stimulus / E. Anderson, G.L. Stebbins // *Evolution.* – 1954. – V. 8, № 4. – P. 378-388.
154. Arnold, M.L. Natural hybridization and evolution. Oxford series in ecology and evolution. / M.L. Arnold. – New York: Oxford University Press, 1997. – 232 p.
155. Arnold, M.L. Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? / M.L. Arnold, S.A. Hodges // *Trends Ecol. Evol.* – 1995. – V. 10. – P. 67-71.
156. Babik, W. Phylogeography of two European newt species – discordance between mtDNA and morphology / W. Babik, W. Branicki, J. Crnobrnja-Isailović, I. Sas, K. Olgun [et al.] // *Molecular Ecology.* – 2005. – V. 14. – P. 2475-249.
157. Ballard, J.W. The incomplete natural history of mitochondria / J.W. Ballard, M.C. Whitlock // *Mol Ecol.* – 2004. – V. 13 (4). – P.729-744.
158. Berger, L. Biometrical studies on the population of green frogs from the environs of Poznan / L. Berger // *Annales Zoologici.* – 1966. – V. 23 (11). – P. 303-324.

159. Berger, L. Morphology of the F1 generation of various crosses within *Rana esculenta* complex / L. Berger // Acta zoologica cracoviensia. – 1968. – V. 13 (13). – P. 301-324.
160. Berger, L. Some characteristics of crosses within *Rana esculenta* complex in postlarval development / L. Berger // Annales Zoologici. – 1970. – V. 27 (17). – P. 373-416.
161. Berger, L. Inheritance of vertebral stripe in *Rana ridibunda* Pall. (Amphibia, Ranidae) / L. Berger, J. Smielowski // Amphibia–Reptilia. – 1982. – V. 3. – P. 145-151.
162. Berger L. European green frogs and their protection / L. Berger. – Ecological Library Foundation. – 2008. – 39 p.
163. Bergthorsson, U. Widespread horizontal transfer of mitochondrial genes in flowering plants / U. Bergthorsson, K.L. Adams, B. Thomason, J.D. Palmer // Nature. – 2003. – V. 424 (6945). – P. 197-201.
164. Bickham, J.W. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology / J.W. Bickham, S. Sandhu, P.D.N. Hebert, L. Chikhi, R. Athwal // Mutation Research. – 2000. – V. 463, № 1. – P. 33-51.
165. Bolognesi, C. Micronucleus assay in aquatic animals / C. Bolognesi, M. Hayashi // Mutagenesis. – 2010. – V. 26. – P. 205-213.
166. Borkin, L.J. Mass occurrence of polyploid green frogs (*Rana esculenta* complex) in eastern Ukraine / L.J. Borkin, A.V. Korshunov, G.A. Lada, S.N. Litvinchuk, J.M. Rosanov, D.A. Shabanov, A.I. Zinenko // Russ. J. Herpetol. – 2004. – V. 11. – P. 194-213.
167. Borkin, L.J. The first record of mass triploidy in hybridogenic green frog *Rana esculenta* in Russia (Rostov Oblast') / J.L. Borkin, G.A. Lada, S.N. Litvinchuk, D.A. Melnikov, J.M. Rosanov // Russian Journal of Herpetology. – 2006. – V. 13 (1). – P. 77-82.

168. Bowcock, A. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites / A. Bowcock, A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J. R. Kidd, L. L. Cavalli-Sforza // *Nature*. – 1994. – V. 368. – P. 455-457.
169. Bullini, L. Origin and evolution of animal hybrid species / L. Bullini // *Trends Ecol. Evol.* – 1994. – V. 9. – P. 422-426.
170. Burlibasa, L. Amphibians as model organisms for study environmental genotoxicity / L. Burlibasa, L. Gavrilá // *Applied Ecology and Environmental Research*. – 2011. – V. 9. – P. 1-15.
171. Christiansen, D.G. A microsatellite-based method for genotyping diploid and triploid water frogs of the *Rana esculenta* hybrid complex / D.G. Christiansen // *Mol. Ecol. Notes*. – 2005. – V. 5 (1). – P. 190-193.
172. Christiansen, D.G. Gamete types, sex determination and stable equilibria of all hybrid populatins of diploid and triploid edible frogs (*Pelophylax esculentus*) / D.G. Christiansen // *BMC Evol. Biol.* – 2009. – V. 9. – P. 1-16.
173. Christiansen, D.G. Reproduction and hybrid load in all-hybrid populations of *Rana esculenta* water frogs in Denmark / D.G. Christiansen, K. Fog, B.V. Pedersen, J.J. Boomsma // *Evolution*. – 2005. – V. 59. – P. 1348-1361.
174. Christiansen, D. G. From clonal to sexual hybrids: genetic recombination via triploids in all-hybrid populations of water frogs / D.G. Christiansen, Reyer H.-U. // *Evolution*. – 2009. – V. 63. – P. 1754-1768.
175. Clements, C. Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (comet) assay / C. Clements, S. Ralph, M. Petras // *Environ. Mol. Mutagen.* – 1997. –V. 29. – P. 277-288.
176. Coyne, J.A. The evolutionary genetics of speciation / J.A. Coyne, H.A. Orr // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 1998. – V. 353(1366). – P. 287-305.
177. Croucher, P.J.P. Mitochondrial differentiation, introgression and phylogeny of species in the *Tegenaria atrica* group (Araneae, Agelenidae) / P.J.P. Croucher, G.S. Oxford, J.B. Searle // *Biological Journal of the Linnean Society*. – 2004. – V. 81. – P. 79-89.

178. Dawley, R.M. Evolution and ecology of unisexual vertebrates / R.M. Dawley, J.P. Bogart. – R- New York State Museum Bulletin 466, New York State Museum, Albany, New York, 1989. – 302 p.

179. Dedukh, D. Variation in hybridogenetic hybrid emergence between populations of water frogs from the *Pelophylax esculentus* complex / D. Dedukh, J. Litvinchuk, A. Svinin, S. Litvinchuk, J. Rosanov, A. Krasikova // PLoS ONE. – 2019 – V. 14 (11). – P. 1-19.

180. Dedukh, D. Parthenogenesis as a solution to hybrid sterility: the mechanistic basis of meiotic distortions in clonal and sterile hybrids / D. Dedukh, Z. Majtanova, M. Psenicka, J. Kotusz, J. Klíma, D. Juchno, A. Boron, K. Janko // Genetics. – 2020 a. – V. 215. – P. 975-987.

181. Dedukh, D. Mutual maintenance of di- and triploid *Pelophylax esculentus* hybrids in R-E systems: results from artificial crossings experiments / D. Dedukh, S. Litvinchuk, J. Rosanov, D. Shabanov, A. Krasikova // BMC Evol Biol. – 2017. – V. 17. – P. 1-15.

182. Dedukh, D. Micronuclei in germ cells of hybrid frogs from *Pelophylax esculentus* complex contain gradually eliminated chromosomes / D. Dedukh, S. Riumin, M. Chmielewska, B. Rozenblut-Kościsty, K. Kolenda, M. Kaźmierczak, A. Dudzik, M. Ogielska, A. Krasikova // Sci Rep. – 2020 b. – №. 10 (8720). – P. 1-13.

183. Do, C. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data / C. Do, R.S. Waples, D. Peel, G.M. Macbeth, B.J. Tillett, J.R. Ovenden // Mol Ecol Resour. – 2014. – V. 14 (1). – P. 209-214.

184. Dubey, S. Multiple origins of invasive and native' water frogs (*Pelophylax* spp.) in Switzerland / S. Dubey, J. Leuenberger, N. Perrin // Biological Journal of the Linnean Society. – 2014. – V. 112 (3). – P. 442-449.

185. Dufresnes, C. Multiple uprising invasions of *Pelophylax* water frogs, potentially inducing a new hybridogenetic complex / C. Dufresnes, M. Denoël, L. di Santo, S. Dubey // Sci Rep. – 2017. – V. 7. – P. 1-10.

186. Ebendal, T. Ploidy and immunological distance in Swedish water frogs (*Rana esculenta* complex) / T. Ebendal, T. Uzzell // *Amphibia-Reptilia*. – 1982. – V. 2. – P. 125-133.

187. Engström, W. The potential for chemical mixtures from the environment to enable the cancer hallmark of sustained proliferative signaling / W. Engström, P. Darbre, S. Eriksson, L. Gulliver, T. Hultman, M.V. Karamouzis, J.E. Klaunig [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2015. – V. 36. – P. 838-860.

188. Erismis, U.C. Evaluation of DNA damage in Eurasian marsh frogs (*Pelophylax ridibundus*) by comet assay for determination of possible pollution in the different lakes in central Anatolia, Turkey / U.C. Erismis, I.H. Cigerci, M. Konuk // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2013. – V. 90. – P. 660-665.

189. Ermakov, O. New multiplex PCR method for identification of East European green frog species and their hybrids / O. Ermakov, A. Ivanov, S. Titov // *Russian Journal of Herpetology*. – 2019. – V. 26, № 6. – P. 367-370

190. Ford, E. Polymorphism and taxonomy / Ford, E. – *The new systematic*. – Oxford: Clarendon press, 1940. – P. 493-513.

191. Frost, D.R. The amphibian tree of life / D.R. Frost, T. Grant, J. Faivovich, R.H. Bain, A. Haas, C.F.B. Haddad, R.O. de Sá, A. Channing, M. Wilkinson, S.C. Donnellan, C.J. Raxworthy, J.A. Campbell, B.L. Blotto, P.E. Moler, R.C. Drewes, R.A. Nussbaum, J.D. Lynch, D.M. Green, W. Green // *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* – 2006. – P. 1. – P. 370.

192. Gajski, G. The comet assay in animal models: From bugs to whales – (Part 1 Invertebrates) / G. Gajski, B. Zegura, C. Ladeira, B. Pourrut, C. Del Bo', M. Novak, M. Sramkova, M. Milic, K.B. Gutzkow, S. Costa, M. Dusinska, G. Brunborg, A. Collins // *MutationResearch/Reviews in Mutation Research*. – 2019. – V. 779. – P. 82-113.

193. Gompert, Z. Identifying units for conservation using molecular systematics: the cautionary tale of the Karner blue butterfly / Z. Gompert, C.C. Nice, J.A. Fordyce, M.L. Forister, A.M. Shapiro // *Mol Ecol*. – 2006. – V. 15 (7). – P. 1759-1768.

194. Gubanyi, A. Morphological analysis of two Hungarian water frog (*Rana lessonae-esculenta*) populations / A. Gubanyi, Z. Korsos // *Amphibia-Reptilia*. – 1992. – V. 13 (3). – P. 235-242.

195. Günther R. Zum natürlichen Vorkommen und zur Morphologie triploider Teichfrösche, «*Rana esculenta*» L. in der DDR (Anura, Ranidae) / R. Günther // *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin*. – 1975. – V. 51. – P. 145-158.

196. Günther, R. Zur populationsgenetik der mitteleuropäischen Wasserfrösche des *Rana esculenta*-Synklepton (Anura, Ranidae) / R. Günther // *Zoologischer Anzeiger*. – 1983. – V. 211. – P. 43-54.

197. Günther, R. Zur Problematik der klonalen Vererbung bei *Rana kl. esculenta* (Anura) / R. Günther, J. Plötner // *Beiträge zur Biologie und Bibliographie (1960–1987) der europäischen Wasserfrösche*. Jb Feldherp Beiheft. – 1988. – V. 1. – P. 23-46.

198. Henle, K. A review of anomalies in natural populations of amphibians and their potential causes / K. Henle, A. Dubois, V. Vershinin. In: *Studies on anomalies in natural populations of amphibians*. – 2017, *Mertensiella* 25. – P. 57-164.

199. Hoffman, E.A. A review of color and pattern polymorphisms in anurans / E.A. Hoffman, M.S. Blouin // *Biol. J. Linnean Soc.* – 2000. – V. 70, № 4. – P. 633–665.

200. Hoffmann, A. Genetic diversity and distribution patterns of diploid and polyploid hybrid water frog populations (*Pelophylax esculentus* complex) across Europe / A. Hoffmann, J. Plötner, N.B.M. Pruvost, D.G. Christiansen, S. Röthlisberger, L. Choleva, P. Mikulíček, D. Cogălniceanu, I. Sas-Kovács, D. Shabanov, S.O Morozov-Leonov, H.-U. Reyer // *Molecular Ecology*. – 2015. – V. 24. – P. 4371-4391.

201. Holenweg, P.A.-K. Dispersal rates and distances in adult water frogs, *Rana lessonae*, *R. ridibunda* and their hybridogenetic associate, *R. esculenta* / P.A.-K. Holenweg // *Herpetologica*. – 2001. – V. 57. – P. 449-460.

202. Holsbeek, G. Conservation of the introgressed European water frog complex using molecular tools / G. Holsbeek, G.E. Maes, L. De Meester, F.A.M. Volckaert // *Molecular Ecology*. – 2009. – V. 18. – P. 1071-1087.

203. Holsbeek, G. A cryptic invasion within an invasion and widespread introgression in the European water frog complex: consequences of uncontrolled commercial trade and weak international legislation / G. Holsbeek, J. Mergeay, H. Hotz, J. Plötner, A.M. Volckaert, L. De Meester // *Molecular Ecology*. – 2008. – V. 17. – P. 5023-5035.

204. Hotz, H. Interspecific hybrids of *Rana ridibunda* without germ line exclusion of a parental genome / H. Hotz, T. Uzzell // *Experientia*. – 1983. – V. 39. – P. 538-540.

205. Hotz, H. Microsatellites: A tool for evolutionary genetic studies of western Palearctic water frogs / H. Hotz, T. Uzzell, G.-D. Guex, D. Alpers, R.D. Semlitsch, P. Beerli // *Mitt. Mus. Nat. kd. Berl. Zool. Reihe*. – 2001. – V. 77. – P. 43-50

206. Hotz, H. Balancing a cline by influx of migrants: a genetic transition in water frogs of eastern Greece / H. Hotz, P. Beerli, T. Uzzell, G.-D. Guex, N. Pruvost, R. Schreiber, J. Plötner // *The Journal of Heredity*. – 2013. – V. 104. – P. 57-71.

207. Ismail, M. Evaluation of the genotoxicity of chlorpyrifos in common indus valley toad, *Bufo stomaticus* using alkaline single-cell gel electrophoresis (Comet) assay/ M. Ismail, Q. Khan, R. Ali, T. Ali, A. Mobeen // *Agric. Sci*. – 2014. – V. 5. – P. 376-382.

208. Ivanov, A. Yu. The first record of natural transfer of mitochondrial DNA from *Pelophylax cf. bedriagae* into *P. lessonae* (Amphibia, Anura) / A.Yu. Ivanov, A.B. Ruchin, A.I. Fayzulin, I.V. Chikhlyayev, S.N. Litvinchuk, A.A. Kirillov, A.O. Svinin, O.A. Ermakov // *Nature Conservation Research. Заповедная наука*. – 2019. – V. 4 (2). – P. 125-128.

209. Jarne, P. Microsatellites, from molecules to populations and back / P. Jarne, P.J.L. // *Trends Ecol. Evol*. – 1996. – V. 11, № 10. – P. 424-429.

210. Kierzkowski, P. Genome dosage effect and hybrid morphology – the case of the hybridogenetic water frogs of the *Pelophylax esculentus* complex / P. Kierzkowski, L. Pasko, M. Rybacki, M. Socha, M. Ogielska // *Ann. Zool. Fenn*. – 2011. – V. 48. – P. 56-66.

211. Koedrith, P. Toxicogenomic approaches for understanding molecular mechanisms of heavy metal mutagenicity and carcinogenicity / P. Koedrith, H. Kim, J.I. Weon, Y.R. Seo // *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. – 2013. – V. 216. – P. 587-598.

212. Lada, G.A. Distribution, population systems and reproductive behavior of green frogs (hybridogenetic *Rana esculenta* - complex) in the Central Chernozem Territory of Russia / G.A. Lada, L.J. Borkin, A.E. Vinogradov // *Russian Journal of Herpetology*. – 1995. – V. 2, № 1. – P. 46-57.

213. Li, Y.-C. Microsatellites within genes: Structure, function, and evolution / Y.-C. Li, A.B. Korol, T. Fahima, E. Nevo // *Mol. Biol. Evol.* – 2004. – V. 21, № 6. – P. 991-1007.

214. Liu, Y. The role of reactive oxygen species in the herbicide acetochlor-induced DNA damage on *Bufo raddei* tadpole liver / Y. Liu, Y. Zhang, J. Liu, D. Huang // *Aquat. Toxicol.* – 2006. – V. 78. – P. 21-26.

215. Lyapkov, S.M. Distribution and Origin of Two Forms of the Marsh Frog *Pelophylax ridibundus* Complex (Anura, Ranidae) from Kamchatka Based on Mitochondrial and Nuclear DNA Data / Lyapkov S.M., Ermakov O.A., Titov S.V. // *Biol Bull Russ Acad Sci*. – 2018. – V. 45. – P. 699-705.

216. Mallet, J. Hybridization as an invasion of the genome / J. Mallet // *Trends in Ecology and Evolution*. 2005. – V. 20, № 5. – P. 229-237.

217. Manchester, S. J. The impacts of non-native species on UK biodiversity and the effectiveness of control / S.J. Manchester, J.M. Bullock // *Journal of Applied Ecology*. – 2000. – V. 37. – P. 845-864.

218. Mayer, M. Composition of twenty Green Frog populations (*Pelophylax*) across Bavaria, Germany / M. Mayer, O. Hawlitschek, F. Glaw // *Salamandra*. – 2013. – V. 49 (1). – P. 31-44.

219. McGlashan, D.J. Genetic evidence for historical continuity between populations of the Australian freshwater fish *Craterocephalus stercusmuscarum*

(Atherinidae) east and west of the Great Diving Range / D.J. McGlashan, J.M. Hughes // *Journal of Fish Biology*. – 2001. – V. 59. – P. 55–67.

220. Mikulíček P., Pišút P. Genetic structure of the marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) populations in urban landscape / P. Mikulíček, P. Pišút // *Eur J Wildl Res.* – 2012. – V. 58. – P. 833-845.

221. Morrison, C. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review / C. Morrison, J.-M. Hero // *Journal of Animal Ecology*. – 2003. – V. 72. – P. 270-279.

222. Nei, M. Genetic distance between populations / M. Nei // *The American Naturalist*. – 1972. – V. 106, № 949. – P. 283-292.

223. Oliveira, R. Hybridization versus conservation: are domestic cats threatening the genetic integrity of wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in Iberian Peninsula? / R. Oliveira, Godinho R., E. Randi, P.C. Alves // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2008. – V. 363 (1505). – P. 2953-2961.

224. Ostling, O. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells / O. Ostling, K.J. Johanson // *Biochemical and Biophysical*. – 1984. – V. 123, № 1. – P. 291-298

225. Patrelle, C. A new PCR-RFLP based method for an easier systematic affiliation of European water frogs / C. Patrelle, T. Ohst, D. Picard, A. Pagano, S. Sourice, M.-G. Dally, J. Plötner // *Mol. Ecol. Res.* – 2011. – V. 11. – P. 200-205.

226. Peakall, R. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update / R. Peakall, P.E. Smouse // *Mol Ecol Notes*. – 2006. – V. 6 (1). – P. 288-295.

227. Plötner, J. Morphometric and DNA investigations into European water frogs (*Rana kl. esculenta* synklepton (Anura, Ranidae)) from different population systems / J. Plötner, C. Becker, K. Plötner // *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. – 1994. – V. 32 (3). – P. 193-210.

228. Plötner, J. Die westpalaarktischen Wasserfrösche – Von Märtyrern der Wissenschaft zur biologischen Sensation. Laurenti Verlag, Bielefeld. – 2005. – 160 p.

229. Plötner, J. Widespread unidirectional transfer of mitochondrial DNA: a case in western Palaearctic water frogs / J. Plötner, T. Uzzell, P. Beerli, C. Spolsky, T. Ohst, S.N. Litvinchuk, G.-D. Guex, H.-U. Reyer, H. Hotz // *Journal of Evolutionary Biology*. – 2008. – V. 21 (3). – P. 668-681.

230. Plötner, J. A tentative species list of the European herpetofauna (Amphibia and Reptilia) – an update / J. Plötner, T. Uzzell, P. Beerli, C. Spolsky // *Zootaxa*. – 2010. – V. 2492. – P. 1-27.

231. Pruvost, N. B. M. Gamete production patterns, ploidy, and population genetics reveal evolutionary significant units in hybrid water frogs (*Pelophylax esculentus*) / N.B.M. Pruvost, A. Hoffmann, H.-U. Reyer // *Ecol. Evol.* – 2013. – V. 3. – P. 2933-2946.

232. Ralph, S. Alkaline single-cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using two species of tadpoles / S. Ralph, M. Petras, R. Pandrangi, M. Vrzoc // *Environ. Mol. Mutagen.* – 1996. – V. 28. – P. 112-120.

233. Regnier, V. Structures spécifiques des peuplements en grenouilles du complexe *Rana esculenta* de divers milieux de l'Ouest de la France / V. Regnier, A. Neveu // *Acta Oecologica/Oecol. Applic.*, Montreuil. – 1986. – V. 7 (1). – P. 3-26.

234. Reid, A.J. Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity / A.J. Reid, A.K. Carlson, I.F. Creed, E.J. Eliason, P.A. Gell [et al.] // *Biological Reviews*. – 2018. – V. 94. – P. 849-873.

235. Rhymer, J.M. Extinction by Hybridization and Introgression / J.M. Rhymer, D. Simberloff // *Annual Review of Ecological Systems*. – 1996. – V. 27. – P. 83-109.

236. Rieseberg, L.H. Chromosomal rearrangements and speciation. Rieseberg / L.H. Rieseberg // *Trends Ecol. Evol.* – 2001. – V. 16. – P. 351-358.

237. Rogers, S.M. The Genetic Architecture of Ecological Speciation and the Association with Signatures of Selection in Natural Lake Whitefish (*Coregonus* sp. Salmonidae) Species Pairs / S.M. Rogers, L. Bernatchez // *Molecular Biology and Evolution*. – 2007. – V. 24. – P. 1423-1438.

238. Rostand, J. Sur la variété d'expression d'une certaine anomalie (P) chez la grenouille verte (*Rana esculenta* L.) / Rostand J. // Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 1952. – P. 583-585.

239. Rostand, J. Les anomalies des Amphibiens Anoures / J. Rostand, 1958. – 100 p.

240. Rostand, J. Les étangs à monstres. Histoire d'une recherche (1947–1970) / Rostand J, 1971. – 91 p.

241. Russo, C. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments / C. Russo, L. Rocco, M.A. Morescalchi, V. Stingo // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2004. – V. 57. – P. 168-174.

242. Rybacki, M. Types of water frog populations (*Rana esculenta* complex) in Poland / M. Rybacki, L. Berger // Zoosystematics and Evolution. – 2001. – V. 77. – P. 51-57.

243. Schön, I. Lost sex. The evolutionary biology of Parthenogenesis / I. Schön, K. Martens, P. van Dijk. – Heidelberg, Germany; Springer, 2009. – 615 p.

244. Schultz, R. J. Hybridization, unisexuality and polyploidy in the teleost *Poeciliopsis* (Poeciliidae) and other vertebrates / R. J. Schultz // Am. Nat. – 1969. – V. 103. – P. 605-619.

245. Schwenk, K. Introduction. Extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals / K. Schwenk, N. Brede, B. Streit // Philosophical Transactions of the Royal Society. B. Biological Sciences. – 2008. – V. 363. – P. 2805-2811.

246. Smith, M. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? / M. Smith, D. Green // Ecography. – 2005. – V. 28. – P. 110-128.

247. Snegin, E.A. Estimation of damage in populations of marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) based on DNA comet assay / E.A. Snegin, A.S. Barkhatov, E.A. Snegina,

V.V. Adamova // Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2018. – V. 5, № 6. – P. 6091-6094.

248. Spolsky, C. Natural interspecies transfer of mitochondrial DNA in amphibians / C. Spolsky, T. Uzzell // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1984. – V. 81(18). – P. 5802-5805.

249. Svinin, A.O. First record of the Jean Rostand's «anomaly P» in the marsh frog, *Pelophylax ridibundus*, in central Russia / A.O. Svinin, I.V. Bashinskiy, S.N. Litvinchuk, L.A. Neymark, V.V. Osipov, E.A. Katsman, O.A. Ermakov, A.Yu. Ivanov, A.A. Vedernikov [et al.] // Alytes. – 2019. – V. 37. – P. 31-45.

250. Svinin, A.O. *Strigea robusta* causes polydactyly and severe forms of Rostand's anomaly P in water frogs / A.O. Svinin, I.V. Bashinskiy, S.N. Litvinchuk, O.A. Ermakov, A.Yu. Ivanov, L.A. Neymark, A.A. Vedernikov [et al.] // Parasites Vectors. – 2020. – V. 13 (381). – P. 1-11.

251. Svinin, A.O. Genetic structure, morphological variation, and gametogenic peculiarities in water frogs (*Pelophylax*) from northeastern European / A.O. Svinin, D.V. Dedukh, L.J. Borkin [et al.] // J Zool Syst Evol Res. – 2021. – V. 59. – P. 646-662.

252. Sundqvist, L. Directional genetic differentiation and relative migration / L. Sundqvist, K. Keenan, M. Zackrisson, P. Prodöhl, D. Kleinhans 4 // Ecol Evol. – 2016. – V. 6. – P. 3461-3475.

253. Sunnucks, P. Efficient genetic markers for population biology / P. Sunnucks // Trends Ecol Evol. – 2000. – V. 15 (5). – P. 199-203.

254. Tamir, S. DNA damage by nitric oxide / S. Tamir, S. Burney, S.R. Tannenbaum // Chemical Research in Toxicology. – 1996. – V. 9. – P. 821-827.

255. Tunner, H.G. Das Albumin und andere Bluteiweiße bei *Rana ridibunda* Pallas, *Rana lessonae* Camerano, *Rana esculenta* Linne und deren Hybriden / H.G. Tunner // Z. zool. Syst. Evolut.forsch. – 1973. – V. 11. – P. 219-233.

256. Tunner, H.G. Die klonale Struktur einer Wasserfrosch population / H.G. Tunner // Zeitschrift für zoologische Systematik und Evolutionsforschung. – 1974. – V. 12 (4). – P. 309-314.

257. Tunner, H.G. The morphology and biology of triploid hybridogenetic *Rana esculenta*: does genome dosage exist? / H.G. Tunner // II International Symposium on Ecology and Genetics of European Water Frogs. Wroclaw, Poland, 1994. – 505 p.

258. Tunner, H.G. Evidence for genomic imprinting in unisexual triploid hybrid frogs / H.G. Tunner // *Amphibia-Reptilia*. – 2000. – V. 21. – P. 135-141.

259. Vinogradov, A.E. Genome elimination in diploid and triploid *Rana esculenta* males: cytological evidence from DNA flow cytometry / A.E. Vinogradov, L.J. Borkin, R. Günther, J.M. Rosanov // *Genome*. – 1990. – V. 33 (5). – P. 619-627.

260. Uzzell, T. Electrophoretic phenotypes of *Rana ridibunda*, *Rana lessonae*, and their hybridogenetic associate, *Rana esculenta* / T. Uzzell, L. Berger // *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.* – 1975. – V. 127 (2). – P. 13-24.

261. Uzzell, T. *Rana ridibunda* and *Rana esculenta*: a leaky hybridogenetic system (Amphibia Salientia) / T. Uzzell, R. Gunther, L. Berger // *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.* – 1977. – V. 128 (9). – P. 147-171.

262. Uzzell, T. Electrophoretic and morphological evidence for two forms of green frogs (*Rana esculenta* complex) in peninsular Italy (Amphibia, Salientia) / T. Uzzell, H. Hotz // *Mitteilungen aus dem zoologischen Museum in Berlin*. – 1979. – V. 55 (1). – P. 13-27.

263. Wickbom, T. Cytological studies on Dipnoi, Urodela, Anura, and Emys / T. Wickbom // *Hereditas*. – 1945. – V. 31. – P. 241-346.

264. Wirzinger, G. Genotoxic damage in field-collected three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.): a suitable biomonitoring tool? / G. Wirzinger, L. Weltje, J. Gercken, H. Sordyl // *Mutat Res.* – 2007. – V. 628 (1). – P. 19-30.

265. Wright, S. Evolution in mendelian populations / S. Wright // *Genetics*. – 1931. – V. 16. – P. 97-154.

266. Wright, S. Isolation by distance / S. Wright // *Genetics*. – 1943. – V. 28, № 2. – P. 114-138.

267. Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution. *Mathematical topics in population genetics*. Berlin: Springer Verlag; 1970. – 31 p.

268. Zeisset, I. RAPD identification of north European water frogs / I. Zeisset, T. Beebee // *Amphibia-Reptilia*. – 1998. – V. 19 (2) – P. 163-170.

269. Zhelev, Z.M. In situ assessment of health status and heavy metal bioaccumulation of adult *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae) individuals inhabiting polluted area in southern Bulgaria / Z.M. Zhelev, D.N. Arnaudova, G.S. Popgeorgiev, S.V. Tsonev // *Ecological Indicators*. – 2020. – V. 115. – P. 1-15.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица 1 Приложения

Показатели фенотипического сходства (r) популяций *P. esculentus complex*

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	24	26	27	28	29	30	31	32	33	35	36		
1	0,000																																				
2	0,905	0,000																																			
3	0,937	0,959	0,000																																		
4	0,932	0,961	0,957	0,000																																	
5	0,823	0,677	0,728	0,753	0,000																																
6	0,934	0,990	0,987	0,979	0,718	0,000																															
7	0,967	0,852	0,861	0,831	0,779	0,863	0,000																														
8	0,931	0,858	0,797	0,855	0,762	0,844	0,950	0,000																													
9	0,786	0,772	0,690	0,681	0,769	0,735	0,867	0,873	0,000																												
10	0,834	0,719	0,726	0,734	0,941	0,733	0,842	0,827	0,885	0,000																											
11	0,843	0,765	0,749	0,745	0,931	0,765	0,869	0,854	0,948	0,967	0,000																										
12	0,882	0,824	0,800	0,793	0,812	0,820	0,908	0,891	0,877	0,911	0,897	0,000																									
13	0,765	0,719	0,652	0,657	0,796	0,691	0,834	0,845	0,953	0,942	0,934	0,937	0,000																								
14	0,751	0,705	0,662	0,670	0,848	0,692	0,787	0,792	0,916	0,970	0,941	0,913	0,983	0,000																							
15	0,912	0,864	0,844	0,875	0,937	0,869	0,891	0,906	0,900	0,943	0,969	0,917	0,890	0,900	0,000																						
16	0,902	0,838	0,843	0,826	0,856	0,843	0,902	0,867	0,846	0,914	0,903	0,990	0,902	0,893	0,934	0,000																					
17	0,962	0,904	0,903	0,890	0,827	0,913	0,960	0,930	0,885	0,881	0,904	0,885	0,846	0,834	0,933	0,889	0,000																				
18	0,862	0,875	0,787	0,824	0,811	0,843	0,889	0,936	0,967	0,889	0,943	0,909	0,929	0,901	0,957	0,891	0,922	0,000																			
19	0,940	0,866	0,880	0,837	0,830	0,878	0,955	0,895	0,903	0,897	0,921	0,872	0,860	0,853	0,918	0,876	0,981	0,908	0,000																		
20	0,821	0,766	0,744	0,733	0,886	0,761	0,850	0,831	0,943	0,979	0,975	0,903	0,963	0,981	0,937	0,895	0,903	0,928	0,928	0,000																	
21	0,865	0,860	0,795	0,810	0,801	0,837	0,894	0,912	0,952	0,934	0,941	0,961	0,972	0,957	0,946	0,941	0,922	0,975	0,916	0,961	0,000																
22	0,900	0,929	0,877	0,871	0,801	0,903	0,897	0,889	0,916	0,877	0,911	0,846	0,862	0,864	0,926	0,844	0,966	0,945	0,971	0,930	0,936	0,000															
23	0,935	0,822	0,907	0,894	0,777	0,926	0,929	0,911	0,907	0,878	0,910	0,871	0,858	0,853	0,935	0,872	0,981	0,943	0,982	0,921	0,937	0,996	0,000														
24	0,842	0,841	0,794	0,769	0,777	0,813	0,868	0,841	0,864	0,888	0,876	0,992	0,930	0,910	0,892	0,984	0,854	0,890	0,844	0,891	0,953	0,829	0,850	0,000													
25	0,905	0,868	0,812	0,790	0,931	0,832	0,953	0,926	0,953	0,894	0,929	0,880	0,904	0,876	0,911	0,861	0,968	0,944	0,984	0,937	0,941	0,968	0,973	0,849	0,000												
26	0,893	0,929	0,857	0,860	0,931	0,874	0,872	0,862	0,901	0,938	0,972	0,911	0,886	0,903	0,992	0,936	0,924	0,945	0,919	0,944	0,941	0,929	0,935	0,899	0,903	0,000											
27	0,937	0,929	0,892	0,888	0,795	0,920	0,943	0,936	0,923	0,873	0,910	0,886	0,872	0,855	0,936	0,880	0,982	0,958	0,978	0,917	0,949	0,990	0,997	0,863	0,980	0,930	0,000										
28	0,782	0,929	0,776	0,754	0,786	0,806	0,801	0,789	0,913	0,913	0,912	0,926	0,951	0,962	0,901	0,916	0,859	0,919	0,870	0,955	0,970	0,903	0,896	0,945	0,878	0,923	0,895	0,000									
29	0,827	0,929	0,770	0,777	0,870	0,802	0,843	0,849	0,937	0,965	0,963	0,943	0,972	0,983	0,953	0,935	0,893	0,951	0,899	0,983	0,985	0,920	0,915	0,941	0,911	0,959	0,916	0,983	0,000								
30	0,831	0,777	0,739	0,757	0,891	0,777	0,843	0,830	0,916	0,985	0,961	0,920	0,962	0,986	0,938	0,915	0,899	0,918	0,916	0,995	0,965	0,920	0,914	0,910	0,918	0,943	0,909	0,963	0,988	0,000							
31	0,811	0,790	0,739	0,765	0,905	0,776	0,823	0,848	0,949	0,948	0,986	0,869	0,929	0,942	0,968	0,870	0,890	0,961	0,897	0,971	0,947	0,928	0,916	0,853	0,915	0,970	0,915	0,925	0,969	0,958	0,000						
32	0,815	0,833	0,849	0,771	0,710	0,824	0,827	0,792	0,852	0,875	0,834	0,884	0,899	0,911	0,832	0,863	0,885	0,857	0,902	0,921	0,933	0,919	0,915	0,892	0,896	0,845	0,909	0,949	0,924	0,936	0,842	0,000					
33	0,852	0,889	0,820	0,816	0,747	0,861	0,878	0,885	0,910	0,816	0,885	0,916	0,871	0,831	0,912	0,910	0,881	0,948	0,862	0,857	0,932	0,882	0,895	0,914	0,883	0,917	0,912	0,895	0,902	0,850	0,887	0,814	0,000				
35	0,935	0,901	0,902	0,869	0,825	0,908	0,934	0,889	0,900	0,889	0,916	0,864	0,852	0,853	0,926	0,870	0,982	0,920	0,994	0,928	0,923	0,989	0,995	0,842	0,976	0,931	0,988	0,887	0,908	0,919	0,908	0,915	0,925	0,000			
36	0,857	0,846	0,787	0,763	0,737	0,820	0,916	0,900	0,969	0,860	0,911	0,860	0,907	0,873	0,886	0,832	0,943	0,952	0,961	0,928	0,942	0,969	0,965	0,841	0,990	0,886	0,974	0,895	0,910	0,905	0,913	0,903	0,946	0,961	0,000		

Таблица 2 Приложения
Частоты аллелей изоферментов популяций *P. esculentus* complex

Локус	Est-1			Est-2			LDH-3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
«Северский Донец»	0,000	0,158	0,842	0,184	0,526	0,289	0,368	0,395	0,237
«Везелка»	0,150	0,075	0,775	0,575	0,375	0,050	0,275	0,500	0,225
«Оскочное»	0,325	0,075	0,600	0,825	0,125	0,050	0,350	0,450	0,200
«Ячневский»	0,156	0,031	0,813	0,906	0,063	0,031	0,375	0,469	0,156
«Дубовое»	0,639	0,167	0,194	0,917	0,083	0,000	0,306	0,556	0,139
«Устье»	0,000	0,058	0,942	0,923	0,077	0,000	0,308	0,365	0,327
«Майский»	0,313	0,094	0,594	0,969	0,031	0,000	0,344	0,375	0,281
«Северный»	0,455	0,045	0,500	0,932	0,068	0,000	0,500	0,205	0,295
«Шопино»	0,457	0,087	0,457	0,957	0,043	0,000	0,304	0,413	0,283
«Нежеголь»	0,318	0,182	0,500	0,705	0,227	0,068	0,386	0,227	0,386
«Графовка»	0,235	0,265	0,500	0,529	0,265	0,206	0,324	0,500	0,176
«Глотово»	0,140	0,240	0,620	0,380	0,160	0,460	0,540	0,340	0,120
«Плотнова»	0,462	0,192	0,346	0,538	0,038	0,423	0,269	0,500	0,231
«Сазон»	0,500	0,225	0,275	0,700	0,175	0,125	0,475	0,300	0,225
«Оскол - 1»	0,432	0,273	0,295	0,659	0,159	0,182	0,500	0,409	0,091
«Волчья»	0,333	0,111	0,556	0,556	0,250	0,194	0,222	0,333	0,444
«Губкин»	0,183	0,150	0,667	0,583	0,133	0,283	0,417	0,333	0,250
«Орлик»	0,200	0,060	0,740	0,520	0,180	0,300	0,400	0,200	0,400
«Ольшанка»	0,286	0,071	0,643	0,500	0,107	0,393	0,464	0,393	0,143
«Халань»	0,250	0,000	0,750	0,544	0,029	0,426	0,426	0,191	0,382
«Беленькая»	0,458	0,021	0,521	0,521	0,000	0,479	0,333	0,292	0,375
«Оскол-2»	0,250	0,111	0,639	0,556	0,222	0,222	0,417	0,389	0,194
«Чуфичка»	0,400	0,133	0,467	0,567	0,033	0,400	0,467	0,133	0,400
«Корень»	0,289	0,132	0,579	0,684	0,237	0,079	0,368	0,368	0,263
«Короча»	0,321	0,179	0,500	0,821	0,179	0,000	0,321	0,357	0,321
«Сейм»	0,529	0,412	0,059	0,647	0,118	0,235	0,353	0,588	0,059
«Т. Сосна»	0,341	0,318	0,341	0,659	0,136	0,205	0,273	0,318	0,409
«Валуй»	0,021	0,188	0,792	0,521	0,000	0,479	0,396	0,354	0,250
«Голубой Дунай»	0,143	0,262	0,595	0,500	0,000	0,500	0,214	0,310	0,476
«Айдар»	0,364	0,348	0,288	0,424	0,424	0,152	0,333	0,212	0,455
«Ворскла»	0,237	0,395	0,368	0,474	0,105	0,421	0,474	0,211	0,316
«Ракита»	0,310	0,357	0,333	0,500	0,119	0,381	0,381	0,048	0,571
«Пена»	0,259	0,370	0,370	0,481	0,093	0,426	0,185	0,333	0,481
«Полная»	0,386	0,250	0,364	0,500	0,182	0,318	0,318	0,295	0,386
«Белая»	0,458	0,208	0,333	0,500	0,292	0,208	0,417	0,208	0,375
«Дон»	0,417	0,250	0,333	0,208	0,375	0,417	0,375	0,125	0,500

230	0,000	0,000	0,050	0,000	0,056	0,019	0,000	0,000	0,000	0,045	0,000	0,040	0,000	0,000	0,000	0,008	0,020	0,000	0,044	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,021	0,048	0,000	0,000	0,190	0,148	0,045	0,000	0,000				
232	0,000	0,125	0,025	0,031	0,000	0,058	0,031	0,000	0,022	0,000	0,000	0,060	0,038	0,025	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,059	0,000	0,000	0,000	0,036	0,088	0,000	0,000	0,000	0,000	0,119	0,222	0,159	0,000	0,000				
234	0,053	0,000	0,000	0,000	0,028	0,000	0,031	0,045	0,000	0,023	0,000	0,040	0,077	0,000	0,000	0,028	0,008	0,120	0,000	0,015	0,000	0,111	0,000	0,000	0,036	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000			
236	0,026	0,175	0,075	0,031	0,000	0,115	0,000	0,000	0,000	0,068	0,000	0,080	0,077	0,000	0,523	0,028	0,342	0,040	0,429	0,147	0,042	0,000	0,133	0,395	0,000	0,088	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,114	0,000	0,000		
238	0,158	0,075	0,000	0,094	0,000	0,115	0,031	0,023	0,065	0,136	0,529	0,200	0,000	0,050	0,091	0,194	0,167	0,020	0,036	0,044	0,000	0,083	0,000	0,079	0,429	0,000	0,659	0,146	0,024	0,000	0,105	0,190	0,111	0,136	0,042	0,458		
240	0,000	0,050	0,000	0,031	0,028	0,019	0,000	0,045	0,000	0,114	0,118	0,000	0,000	0,025	0,023	0,056	0,025	0,020	0,000	0,000	0,000	0,139	0,000	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,015	0,184	0,214	0,296	0,068	0,000	0,083			
242	0,000	0,025	0,025	0,000	0,028	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,075	0,000	0,000	0,025	0,020	0,000	0,015	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,083			
244	0,000	0,000	0,050	0,031	0,056	0,000	0,000	0,023	0,000	0,023	0,000	0,020	0,038	0,000	0,000	0,083	0,000	0,020	0,000	0,015	0,104	0,000	0,267	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000		
246	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,020	0,038	0,050	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,042	0,000	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
248	0,079	0,175	0,050	0,094	0,556	0,250	0,344	0,227	0,283	0,091	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,017	0,020	0,000	0,015	0,021	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
250	0,026	0,025	0,025	0,125	0,000	0,000	0,031	0,114	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,025	0,000	0,028	0,000	0,060	0,000	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
252	0,026	0,025	0,000	0,031	0,028	0,000	0,000	0,045	0,022	0,045	0,000	0,020	0,000	0,025	0,000	0,000	0,008	0,060	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
254	0,000	0,000	0,025	0,031	0,000	0,038	0,000	0,000	0,022	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028	0,008	0,020	0,000	0,000	0,042	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
256	0,053	0,025	0,000	0,063	0,028	0,000	0,063	0,045	0,022	0,023	0,000	0,000	0,000	0,075	0,000	0,028	0,008	0,000	0,000	0,000	0,021	0,056	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
258	0,000	0,000	0,050	0,031	0,000	0,000	0,031	0,023	0,065	0,000	0,000	0,020	0,000	0,050	0,000	0,000	0,017	0,020	0,000	0,000	0,042	0,056	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
260	0,026	0,000	0,025	0,000	0,028	0,019	0,000	0,045	0,043	0,000	0,000	0,000	0,077	0,025	0,000	0,028	0,008	0,020	0,000	0,000	0,042	0,083	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,045	0,000	0,000	
262	0,026	0,000	0,000	0,094	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,023	0,000	0,000	0,077	0,075	0,000	0,056	0,025	0,020	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
264	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,100	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,015	0,042	0,000	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
266	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,000	0,000	0,040	0,000	0,025	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
268	0,000	0,000	0,025	0,000	0,028	0,000	0,000	0,045	0,022	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,017	0,020	0,000	0,000	0,042	0,000	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
270	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,094	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,025	0,045	0,056	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
272	0,026	0,025	0,025	0,031	0,028	0,000	0,000	0,000	0,022	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,020	0,000	0,000	0,083	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
274	0,000	0,000	0,025	0,031	0,000	0,038	0,000	0,068	0,000	0,023	0,000	0,060	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,060	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000		
276	0,000	0,025	0,025	0,000	0,000	0,000	0,031	0,023	0,000	0,045	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
278	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028	0,038	0,000	0,000	0,022	0,023	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,008	0,020	0,000	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
280	0,000	0,075	0,075	0,031	0,000	0,038	0,000	0,023	0,000	0,023	0,000	0,020	0,038	0,025	0,045	0,000	0,008	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000	0,000	
282	0,053	0,000	0,050	0,000	0,000	0,038	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	
284	0,000	0,050	0,025	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,040	0,038	0,025	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
286	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,065	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,008	0,020	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
Res17																																						
136	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,045	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
138	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036	0,029	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,048	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000	

107	0,026	0,000	0,050	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,000	0,000	0,147	0,060	0,000	0,050	0,159	0,000	0,108	0,000	0,000	0,074	0,000	0,056	0,033	0,000	0,000	0,118	0,068	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,091	0,000	0,000					
109	0,053	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,059	0,080	0,038	0,075	0,068	0,000	0,092	0,000	0,000	0,074	0,000	0,056	0,067	0,105	0,036	0,088	0,068	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,045	0,000	0,000					
111	0,026	0,025	0,025	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,022	0,000	0,029	0,080	0,038	0,025	0,045	0,000	0,000	0,020	0,036	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000				
113	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,023	0,059	0,020	0,038	0,050	0,023	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
115	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,023	0,000	0,008	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000				
117	0,000	0,000	0,025	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,059	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
119	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,045	0,000	0,017	0,000	0,036	0,015	0,000	0,000	0,033	0,053	0,000	0,059	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
121	0,000	0,025	0,050	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,080	0,308	0,025	0,068	0,000	0,100	0,260	0,000	0,118	0,021	0,000	0,000	0,105	0,000	0,118	0,000	0,000	0,024	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000				
123	0,000	0,025	0,325	0,375	0,000	0,077	0,031	0,023	0,087	0,000	0,118	0,060	0,038	0,025	0,182	0,028	0,042	0,400	0,500	0,265	0,104	0,167	0,233	0,184	0,000	0,147	0,091	0,000	0,024	0,000	0,079	0,000	0,019	0,000	0,000	0,000	0,167	0,000				
125	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,040	0,000	0,025	0,000	0,278	0,017	0,000	0,000	0,000	0,250	0,111	0,067	0,053	0,000	0,000	0,023	0,125	0,119	0,076	0,263	0,024	0,019	0,000	0,208	0,083	0,000					
Rrid059A																																										
103	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,037	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000				
105	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021	0,048	0,030	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
107	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
109	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036	0,059	0,021	0,000	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000	0,021	0,048	0,045	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
111	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,071	0,029	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,021	0,024	0,076	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
113	0,026	0,050	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,023	0,043	0,023	0,029	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,000	0,071	0,000	0,021	0,056	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,071	0,045	0,105	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
115	0,000	0,025	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,180	0,000	0,059	0,000	0,000	0,000	0,158	0,071	0,029	0,091	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000	0,000	0,000		
117	0,026	0,000	0,050	0,000	0,028	0,000	0,031	0,023	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,045	0,000	0,008	0,000	0,000	0,044	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
119	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,025	0,020	0,071	0,015	0,021	0,000	0,000	0,000	0,036	0,000	0,023	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
121	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,044	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
123	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,023	0,000	0,008	0,000	0,036	0,029	0,000	0,000	0,100	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
125	0,500	0,675	0,300	0,406	0,611	0,635	0,625	0,659	0,543	0,705	0,676	0,300	0,654	0,475	0,250	0,806	0,333	0,280	0,036	0,279	0,542	0,222	0,267	0,421	0,643	0,059	0,205	0,667	0,333	0,500	0,000	0,214	0,519	0,205	0,875	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000		
127	0,000	0,000	0,125	0,094	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,040	0,038	0,050	0,295	0,000	0,083	0,060	0,036	0,029	0,021	0,056	0,233	0,079	0,036	0,059	0,114	0,146	0,071	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
129	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,023	0,029	0,080	0,038	0,000	0,045	0,000	0,000	0,000	0,044	0,000	0,000	0,033	0,026	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000	0,030	0,026	0,000	0,019	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,083	0,000
131	0,079	0,025	0,000	0,156	0,000	0,058	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,077	0,000	0,000	0,000	0,033	0,060	0,036	0,015	0,000	0,056	0,000	0,026	0,000	0,000	0,045	0,000	0,024	0,015	0,026	0,048	0,019	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
133	0,026	0,000	0,200	0,094	0,000	0,019	0,000	0,000	0,022	0,023	0,000	0,100	0,000	0,000	0,091	0,056	0,042	0,080	0,357	0,176	0,146	0,056	0,100	0,132	0,000	0,235	0,000	0,021	0,071	0,030	0,132	0,048	0,000	0,000	0,083	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
135	0,053	0,100	0,025	0,125	0,056	0,000	0,094	0,023	0,065	0,045	0,088	0,160	0,154	0,400	0,045	0,139	0,175	0,220	0,071	0,059	0,125	0,417	0,267	0,053	0,036	0,176	0,295	0,083	0,167	0,091	0,368	0,429	0,278	0,364	0,000	0,542	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
137	0,000	0,000	0,025	0,000	0,056	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,060	0,000	0,075	0,023	0,000	0,050	0,100	0,071	0,000	0,042	0,083	0,000	0,000	0,036	0,059	0,136	0,000	0,071	0,015	0,105	0,095	0,093	0,182	0,000	0,042	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
139	0,211	0,075	0,075	0,000	0,111	0,173	0,156	0,136	0,174	0,159	0,029	0,000	0,000	0,000	0,068	0,000	0,008	0,000	0,000	0,015	0,021	0,000	0,000	0,000	0,036	0,029	0,023	0,000	0,024	0,045	0,026	0,000	0,000	0,068	0,000	0,167	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
141	0,053	0,050	0,000	0,000	0,139	0,096	0,094	0,114	0,109	0,023	0,000	0,120	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,029	0,042	0,000	0,000	0,026	0,000	0,088	0,000	0,000	0,000	0,105	0,167	0,037	0,091	0,000	0,000							

Таблица 4 Приложения

Генетические дистанции Неи между популяциями *P. esculentus* complex на основе изоферментных маркеров

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36			
1	0,000																																						
2	0,102	0,000																																					
3	0,311	0,067	0,000																																				
4	0,285	0,062	0,021	0,000																																			
5	0,737	0,282	0,094	0,195	0,000																																		
6	0,263	0,071	0,064	0,021	0,317	0,000																																	
7	0,421	0,115	0,012	0,029	0,100	0,057	0,000																																
8	0,493	0,181	0,042	0,083	0,100	0,126	0,026	0,000																															
9	0,518	0,157	0,022	0,070	0,045	0,122	0,013	0,026	0,000																														
10	0,279	0,099	0,044	0,090	0,146	0,103	0,045	0,038	0,055	0,000																													
11	0,155	0,056	0,063	0,101	0,167	0,150	0,113	0,161	0,124	0,078	0,000																												
12	0,123	0,159	0,185	0,189	0,413	0,229	0,250	0,269	0,304	0,180	0,084	0,000																											
13	0,381	0,223	0,123	0,207	0,126	0,301	0,162	0,183	0,131	0,148	0,081	0,144	0,000																										
14	0,456	0,214	0,078	0,172	0,057	0,258	0,089	0,052	0,060	0,052	0,099	0,209	0,094	0,000																									
15	0,400	0,196	0,079	0,159	0,067	0,264	0,109	0,092	0,086	0,088	0,065	0,151	0,074	0,017	0,000																								
16	0,195	0,072	0,069	0,117	0,199	0,123	0,091	0,113	0,098	0,036	0,064	0,164	0,105	0,112	0,144	0,000																							
17	0,147	0,065	0,056	0,059	0,251	0,076	0,083	0,112	0,124	0,059	0,045	0,047	0,110	0,127	0,111	0,055	0,000																						
18	0,135	0,089	0,107	0,108	0,365	0,095	0,130	0,139	0,180	0,070	0,108	0,085	0,174	0,185	0,203	0,048	0,023	0,000																					
19	0,167	0,106	0,087	0,102	0,257	0,155	0,137	0,153	0,165	0,118	0,062	0,032	0,081	0,139	0,106	0,094	0,021	0,054	0,000																				
20	0,210	0,154	0,131	0,130	0,378	0,129	0,148	0,151	0,194	0,112	0,152	0,087	0,152	0,205	0,218	0,083	0,036	0,016	0,045	0,000																			
21	0,330	0,222	0,138	0,194	0,241	0,240	0,161	0,151	0,156	0,125	0,144	0,130	0,053	0,138	0,154	0,077	0,079	0,076	0,058	0,042	0,000																		
22	0,132	0,040	0,042	0,058	0,208	0,093	0,084	0,106	0,112	0,056	0,027	0,059	0,105	0,105	0,088	0,049	0,010	0,040	0,021	0,065	0,094	0,000																	
23	0,345	0,244	0,140	0,199	0,247	0,229	0,144	0,104	0,150	0,078	0,151	0,118	0,095	0,093	0,123	0,086	0,071	0,064	0,077	0,045	0,028	0,095	0,000																
24	0,211	0,042	0,014	0,043	0,134	0,071	0,035	0,053	0,050	0,018	0,037	0,137	0,124	0,068	0,075	0,035	0,034	0,065	0,072	0,105	0,124	0,020	0,109	0,000															
25	0,343	0,090	0,016	0,055	0,089	0,082	0,015	0,033	0,019	0,016	0,071	0,225	0,140	0,056	0,080	0,054	0,076	0,116	0,136	0,158	0,158	0,066	0,130	0,015	0,000														
26	0,670	0,381	0,207	0,344	0,070	0,513	0,244	0,248	0,176	0,238	0,146	0,311	0,090	0,086	0,054	0,274	0,284	0,444	0,258	0,451	0,270	0,246	0,269	0,219	0,196	0,000													
27	0,365	0,174	0,086	0,162	0,118	0,190	0,085	0,096	0,073	0,038	0,072	0,190	0,072	0,051	0,074	0,050	0,092	0,128	0,141	0,154	0,105	0,099	0,077	0,062	0,045	0,131	0,000												
28	0,157	0,141	0,159	0,125	0,455	0,121	0,190	0,256	0,265	0,178	0,117	0,044	0,168	0,284	0,237	0,141	0,035	0,057	0,050	0,048	0,116	0,072	0,126	0,136	0,202	0,433	0,188	0,000											
29	0,241	0,204	0,193	0,207	0,401	0,186	0,204	0,263	0,243	0,154	0,134	0,113	0,115	0,250	0,247	0,091	0,073	0,074	0,106	0,065	0,074	0,121	0,087	0,156	0,188	0,366	0,103	0,051	0,000										
30	0,278	0,221	0,224	0,347	0,265	0,363	0,254	0,218	0,233	0,088	0,127	0,242	0,195	0,110	0,151	0,093	0,184	0,181	0,241	0,261	0,218	0,165	0,153	0,133	0,143	0,231	0,074	0,334	0,220	0,000									
31	0,286	0,266	0,201	0,264	0,302	0,296	0,221	0,205	0,236	0,119	0,108	0,072	0,104	0,115	0,106	0,137	0,087	0,119	0,104	0,123	0,109	0,116	0,055	0,145	0,173	0,198	0,072	0,117	0,082	0,115	0,000								
32	0,402	0,356	0,271	0,363	0,364	0,346	0,256	0,213	0,259	0,117	0,214	0,206	0,176	0,155	0,207	0,127	0,161	0,136	0,214	0,146	0,123	0,204	0,054	0,195	0,194	0,319	0,074	0,217	0,099	0,089	0,048	0,000							
33	0,317	0,249	0,207	0,282	0,288	0,286	0,220	0,259	0,218	0,136	0,115	0,164	0,078	0,171	0,179	0,086	0,122	0,140	0,158	0,148	0,097	0,153	0,095	0,160	0,166	0,216	0,047	0,145	0,036	0,116	0,058	0,058	0,000						
34	0,277	0,177	0,119	0,207	0,172	0,247	0,143	0,134	0,129	0,059	0,068	0,126	0,048	0,062	0,079	0,042	0,077	0,093	0,093	0,109	0,056	0,079	0,042	0,077	0,091	0,150	0,022	0,158	0,082	0,057	0,045	0,054	0,036	0,000					
35	0,300	0,192	0,132	0,238	0,168	0,287	0,158	0,108	0,135	0,046	0,100	0,171	0,108	0,040	0,076	0,061	0,112	0,115	0,131	0,149	0,102	0,096	0,060	0,078	0,092	0,176	0,049	0,248	0,179	0,033	0,080	0,075	0,111	0,023	0,000				
36	0,265	0,355	0,393	0,539	0,495	0,554	0,455	0,375	0,434	0,208	0,232	0,210	0,215	0,229	0,272	0,154	0,231	0,180	0,233	0,214	0,165	0,229	0,130	0,263	0,325	0,383	0,177	0,314	0,195	0,068	0,118	0,082	0,130	0,086	0,077	0,000			

Таблица 5 Приложения

Генетические дистанции Неи между популяциями *P. esculentus* complex на основе микросателлитных маркеров ДНК

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36			
1	0,000																																						
2	0,182	0,000																																					
3	0,541	0,527	0,000																																				
4	0,578	0,587	0,153	0,000																																			
5	0,247	0,180	0,741	0,830	0,000																																		
6	0,146	0,075	0,513	0,590	0,161	0,000																																	
7	0,360	0,202	0,833	0,793	0,180	0,234	0,000																																
8	0,342	0,195	0,823	0,787	0,188	0,248	0,027	0,000																															
9	0,309	0,173	0,670	0,715	0,182	0,225	0,063	0,055	0,000																														
10	0,113	0,123	0,759	0,821	0,171	0,103	0,235	0,233	0,281	0,000																													
11	0,459	0,485	0,864	0,835	0,669	0,487	0,601	0,610	0,585	0,452	0,000																												
12	0,559	0,571	0,367	0,359	0,980	0,548	0,827	0,794	0,842	0,796	0,907	0,000																											
13	0,441	0,431	0,457	0,443	0,559	0,502	0,574	0,500	0,448	0,580	0,787	0,439	0,000																										
14	0,567	0,587	0,331	0,286	0,830	0,612	0,824	0,798	0,779	0,764	0,959	0,284	0,266	0,000																									
15	0,980	0,672	0,711	0,747	1,486	0,852	1,545	1,522	1,400	1,202	1,195	0,407	0,874	0,828	0,000																								
16	0,235	0,356	0,501	0,571	0,539	0,391	0,656	0,608	0,550	0,342	0,425	0,732	0,493	0,665	1,193	0,000																							
17	0,741	0,562	0,498	0,454	1,122	0,678	1,070	1,048	1,106	0,896	0,962	0,148	0,575	0,410	0,141	0,910	0,000																						
18	0,548	0,488	0,257	0,304	0,723	0,560	0,691	0,620	0,488	0,764	0,692	0,470	0,225	0,394	0,850	0,495	0,654	0,000																					
19	1,172	0,860	0,476	0,492	1,626	1,020	1,801	1,828	1,445	1,463	1,297	0,670	1,327	1,032	0,344	1,092	0,487	0,702	0,000																				
20	0,804	0,545	0,427	0,439	1,078	0,692	1,180	1,171	0,973	1,005	0,895	0,418	0,626	0,698	0,217	0,808	0,308	0,461	0,166	0,000																			
21	0,360	0,531	0,519	0,592	0,615	0,603	0,798	0,756	0,675	0,516	0,762	0,873	0,691	0,825	1,326	0,134	1,037	0,574	0,981	0,852	0,000																		
22	0,364	0,499	0,651	0,672	0,561	0,531	0,614	0,641	0,608	0,420	0,369	0,776	0,646	0,705	1,179	0,294	0,875	0,481	1,042	0,806	0,278	0,000																	
23	0,592	0,727	0,692	0,743	0,822	0,804	0,935	0,938	0,965	0,695	0,763	0,856	0,922	0,945	0,899	0,368	0,809	0,683	0,924	0,850	0,213	0,276	0,000																
24	0,720	0,420	0,488	0,628	0,907	0,516	1,037	0,999	0,838	0,853	0,918	0,435	0,647	0,713	0,278	0,656	0,380	0,451	0,247	0,129	0,762	0,844	0,864	0,000															
25	0,494	0,364	0,653	0,798	0,759	0,466	0,785	0,715	0,716	0,579	0,580	0,436	0,626	0,646	0,622	0,402	0,509	0,578	0,892	0,542	0,758	0,748	0,882	0,404	0,000														
26	1,074	0,681	0,819	1,075	1,274	0,876	1,368	1,368	1,200	1,192	1,183	0,494	0,952	1,026	0,264	1,254	0,364	0,714	0,404	0,186	1,306	0,951	1,173	0,209	0,545	0,000													
27	0,628	0,683	1,114	1,055	1,123	0,739	1,109	1,200	1,173	0,730	0,219	0,828	1,333	1,110	0,772	0,635	0,736	0,941	0,934	0,741	0,924	0,419	0,690	0,796	0,465	0,802	0,000												
28	0,551	0,417	0,761	0,900	0,803	0,573	0,896	0,876	0,813	0,672	0,597	0,579	0,642	0,870	0,487	0,403	0,534	0,653	0,832	0,393	0,554	0,575	0,667	0,376	0,188	0,366	0,458	0,000											
29	0,703	0,580	0,856	1,039	1,019	0,718	1,133	1,183	1,040	0,886	0,759	0,705	0,936	0,943	0,646	0,724	0,722	0,753	0,774	0,424	0,865	0,673	1,021	0,428	0,333	0,349	0,506	0,136	0,000										
30	0,529	0,459	0,776	0,908	0,786	0,575	0,896	0,902	0,868	0,670	0,610	0,648	0,797	0,857	0,680	0,547	0,671	0,728	0,840	0,435	0,670	0,590	0,824	0,425	0,296	0,415	0,472	0,113	0,059	0,000									
31	0,830	0,768	0,864	0,970	1,237	0,915	1,311	1,438	1,277	1,053	0,814	0,758	1,367	1,047	0,756	0,766	0,786	0,807	0,626	0,471	0,733	0,477	0,777	0,520	0,473	0,436	0,368	0,290	0,139	0,186	0,000								
32	0,599	0,496	0,916	0,919	0,814	0,506	0,656	0,678	0,797	0,611	0,811	0,350	0,855	0,738	0,738	0,847	0,500	0,791	1,022	0,701	1,008	0,600	0,911	0,636	0,444	0,532	0,542	0,549	0,598	0,572	0,497	0,000							
33	0,528	0,415	0,757	0,802	0,778	0,447	0,715	0,720	0,795	0,559	0,645	0,397	0,712	0,685	0,673	0,535	0,474	0,672	0,951	0,633	0,723	0,557	0,733	0,511	0,340	0,556	0,529	0,378	0,528	0,444	0,506	0,165	0,000						
34	0,571	0,541	0,628	0,588	0,961	0,517	0,743	0,725	0,839	0,712	0,986	0,104	0,643	0,395	0,496	0,794	0,241	0,590	0,829	0,569	0,925	0,651	0,750	0,522	0,440	0,544	0,731	0,648	0,714	0,688	0,661	0,214	0,312	0,000					
35	0,446	0,481	0,773	0,890	0,787	0,516	0,850	0,868	0,845	0,538	0,450	0,768	0,705	0,862	0,943	0,278	0,886	0,765	1,066	0,648	0,565	0,515	0,816	0,595	0,304	0,762	0,539	0,181	0,208	0,200	0,443	0,777	0,513	0,860	0,000				
36	0,599	0,831	1,105	1,055	1,190	0,924	1,146	1,201	1,175	0,767	0,520	0,898	1,082	1,135	0,980	0,415	0,885	0,840	1,042	0,857	0,558	0,329	0,422	1,006	0,477	0,961	0,248	0,427	0,679	0,641	0,437	0,607	0,557	0,720	0,499	0,000			

Таблица 6 Приложения
Частота аллелей микросателлитных маркеров ДНК двух возрастных групп

Локус	Аллель	Частота аллеля									
		Ворскла		С. Донец		Оскол		Айдар		Дон	
		З	Ю	З	Ю	З	Ю	З	Ю	З	Ю
Res14	127	0,034	0	0,022	0,032*	0,015	0,006*	0,009	0,050	0	0
	129	0,034	0,033	0,071	0,099*	0,061	0,029*	0,125	0,100	0	0
	131	0,069	0,100	0,138	0,137*	0,310	0,200*	0,063	0,050	0,500	0,200
	133	0,293	0,167	0,214	0,307*	0,295	0,259*	0,268	0,250	0,286	0,700
	135	0,086	0,133	0,094	0,050*	0,061	0,041*	0,250	0,250	0,214	0
	137	0,017	0,067	0,076	0,032*	0,032	0,035*	0,027	0	0	0,100
	139	0	0	0,049	0,035*	0,015	0,018*	0,036	0	0	0
	141	0,034	0,033	0,067	0,035*	0,020	0,018*	0,054	0	0	0
	143	0,224	0,067	0,036	0,102*	0,076	0,171*	0,045	0	0	0
	145	0,034	0	0,085	0,038*	0,047	0,065*	0,063	0,100	0	0
	147	0,155	0,400	0,098	0,076*	0,032	0,129*	0,027	0,100	0	0
	149	0,017	0	0,045	0,041*	0,023	0,018*	0,036	0,050	0	0
	151	0	0	0,004	0,015*	0,012	0,012*	0	0,050	0	0
Res15	206	0,017	0	0,004	0,009*	0	0,006	0	0	0	0
	208	0	0,033	0,022	0,012*	0,020	0,018	0	0	0	0
	210	0	0	0,004	0,012*	0,003	0,024	0	0	0	0
	212	0	0	0,009	0,003*	0,015	0,018	0,045	0	0	0
	214	0,034	0,233	0,009	0,096*	0,111	0,106	0,018	0,050	0	0
	216	0,310	0,267	0,018	0,088*	0,137	0,118	0,732	0,900	0,286	0,500
	218	0,052	0	0	0,018*	0,009	0,018	0,018	0	0	0
	220	0	0	0,009	0,035*	0,015	0,006	0,027	0	0	0
	222	0,017	0	0,045	0,006*	0,012	0,018	0	0	0	0
	224	0,017	0	0,022	0,009*	0,020	0,012	0	0	0	0
	226	0,017	0	0,009	0,006*	0	0,018	0	0	0	0
	228	0	0	0,018	0,012*	0,009	0,029	0	0	0	0
	230	0,017	0,033	0,013	0,009*	0,012	0,018	0,018	0	0	0
	232	0,017	0,067	0,036	0,023*	0,009	0,006	0	0	0	0
	234	0,017	0,033	0,013	0,018*	0,035	0,012	0,009	0	0	0
	236	0,052	0,033	0,018	0,117*	0,202	0,118	0	0	0	0
	238	0,155	0,167	0,076	0,129*	0,085	0,118	0,009	0,050	0,571	0,300
	240	0,121	0	0,027	0,050*	0,023	0,029	0,009	0	0,143	0
	242	0	0	0,013	0,003*	0,020	0,041	0	0	0	0,200
	244	0	0,033	0,013	0,044*	0,023	0	0	0	0	0
246	0,017	0	0	0,015*	0,018	0,012	0,018	0	0	0	
248	0	0	0,286	0,067*	0,009	0,018	0	0	0	0	
250	0	0	0,036	0,018*	0,012	0,012	0,009	0	0	0	
252	0	0,033	0,022	0,012*	0,006	0,018	0	0	0	0	
254	0	0	0,013	0,012*	0,012	0,012	0	0	0	0	
256	0	0	0,036	0,018*	0,018	0,018	0,018	0	0	0	
258	0,017	0	0,009	0,020*	0,012	0,029	0,009	0	0	0	

	260	0	0	0,018	0,015*	0,020	0,024	0	0	0	0
	262	0	0	0,009	0,015*	0,020	0,035	0	0	0	0
	264	0	0	0,004	0,015*	0,015	0,018	0	0	0	0
	266	0,017	0,033	0,004	0,003*	0,003	0,024	0	0	0	0
	268	0	0	0,013	0,012*	0,012	0,012	0,009	0	0	0
	270	0	0	0,022	0,012*	0,015	0	0,018	0	0	0
	272	0	0	0,022	0,003*	0,020	0	0	0	0	0
	274	0,034	0,033	0,027	0,006*	0,009	0,006	0,009	0	0	0
	276	0	0	0,018	0,009*	0,006	0,012	0	0	0	0
	278	0	0	0,004	0,012*	0,009	0,006	0	0	0	0
	280	0,017	0	0,031	0,018*	0,009	0,006	0,027	0	0	0
	282	0,017	0	0,027	0,012*	0	0,006	0	0	0	0
	284	0,034	0	0,009	0,009*	0,009	0	0	0	0	0
	286	0	0	0,009	0,006*	0,009	0,006	0	0	0	0
Res17	136	0	0,033*	0	0	0,006	0*	0	0	0	0
	138	0,017	0,033*	0	0	0,009	0*	0,018	0*	0	0
	140	0	0	0	0	0,003	0,006*	0	0*	0	0
	142	0	0,033*	0	0	0	0	0,009	0*	0	0
	144	0	0	0	0,006*	0,003	0*	0,027	0*	0	0
	146	0	0	0	0	0,003	0,012*	0	0	0	0
	148	0	0	0	0	0,006	0,006*	0,009	0*	0	0
	150	0	0	0	0,003*	0	0	0	0	0	0
	152	0	0	0	0	0	0	0,027	0*	0	0
	154	0	0	0	0	0	0	0,009	0	0	0
	156	0	0,233*	0	0,617*	0,480	0,424*	0,705	0,550*	0,286*	0,100*
	158	0,569	0*	0,692	0,018*	0,012	0,018*	0,027	0*	0	0
	160	0	0,033*	0	0	0,006	0*	0	0	0	0
	162	0	0	0	0,003*	0	0	0,009	0*	0	0
	164	0,034	0*	0	0,003*	0,003	0*	0,009	0*	0	0
	166	0	0	0	0,003*	0	0	0	0	0	0
	168	0,155	0,167*	0,214	0,205*	0,178	0,118*	0,134	0,450*	0,714*	0,900*
	170	0,207	0,467*	0,094	0,132*	0,292	0,406*	0	0	0	0
	172	0,017	0*	0	0	0	0,006*	0	0	0	0
174	0	0	0	0,009*	0	0,006*	0,018	0*	0	0	
176	0	0	0	0,003*	0	0	0	0	0	0	
Res22	83	0,172	0,267	0,063	0,111*	0,096	0,206*	0,009	0	0	0
	85	0	0	0,665	0,254*	0,064	0,047*	0	0	0	0
	87	0,103	0,100	0	0,096*	0,102	0,118*	0,152	0,100	0,143	0,200
	89	0,121	0,167	0,045	0,058*	0,044	0,035*	0,304	0,250	0	0,100
	91	0	0	0,013	0,009*	0,018	0*	0,036	0	0	0
	93	0	0	0,004	0,009*	0,015	0,018*	0	0	0	0
	95	0,017	0	0	0,012*	0,038	0,029*	0	0	0	0
	97	0,069	0,067	0,022	0,102*	0,076	0,012*	0,179	0,250	0,571	0,500
	99	0,086	0,033	0,009	0,012*	0,009	0,029*	0,152	0,250	0	0
	101	0	0	0,027	0,020*	0,023	0,012*	0,009	0	0	0
103	0	0	0,013	0,009*	0,015	0,029*	0,018	0	0	0	

	105	0	0,067	0,004	0,020*	0,041	0,047*	0	0	0	0
	107	0,034	0,033	0,004	0,029*	0,050	0,065*	0	0	0	0
	109	0,052	0,033	0,004	0,032*	0,038	0,071*	0	0	0	0
	111	0,069	0	0,018	0,003*	0,020	0,006*	0	0	0	0
	113	0	0,033	0	0,020*	0,006	0,012*	0	0	0	0
	115	0	0	0	0	0,015	0*	0	0	0	0
	117	0	0	0,009	0,015*	0,003	0,012*	0,009	0	0	0
	119	0	0	0,004	0,012*	0,009	0,024*	0,009	0	0	0
	121	0,034	0,067	0	0,029*	0,094	0,076*	0,009	0	0	0
	123	0,086	0,033	0,089	0,105*	0,190	0,071*	0,009	0	0,143	0,200
	125	0,155	0,100	0,004	0,041*	0,035	0,082*	0,107	0,150	0,143	0
Rrid 059A	103	0	0	0	0	0	0,024*	0	0	0	0
	107	0,017	0*	0	0,009*	0,009	0,006*	0,036	0*	0	0
	109	0	0,067*	0	0,012*	0,003	0,012*	0	0	0	0
	111	0	0	0,009	0,003*	0,009	0,006*	0,045	0*	0	0
	113	0	0,033*	0	0,015*	0,015	0*	0,054	0*	0	0
	115	0,052	0*	0,018	0,029*	0,018	0,006*	0,054	0*	0	0
	117	0,017	0,033*	0,004	0,020*	0,035	0,006*	0,009	0*	0	0
	119	0	0	0,013	0,006*	0,006	0,012*	0	0	0	0
	121	0	0	0	0,006*	0,020	0*	0,009	0*	0	0
	123	0	0	0	0,012*	0,003	0,018*	0,027	0*	0	0
	125	0	0,067*	0	0,506*	0,006	0,376*	0,009	0,800*	0	0,300*
	127	0,224	0,033*	0,603	0,044*	0,409	0,059*	0,464	0,050*	0	0
	129	0,017	0,033*	0,022	0,020*	0,091	0*	0,036	0*	0	0,200*
	131	0,069	0,033*	0,004	0,026*	0,012	0,047*	0,018	0,050*	0	0
	133	0	0,067*	0,031	0,067*	0,009	0,071*	0,009	0,050*	0,071	0*
135	0,138	0,267*	0,018	0,076*	0,091	0,194*	0,054	0,050*	0	0,300*	
137	0,241	0,067*	0,058	0,012*	0,158	0,053*	0,107	0*	0,714	0*	
139	0,086	0*	0	0,073*	0,038	0,006*	0,036	0*	0,071	0,200*	
141	0,017	0,167*	0,134	0,038*	0,015	0,012*	0,036	0*	0,143	0*	
143	0,086	0,133*	0,076	0,026*	0,006	0,094*	0	0	0	0	
Rrid 082A	157	0,034	0*	0,009	0,018*	0,050	0,024*	0	0	0	0
	159	0	0	0	0,009*	0,012	0,018*	0,009	0*	0	0
	161	0	0	0,009	0,149*	0,003	0,024*	0	0	0	0
	163	0,034	0*	0,344	0,009*	0,038	0,047*	0,009	0*	0	0
	165	0	0	0,063	0,012*	0,023	0,006*	0,009	0*	0	0
	167	0,017	0,100*	0,013	0,108*	0,015	0,082*	0	0	0	0
	169	0,034	0,033*	0,129	0,009*	0,117	0,071*	0,009	0*	0	0
	171	0,017	0*	0,036	0,006*	0,026	0*	0	0	0	0
	173	0,017	0,033*	0,022	0,009*	0,009	0*	0	0	0	0
	175	0	0	0	0,012*	0,012	0,059*	0	0	0	0
	177	0	0	0,013	0,035*	0,035	0,053*	0,018	0*	0	0
	179	0	0	0,031	0,023*	0,023	0,029*	0,036	0*	0	0
181	0	0	0,009	0,018*	0,018	0,018*	0,018	0*	0	0	
183	0	0	0,018	0,015*	0,018	0,018*	0	0	0	0	

	185	0,052	0,067*	0,031	0,009*	0,006	0,047*	0	0	0	0
	187	0,017	0,067*	0,004	0,003*	0,015	0,018*	0	0	0	0
	189	0,052	0*	0,022	0,015*	0,012	0,018*	0,018	0*	0	0
	191	0,017	0*	0	0,009*	0,020	0,047*	0	0	0	0
	193	0	0,633*	0,013	0,284*	0,035	0,253*	0,063	0,750*	0	0,500*
	195	0,500	0*	0,063	0,158*	0,383	0,094*	0,643	0,200*	0,286	0,400*
	197	0,069	0*	0,129	0,058*	0,091	0,035*	0,089	0*	0,714	0*
	199	0,086	0,067*	0,027	0,029*	0,064	0,041*	0,036	0,050*	0	0,100*
	201	0,086	0*	0,004	0,006*	0,015	0*	0,045	0*	0	0
Rrid 171A	155	0	0	0	0,003*	0,012	0*	0	0	0	0
	157	0,190	0,333	0,223	0,190*	0,149	0,206*	0,018	0,050	0,143	0,300
	159	0	0,033	0,054	0,044*	0,003	0*	0	0	0	0
	161	0,034	0	0,009	0,020*	0,009	0,012*	0	0	0	0
	163	0	0	0	0,003*	0,009	0*	0,009	0	0	0
	165	0	0	0,004	0,006*	0,006	0,006*	0,009	0	0	0
	167	0	0	0	0,006*	0,009	0,006*	0	0	0	0
	169	0,069	0,133	0,040	0,032*	0,073	0,112*	0	0	0	0
	171	0,017	0	0	0,006*	0	0	0	0	0	0
	173	0	0	0	0,003*	0	0	0,009	0	0	0
	175	0	0	0,027	0,018*	0	0,012*	0,009	0	0	0,100
	177	0,086	0,067	0,281	0,208*	0,135	0,171*	0,054	0,150	0,357	0,300
	179	0	0	0,063	0,038*	0,020	0,053*	0,027	0	0	0,100
	181	0	0	0,201	0,108*	0,041	0,029*	0,027	0,050	0,071	0
	183	0	0	0	0,003*	0,003	0,006*	0	0	0	0
	185	0	0,033	0,009	0,018*	0,003	0,006*	0,009	0	0	0
	187	0	0	0	0,003*	0,003	0,018*	0,018	0	0	0
	189	0	0	0,009	0,006*	0,003	0*	0	0	0	0
	191	0	0	0	0	0,006	0,012*	0,045	0	0	0
	193	0,121	0,133	0,013	0,105*	0,287	0,129*	0,196	0,350	0,214	0,200
	195	0,121	0	0	0,050*	0,070	0,076*	0,125	0	0,214	0
	197	0,034	0,033	0,013	0,035*	0,038	0,035*	0,018	0	0	0
	199	0,103	0,033	0	0,003*	0,012	0,035*	0,027	0,050	0	0
	201	0	0	0,009	0*	0,006	0,006*	0	0	0	0
203	0	0	0,009	0*	0,003	0,006*	0	0	0	0	
205	0	0	0	0,006*	0,003	0*	0	0	0	0	
207	0,017	0	0	0	0	0,006*	0	0	0	0	
209	0,017	0	0,004	0,003*	0,003	0,006*	0	0	0	0	
211	0,017	0	0,004	0,003*	0	0	0,018	0	0	0	
213	0	0,033	0,009	0,012*	0,015	0,006*	0	0	0	0	
215	0,069	0	0,004	0,050*	0,044	0,018*	0,071	0,100	0	0	
217	0,069	0,167	0,009	0,012*	0,050	0,029*	0,286	0,250	0	0	
219	0,034	0	0,004	0,006*	0	0	0,018	0	0	0	
221	0	0	0	0,003*	0	0	0,009	0	0	0	