

Бархатов Анатолий Сергеевич

**Популяционная структура комплекса средневропейских зеленых лягушек
(*Pelophylax esculentus* complex) в условиях юга Среднерусской возвышенности**

1.5.15. Экология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Научный руководитель: **Снегин Эдуард Анатольевич**
доктор биологических наук, доцент,
ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет Институт фармации, химии и биологии, профессор кафедры биологии, директор НИЦ геномной селекции

Официальные оппоненты: **Вершинин Владимир Леонидович**
доктор биологических наук, профессор,
ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, заведующий лабораторией функциональной экологии наземных животных

Свинин Антон Олегович
кандидат биологических наук,
ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории экологической генетики и метагеномики

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пензенский государственный университет»

Защита диссертации состоится «23» ноября 2022 г. в 15:00 на заседании диссертационного совета ПДС 0800.001 в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «РУДН» по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Объявление о защите и текст автореферата размещены на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования РФ (www.vak.minobrnauki.gov.ru) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet>.

Автореферат разослан «__» _____ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 0800.001,
доцент, кандидат химических наук

Харламова М.Д.

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Под действием антропогенного пресса, оказывающего разнообразное влияние на органический мир, происходят адаптивные изменения в популяционной структуре видов, затрагивающие ее генетический и фенотипический состав (Вершинин, 2007). При этом зачастую в популяциях может происходить уменьшение аллельного разнообразия, которое является «мобилизационным резервом» предохраняющим ее от вымирания, в стремительно меняющихся условиях среды (Шмальгаузен, 1968). Следствием снижения жизнеспособности популяций является потеря устойчивости экосистем. Поэтому для анализа состояния естественных сообществ в различных ландшафтах, необходимо осуществлять мониторинг за состоянием популяций. Особенно это касается видов биоиндикаторов антропогенного воздействия. Бесхвостые земноводные хорошо зарекомендовали себя в качестве таковых. Обитая на границе двух сфер, они являются связующим элементом в трофических цепях водной и наземной стадий (Файзулин и др., 2012). По состоянию популяций земноводных, можно судить о жизнеспособности других гидробионтов и водных сообществ в целом. Среди земноводных 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 прудовую лягушку *P. lessonae* (Camerano, 1882), гибридную форму (съедобная лягушка) *P. esculentus* (Linnaeus, 1758) и озерную лягушку *P. ridibundus* (Pallas, 1771), которая представляет собой ряд криптических форм (*Pelophylax ridibundus* complex). По литературным данным на востоке ареала *P. ridibundus* complex представлен как минимум двумя генетически дифференцированными формами, а именно «западная» форма – *P. ridibundus* и «восточная» – *P. cf. bedriagae* таксономический статус, которых является предметом дискуссий (Plötner, 2005).

Степень научной разработанности темы исследования. Средневропейские зеленые лягушки являются одними из самых хорошо изученных представителей бесхвостых земноводных (*Anura*). Несмотря на то, что комплекс средневропейских зеленых лягушек имеет давнюю историю изучения, наибольший интерес отечественных и зарубежных ученых к данному комплексу возник в середине XX века после открытия Л. Бергером гибридной природы съедобной лягушки (*Pelophylax esculentus*).

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

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

Задачи исследования:

1. На основе молекулярно-генетических маркеров провести видовую идентификацию комплекса средневропейских 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 средневропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex), обитающие в условиях антропогенной нагрузки юга Среднерусской возвышенности.

Предмет исследования. Адаптационные особенности гибридогенного 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 (ДНК-комет) 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 юга Среднерусской возвышенности.

Практическая значимость. 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», «Экологическая генетика» и «Экология животных». Собранный материал был включен в криобанк научно-исследовательского центра геномной селекции НИУ «БелГУ». По результатам диссертационного исследования дана рекомендация о необходимости включения в региональную Красную книгу *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, характеризующийся 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 в период с 2017 по 2020 год. Экспериментальная часть проведена на базе НИЦ геномной селекции НИУ «БелГУ». Суммарно личное участие автора в работе составляет более 80 %.

Степень достоверности и апробация результатов. 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).

Публикации. 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.

II. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 1. Обзор литературы

В первой главе диссертационного исследования, рассматривается роль популяции, как элементарной единицы эволюции. Приводится краткое описание истории изучения гибридогенного комплекса зеленых лягушек, а также современные представления о механизмах его воспроизводства. Отдельный раздел посвящен экологическим исследованиям комплекса среднеевропейских зеленых лягушек.

Глава 2. Физико-географическая характеристика района исследования

В главе приводится краткое описание физико-географических особенностей юга Среднерусской возвышенности и описание техногенной нагрузки на территории исследования.

Глава 3. Материалы и методы исследования

Изучение популяционной структуры *P. esculentus* complex проводили на основе морфометрических, морфофизиологических и фенотипических признаков, а также молекулярно-генетических маркеров. Ввиду того, что для описания групп зеленых лягушек, которые населяют определенные местообитания и совместно принимают участие в размножении, используют термин «популяционные системы», для удобства изложения в нашей работе термин «популяционная система» среднеевропейских зеленых лягушек мы заменили термином «популяция».

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 проводился в летние полевые сезоны 2017–2020 г.. Пункты сбора отличались степенью антропогенной нагрузки согласно классификации, предложенной В.Л. Вершининым (1997) и Р.И. Замалетдиновым (2003) (рис. 1).

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. 1).

Таблица 1

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 |

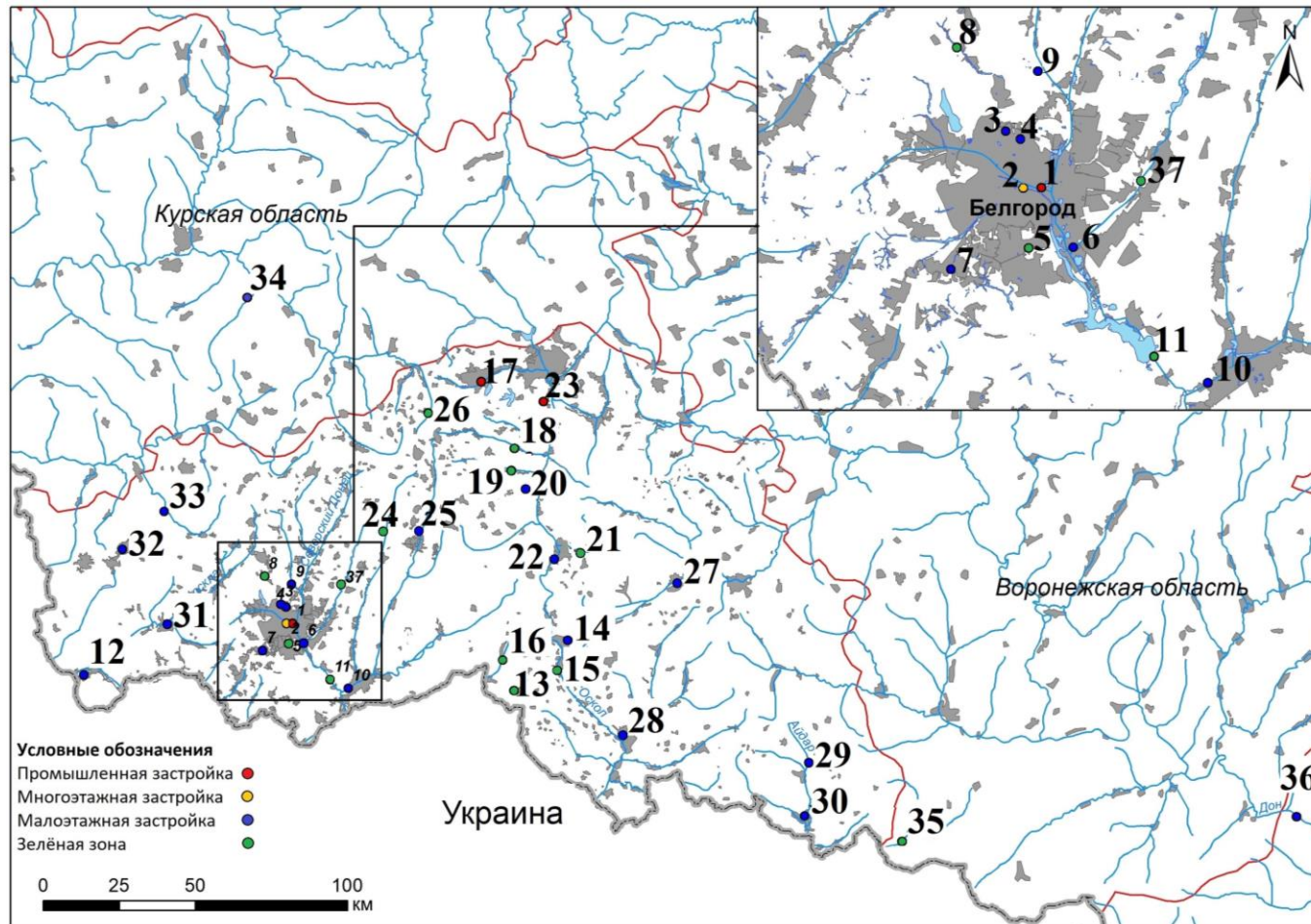


Рис. 1. Пункты сбора *P. esculentus* complex: 1 – «Северский Донец», 2 – «Везелка», 3 – «Оскочное», 4 – «Ячевский», 5 – «Дубовое», 6 – «Устье», 7 – «Майский», 8 – «Северный», 9 – «Шопино», 10 – «Нежеголь», 11 – «Графовка», 12 – «Глотово», 13 – «Плотва», 14 – «Сазон», 15 – «Оскол 1», 16 – «Волчья», 17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

Для измерения морфометрических показателей использовали стандартные линейные промеры, принятые для бесхвостых земноводных: 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. 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., (Таращук, 1989). Для анализа изменчивости морфометрических признаков и морфофизиологических показателей использовались только половозрелые особи. Вариацию окраски спины исследовали по общепринятым методикам (Боркин, Тихенко 1979; Лада, Соколов, 1999). Для оценки физиологического состояния земноводных рассчитывали индексы печени, сердца и почек (Шварц и др. 1968).

Определение видового состава анализируемых популяций проводили с помощью двух молекулярно-генетических маркеров: интрон 1 гена сывороточного альбумина SAI-1 яДНК использовали для определения гибридов и криптических форм; фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы COI мтДНК – для определения материнских линий. Анализ осуществляли на основе мультиплексной ПЦР-тест системы, разработанной для идентификации видов *P. esculentus* complex (Ermakov et al., 2019). В качестве положительного контроля использовали материал с проанализированной последовательностью генов SAI-1 яДНК (871 п.н.) и ND2 мтДНК (1038 п.н.).

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*).

Тип популяционной системы (ПС) указанный в таблицах 4 и 5 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 *P. ridibundus*, *P. esculentus* и *P. lessonae* (Uzzell, Berger, 1975; Lada et al., 1995).

Электрофорез изоферментов проводили в 10%-ном полиакриламидном разделяющем геле (Остерман, 1981). В анализе были задействованы 3 полиморфных локуса изоферментов, наследуемых по кодоминантному типу: два локуса мономерных эстераз с тремя аллельными вариантами (EST-1 и EST-2) (Снегин, Бархатов, 2019), и димерный локус лактатдегидрогеназы (LDH-3) с тремя аллелями.

Генетическую структуру популяций анализировали также с использованием семи микросателлитных маркеров (Res14; Res15; Res17; Res22; Rrid059A; Rrid082A; Rrid171A), скомпонованных в одну мультиплексную панель (Mikulíček, Pišút, 2012).

Устойчивость популяций озерной лягушки к действию генотоксичных загрязнителей оценивали при помощи метода ДНК-комет (Ostling, Johanson, 1984). Ввиду высокой чувствительности метода и необходимостью проведения эксперимента в день сбора, отбор животных проводили в г. Белгород и его окрестностях. Сбор проведен в 6 локалитетах, отличающихся, уровнем антропогенного пресса. Из каждой точки отбирали по 5 особей. На каждом препарате проанализировали не менее 100 клеток, отдельно учитывали клетки, находящиеся в состоянии апоптоза.

Общий объем проанализированного материала представлен в таблице 2.

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 «Северюково» исследование проведено только с помощью метода ДНК-комет на основе нашего предыдущего исследования (Бархатов, 2017; Snegin et al., 2018).

Таблица 2

| Морфометрические признаки | Морфофизиологические показатели | Фенотипические признаки | Изоферменты и ДНК маркеры | Метод ДНК-комет |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------|
| 436 (225 самок; 211 самцов) | 451 | 748 | 770 | 30 |

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ PAST V.3.1 (Hammer, et. al., 2001), GenAlEx v.6.5 (Peakall, Smouse, 2006), divMigrate online (Sundqvist et. al., 2016), NeEstimator.2 (Do et.al., 2014).

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. Как правило, родительские виды хорошо идентифицируются по внешним морфологическим признакам, но гибридные особи часто 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, а именно «западную» форму *P. ridibundus* и «восточную» *P. cf. bedriagae*.

Результаты молекулярно-генетического анализа видового состава комплекса представлены в таблице 3. Согласно полученным данным по маркеру яДНК (SAI-1) распределение частот аллелей «восточной» и «западной» форм озерных лягушек практически одинаково. Однако в случае мтДНК наблюдается преобладание гаплотипа «западной» формы (*P. ridibundus*) R_{mt} 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 из восточной части ареала озерной лягушки (Иванов, 2019). При этом стоит отметить, что в изучаемых нами 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*). Согласно литературным данным более 30% озерных лягушек в Центральной Европе имеют чужеродную мтДНК прудовой лягушки (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).

Данные типов яДНК и мтДНК в популяциях
Pelophylax esculentus complex юга Среднерусской возвышенности

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

Примечание: ПС – тип популяционной системы; R – аллели и гаплотипы «западной» формы озерной лягушки; B – аллели и гаплотипы «восточной» формы L – аллели и гаплотипы прудовой лягушки

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). Отсутствие в регионе исследования «генетически чистых» особей *P. lessonae*

свидетельствует об изменениях популяционных систем комплекса средневропейских зеленых лягушек в сторону преобладания генома *P. ridibundus*.

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), тем не менее, трансформация естественных биотопов приводит к синтопии *Pelophylax esculentus* complex (Лада, 2012). Сокращение лесных массивов, которое наблюдается в районе исследования, вероятно, может служить причиной исчезновения здесь *P. lessonae*. По данным многолетних наблюдений Г.А. Лады (2021) на территории Русской равнины происходит изменение популяционных систем средневропейских зеленых лягушек от LE-типа к REL-типу, а также от E-типа к RE-типу. Кроме того, активные миграции зеленых лягушек и изменения популяционных систем могут быть обусловлены деградацией водных объектов в районе исследования.

На основании выше изложенного, 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 зеленых лягушек в условиях юга Среднерусской возвышенности

5.1. Морфометрическая изменчивость криптических 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 на примере криптических форм озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex). 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 H-критерия Краскела-Уоллиса морфометрических индексов выявил статистически значимые отличия ($p < 0,05$) по всем индексам за исключением признаков L./C.int у самцов и L./F., D.p./C.int.1. у самок. Кластерный анализ выявил неоднозначную картину, географически близкие локалитеты оказываются в разных кладах (рис. 2).

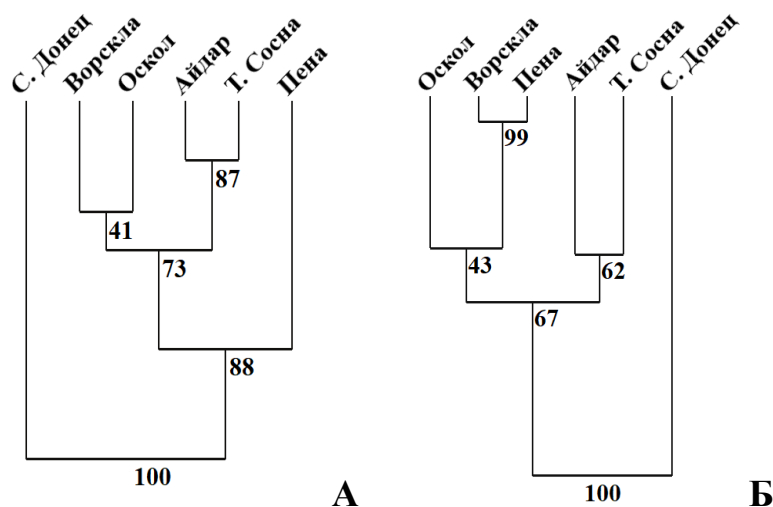


Рис. 2. Кластерный анализ морфометрических индексов (с числом бутстреп-реализаций 5000): А – самцов. Б – самок

Например, самцы из близко расположенных популяций «Пена» и «Ворскла» по результатам анализа расположились в разных кладах, в то время как удаленные друг от друга популяции «Айдар» и «Тихая Сосна» образуют одну кладу. Подобное распределение наблюдается и у самок. Обращает внимание тот факт, что в обоих случаях (среди самцов и самок) отдельный кластер образует популяция «Северский Донец».

Таким образом, полагаем, что морфометрическая изменчивость изучаемых популяций может быть обусловлена генетической гетерогенностью изучаемого комплекса. Кластерный анализ, выявивший близость популяций по размерным характеристикам, обитающих в разных бассейнах и природно-территориальных комплексах района исследования подтверждает данную гипотезу.

5.2. Анализ фенотипической структуры популяций *Pelophylax esculentus* complex

Наибольшее фенотипическое разнообразие отмечается в естественных или мало нарушенных биотопах. Высокое 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» ($6,321 \pm 0,442$). Самыми мономорфными оказались популяции, обитающие в урбанизированных ландшафтах: №4 «Ячевский» ($2,494 \pm 0,838$); №3 «Оскочное» ($2,742 \pm 0,764$); №6 «Устье» ($2,848 \pm 0,674$); №2 «Везелка» ($2,914 \pm 0,077$); №1 «Северский Донец» ($3,419 \pm 0,803$). При повышении антропогенной нагрузки, наблюдается пропорциональное увеличение доли редких морф (h) в популяциях: №4 «Ячевский» ($0,644 \pm 0,119$), №3 «Оскочное» ($0,608 \pm 0,109$) и №6 «Устье» ($0,593 \pm 0,096$), обитающих в урбанизированных ландшафтах г. Белгорода. Анализ главных компонент (РСА) попарного сравнения на основе фенотипического сходства (r) (рис. 3) показал схожесть большинства популяций. При этом на первую (PC1) компоненту приходится 5,9%, а на вторую (PC2) – 4,4% от общей дисперсии, что может служить дополнительным доказательством существования единой панмиктической популяции в районе исследования.

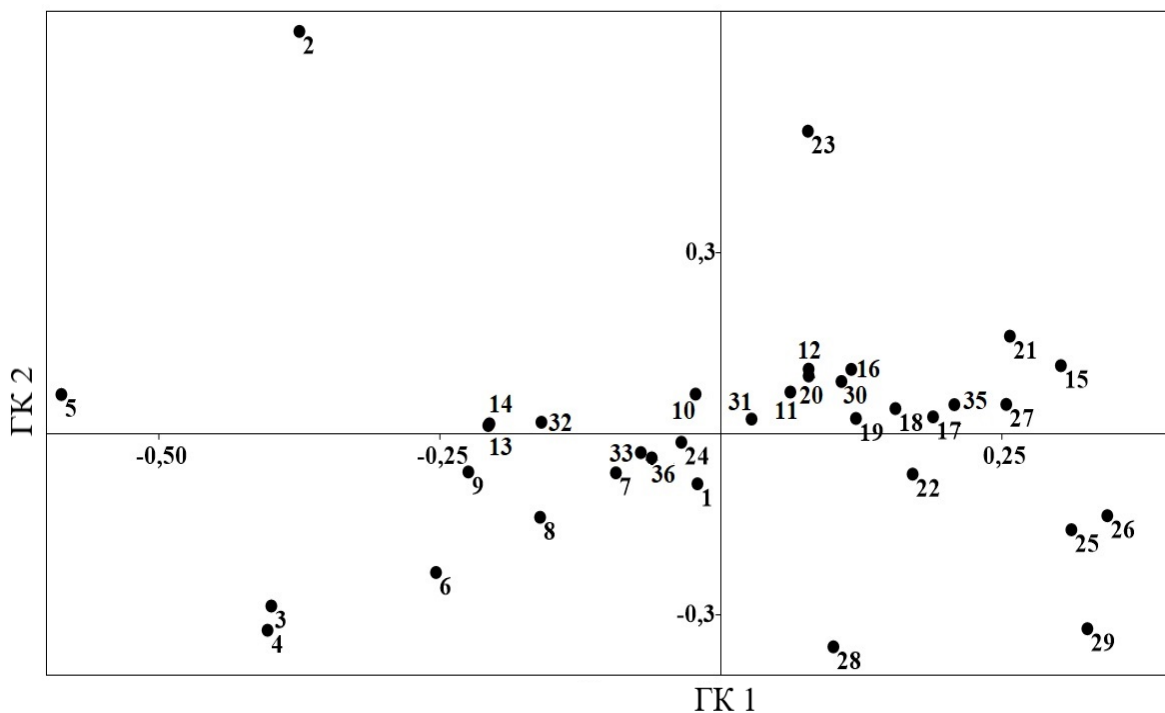


Рис. 3. Ординация центроидов на основании матрицы попарных оценок фенотипического сходства (r) популяций *P. esculentus* complex

При этом на графике были выявлены оригинальные группы, которые сильно дистанцировались от других популяций. В условиях сильного антропогенного пресса по соотношению частот фенотипов значительно дистанцировались популяции №2 «Везелка» и №23 «Чуфичка». В изолированных биотопах от общей группы отдалены популяции: №3 «Оскочное»; №4 «Ячевский»; №5 «Дубовое», при этом стоит отметить, что данные локалитеты находятся в окрестностях г. Белгород. Отделяются также популяции, обитающие в малонарушенных биотопах: №28 «Валуи»; №29 «Голубой Дунай».

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 и др., 1968). Известно, что индекс печени представляет собой один из показателей «экологического благополучия популяции» (Спирина, 2007; Корж, Задорожная, 2013) и его снижение может указывать на значительные энергетические затраты животного на биотрансформацию ксенобитиков. По указанному индексу нами выявлены статистически значимые отличия между популяциями, обитающими в естественных, мало нарушенных биотопах с одной стороны, и на импактных территориях с другой ($p < 0,001$).

Так, 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. Наименьшие значения индекса печени отмечены, как в урбанизированных ландшафтах г. Белгород: №2 «Везелка» ($17,86 \pm 0,88$); №8 «Северный» ($18,22 \pm 1,01$); №3 «Оскочное» ($20,13 \pm 1,52$); №6 «Устье» ($21,51 \pm 2,78$), так 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 (№25 «Короча»; №19 «Ольшанка»; №18 «Орлик»; №20 «Халань» и №23 «Чуфичка»), вероятнее всего, обусловлено смывом удобрений и пестицидов с полей дождевыми и талыми водами, а также расположенными рядом Горно-обогачительными комбинатами Курской магнитной аномалии (ГОК КМА).

В нашем исследовании корреляции между индексами сердца и почек с одной стороны, и действием антропогенного пресса с другой – не выявлено. Наибольшее значение индекса сердца установлено в популяции №27 «Тихая Сосна» ($5,85 \pm 0,48$); №36 «Дон» ($5,76 \pm 0,26$); №32 «Ракита» ($4,94 \pm 0,21$). А наибольшие показатели индекса почек отмечены в группах №32 «Ракита» ($4,88 \pm 0,28$); №22 «Оскол» ($4,69 \pm 0,37$); №14 «Сазон» ($4,68 \pm 0,41$); №24 «Корень» ($4,67 \pm 0,41$).

Выявленные статистически значимые отличия ($p < 0,05$) между изучаемыми пунктами по индексам указанных органов свидетельствуют об изменении уровня метаболизма в изучаемых популяциях. Регрессионный анализ сравнения индексов сердца и почек также выявил достоверную зависимость между этими показателями $R = 0,438$ ($p < 0,001$), при этом регрессионный анализ не выявил достоверной зависимости между индексами печени и почек, а также печени и сердца. 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.

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. Результаты оценки генетического разнообразия изучаемых групп *Pelophylax esculentus* complex, представленные в таблицах 4 и 5, демонстрируют их высокую генетическую гетерогенность.

Таблица 4

Показатели генетического разнообразия в популяциях *P. esculentus* complex, по изоферментным маркерам.

| Популяция | N | %P | A | Ae | I | Ho | He | F | Тип ПС |
|---------------|----|-----|--------------|---------------|--------------|-----------------|---------------|------------------|--------|
| 1. С. Донец | 19 | 100 | 2,67 | 2,26 | 0,84 | 0,509 | 0,508 | -0,035 | RE |
| 2. Везелка | 20 | 100 | 3 | 2,12 | 0,85 | 0,433 | 0,507 | 0,097 | R |
| 3. Оскочное | 20 | 100 | 3 | 2,1 | 0,83 | 0,383 | 0,488 | 0,256 | RE |
| 4. Ячевски | 16 | 100 | 3 | 1,76 | 0,65 | 0,417 | 0,368 | -0,065 | RE |
| 5. Дубовое | 18 | 100 | 2,67 | 1,89 | 0,72 | 0,407 | 0,419 | 0,003 | RE |
| 6. Устье | 26 | 100 | 2,33 | 1,76 | 0,53 | 0,231 | 0,305 | 0,073 | RE |
| 7. Майский | 16 | 100 | 2,67 | 2,07 | 0,71 | 0,438 | 0,421 | -0,030 | RE |
| 8. Северный | 22 | 100 | 2,67 | 1,99 | 0,71 | 0,515 | 0,430 | -0,172 | RE |
| 9. Шопино | 23 | 100 | 2,67 | 2,12 | 0,73 | 0,348 | 0,439 | 0,116 | RE |
| 10. Нежеголь | 22 | 100 | 3 | 2,42 | 0,95 | 0,682 | 0,571 | -0,171 | RE |
| 11. Графовка | 17 | 100 | 3 | 2,6 | 1,02 | 0,784 | 0,615 | -0,275 | R |
| 12. Глотова | 25 | 100 | 3 | 2,39 | 0,96 | 0,667 | 0,578 | -0,152 | RE |
| 13. Плотва | 13 | 100 | 3 | 2,5 | 0,97 | 0,744 | 0,595 | -0,246 | R |
| 14. Сазон | 20 | 100 | 3 | 2,42 | 0,97 | 0,683 | 0,574 | -0,191 | R |
| 15. Оскол 1 | 22 | 100 | 3 | 2,42 | 0,96 | 0,742 | 0,578 | -0,276 | R |
| 16. Волчья | 18 | 100 | 3 | 2,52 | 1 | 0,741 | 0,600 | -0,254 | R |
| 17. Губкин | 60 | 100 | 3 | 2,39 | 0,96 | 0,506 | 0,571 | 0,108 | R |
| 18. Орлик | 25 | 100 | 3 | 2,34 | 0,93 | 0,667 | 0,552 | -0,222 | R |
| 19. Ольшанка | 14 | 100 | 3 | 2,32 | 0,93 | 0,690 | 0,565 | -0,242 | R |
| 20. Халань | 34 | 100 | 2,67 | 2,14 | 0,80 | 0,559 | 0,511 | -0,139 | R |
| 21. Беленькая | 24 | 100 | 2,67 | 2,35 | 0,86 | 0,694 | 0,560 | -0,313 | R |
| 22. Оскол | 18 | 100 | 3 | 2,43 | 0,97 | 0,704 | 0,582 | -0,223 | R |
| 23. Чуфичка | 15 | 100 | 3 | 2,38 | 0,93 | 0,711 | 0,576 | -0,244 | R |
| 24. Корень | 19 | 100 | 3 | 2,37 | 0,94 | 0,579 | 0,564 | -0,036 | RE |
| 25. Короча | 14 | 100 | 2,67 | 2,34 | 0,86 | 0,619 | 0,525 | -0,195 | RE |
| 26. Сейм | 17 | 100 | 3 | 2,12 | 0,86 | 0,373 | 0,528 | 0,294 | R |
| 27. Т. Сосна | 22 | 100 | 3 | 2,64 | 1,02 | 0,545 | 0,610 | 0,070 | R |
| 28. Валуй | 24 | 100 | 2,67 | 2,14 | 0,78 | 0,653 | 0,497 | -0,348 | R |
| 29. Г. Дунай | 21 | 100 | 2,67 | 2,32 | 0,89 | 0,810 | 0,563 | -0,478 | R |
| 30. Айдар | 33 | 100 | 3 | 2,78 | 1,05 | 0,859 | 0,639 | -0,344 | R |
| 31. Ворскла | 19 | 100 | 3 | 2,67 | 1,03 | 0,702 | 0,624 | -0,129 | REL |
| 32. Ракита | 21 | 100 | 3 | 2,51 | 0,97 | 0,746 | 0,594 | -0,236 | RE |
| 33. Пена | 27 | 100 | 3 | 2,65 | 1,02 | 0,704 | 0,620 | -0,138 | RE |
| 34. Полная | 22 | 100 | 3 | 2,82 | 1,07 | 0,758 | 0,645 | -0,180 | R |
| 35. Белая | 12 | 100 | 3 | 2,73 | 1,05 | 0,611 | 0,633 | 0,033 | R |
| 36. Дон | 12 | 100 | 3 | 2,71 | 1,04 | 0,639 | 0,630 | -0,003 | R |
| Среднее | | 100 | 2,89 ±0,0 | 2,35 ±0,05 | 0,9 ±0,02 | 0,607 ±0,023 | 0,544 ±0,0 | -0,119 ±0,031 | - |

Примечание: здесь и в таблице 5: 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).

Показатели генетического разнообразия в популяциях *P. esculentus* complex по микросателлитным маркерам ДНК.

| Локалитеты | N | %P | A | Ae | I | Ho | He | F | Тип |
|---------------|----|-----|---------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|
| 1. С. Донец | 19 | 100 | 10,14 | 5,14 | 1,76 | 0,549 | 0,735 | 0,282 | RE |
| 2. Везелка | 20 | 100 | 9,57 | 4,89 | 1,68 | 0,429 | 0,699 | 0,365 | R |
| 3. Оскочное | 20 | 100 | 14 | 8,52 | 2,14 | 0,621 | 0,809 | 0,260 | RE |
| 4. Ячевский | 16 | 100 | 11,71 | 7,02 | 1,97 | 0,589 | 0,774 | 0,271 | RE |
| 5. Дубовое | 18 | 100 | 8,86 | 4,2 | 1,56 | 0,373 | 0,664 | 0,478 | RE |
| 6. Устье | 26 | 100 | 9,71 | 4,94 | 1,66 | 0,401 | 0,696 | 0,438 | RE |
| 7. Майский | 16 | 100 | 7,29 | 3,58 | 1,32 | 0,339 | 0,582 | 0,403 | RE |
| 8. Северный | 22 | 100 | 7,86 | 4,03 | 1,33 | 0,409 | 0,586 | 0,304 | RE |
| 9. Шопино | 23 | 100 | 9,29 | 3,76 | 1,42 | 0,447 | 0,596 | 0,238 | RE |
| 10. Нежеголь | 22 | 100 | 9 | 4,97 | 1,5 | 0,455 | 0,642 | 0,282 | RE |
| 11. Графовка | 17 | 100 | 5,43 | 2,96 | 1,19 | 0,588 | 0,597 | 0,006 | R |
| 12. Глотова | 25 | 100 | 11,57 | 5,56 | 1,93 | 0,611 | 0,783 | 0,224 | RE |
| 13. Плотва | 13 | 100 | 9,57 | 6,54 | 1,72 | 0,571 | 0,708 | 0,243 | R |
| 14. Сазон | 20 | 100 | 11,57 | 6,67 | 1,84 | 0,621 | 0,749 | 0,186 | R |
| 15. Оскол 1 | 22 | 100 | 9,43 | 4,18 | 1,6 | 0,429 | 0,682 | 0,409 | R |
| 16. Волчья | 18 | 100 | 7,29 | 4,04 | 1,4 | 0,500 | 0,640 | 0,163 | R |
| 17. Губкин | 60 | 100 | 17,14 | 5,15 | 2,01 | 0,510 | 0,775 | 0,361 | R |
| 18. Орлик | 25 | 100 | 14,14 | 7,82 | 1,94 | 0,566 | 0,737 | 0,288 | R |
| 19. Ольшанка | 14 | 100 | 7,14 | 3,21 | 1,39 | 0,469 | 0,653 | 0,306 | R |
| 20. Халань | 34 | 100 | 14,43 | 5,39 | 1,98 | 0,546 | 0,776 | 0,319 | R |
| 21. Беленькая | 24 | 100 | 9,71 | 4,98 | 1,55 | 0,429 | 0,655 | 0,325 | R |
| 22. Оскол | 18 | 100 | 8,71 | 5,68 | 1,84 | 0,500 | 0,792 | 0,376 | R |
| 23. Чуфичка | 15 | 100 | 9,86 | 5,26 | 1,85 | 0,514 | 0,779 | 0,341 | R |
| 24. Корень | 19 | 100 | 6,71 | 3,99 | 1,39 | 0,571 | 0,644 | 0,142 | RE |
| 25. Короча | 14 | 100 | 5,57 | 2,74 | 1,18 | 0,520 | 0,575 | 0,113 | RE |
| 26. Сейм | 17 | 100 | 7,14 | 4,45 | 1,45 | 0,471 | 0,653 | 0,237 | R |
| 27. Т. Сосна | 22 | 100 | 7,57 | 4,12 | 1,48 | 0,474 | 0,685 | 0,354 | R |
| 28. Валуй | 24 | 100 | 7,57 | 2,69 | 1,26 | 0,488 | 0,588 | 0,197 | R |
| 29. Г. Дунай | 21 | 100 | 8 | 3,59 | 1,4 | 0,463 | 0,601 | 0,265 | R |
| 30. Айдар | 33 | 100 | 12,14 | 4,35 | 1,76 | 0,502 | 0,701 | 0,328 | R |
| 31. Ворскла | 19 | 100 | 7,57 | 3,88 | 1,52 | 0,534 | 0,691 | 0,266 | REL |
| 32. Ракига | 21 | 100 | 6 | 3,25 | 1,33 | 0,571 | 0,655 | 0,152 | RE |
| 33. Пена | 27 | 100 | 6,29 | 3,11 | 1,3 | 0,476 | 0,650 | 0,298 | RE |
| 34. Полная | 22 | 100 | 9,14 | 4,41 | 1,65 | 0,487 | 0,724 | 0,349 | R |
| 35. Белая | 12 | 100 | 4,29 | 2,7 | 1,01 | 0,357 | 0,519 | 0,261 | R |
| 36. Дон | 12 | 100 | 4,43 | 2,75 | 1,13 | 0,429 | 0,599 | 0,347 | R |
| Среднее | | 100 | 9,05 ±0,34 | 4,57 ±0,22 | 1,57 ±0,04 | 0,495± 0,016 | 0,678± 0,011 | 0,283± 0,019 | – |

Среднее число аллелей на локус (A) 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 «Ячневский»; №8 «Северный»; №7 «Майский»; №5 «Дубовое». Однако, по данным микросателлитного анализа, мы наблюдаем обратную картину. 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»). Данное противоречие обусловлено тем, что естественный отбор оказывает значительное влияние на формирование аллельного состава популяции по изоферментным локусам. О чем также свидетельствует высокий коэффициент корреляции ($R = 0,699$, $p < 0,001$) между показателями внутривидового фенотипического разнообразия и наблюдаемой гетерозиготностью, при этом по микросателлитным маркерам, распределение частот аллелей которых обусловлено дрейфом генов, подобная зависимость отсутствует.

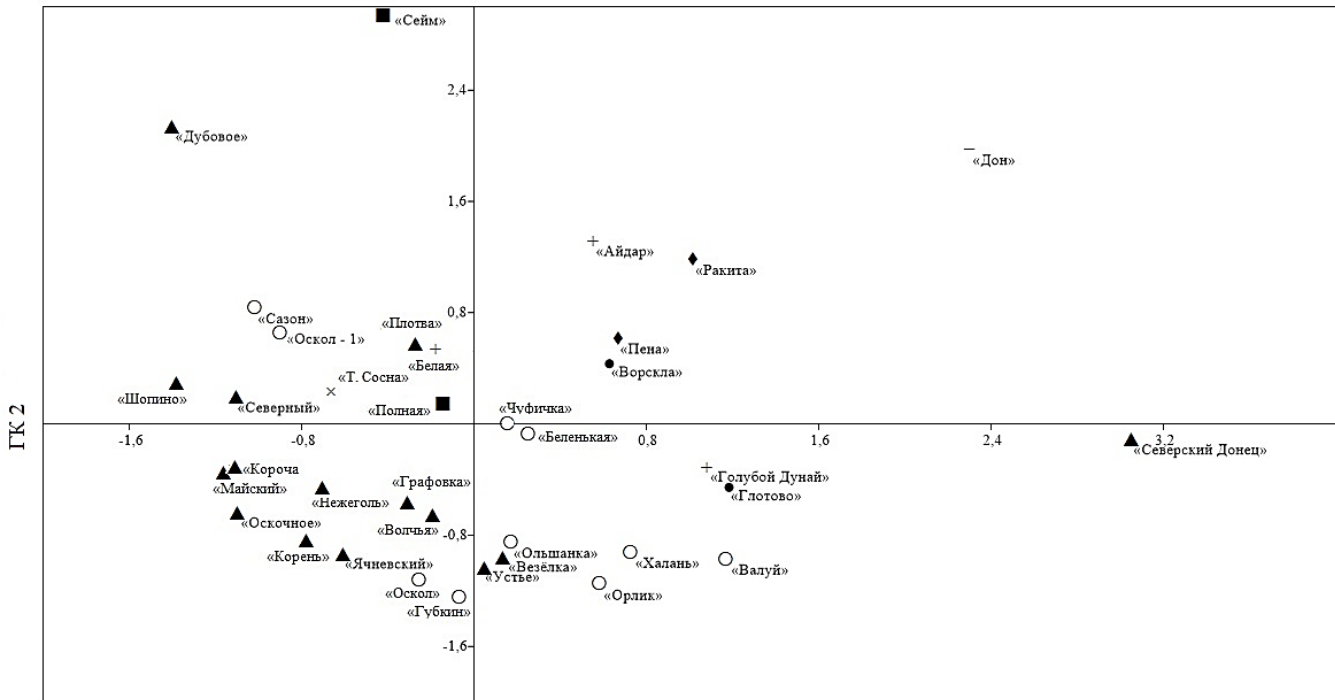
Для оценки уровня подразделенности изучаемых популяций использовали модель Райта. Согласно F-статистике Райта рассчитанной по данным аллозимов, индекс подразделенности популяций (F_{st}) в среднем имеет низкое значение ($0,108 \pm 0,027$), а уровень потока генов ($Nm = 2,495 \pm 0,862$), т.е. больше 1, что «согласно теории эволюции со смещающимся равновесием» (Wright, 1970) свидетельствует об активном обмене генами между популяциями *P. esculentus* complex. Подобные значения наблюдаются и по данным микросателлитных маркеров ($F_{st} = 0,180 \pm 0,017$; $Nm = 1,212 \pm 0,142$).

Проведенный анализ главных компонент генетических расстояний Неи изоферментных маркеров, представленный на рисунке 4, демонстрирует генетическую близость большинства изученных популяций, несмотря на их географическую удаленность. При этом на первую компоненту (PC1) приходится 37 % наблюдаемой изменчивости популяций, а на вторую (PC2) – 30,1% от общей дисперсии. Несмотря на генетическую близость большинства групп, на графике наблюдаются и уникальные популяции. В связи со значительной географической удаленностью дистанцируются: локалитет №36 «Дон», изолированная популяция №5 «Дубовое», исток реки Сейм пункт №26 «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 5, также показал существенную схожесть большинства популяций. При этом первая главная компонента (PC1) отражала 30,5% наблюдаемой изменчивости популяций, а вторая (PC2) – 18,8% общей дисперсии. Ввиду активной миграции средневропейских зеленых лягушек генетическое сходство отмечено не только географически близких популяций, например, №28 «Валуй», №30 «Айдар», №29 «Голубой Дунай», но и географически удаленных групп, например, №25 «Короча», №32 «Ракита», №33 «Пена».

Данные метода главных компонент (PCA) подтверждены регрессионным анализом попарного сравнения логарифмов уровня потока генов (Nm) от логарифмов географических дистанций между ними (Dg), который не показал достоверной зависимости между этими параметрами ($R = 0,04$, $p = 0,312$). Однако микросателлитные маркеры ДНК позволили выявить слабую обратную зависимость между этими показателями (коэффициент корреляции Пирсона $R = -0,350$, $p < 0,001$), что может свидетельствовать о нарушении модели «изоляции расстоянием» в изучаемом комплексе и приближении ее к «островной модели» (Wright, 1943).

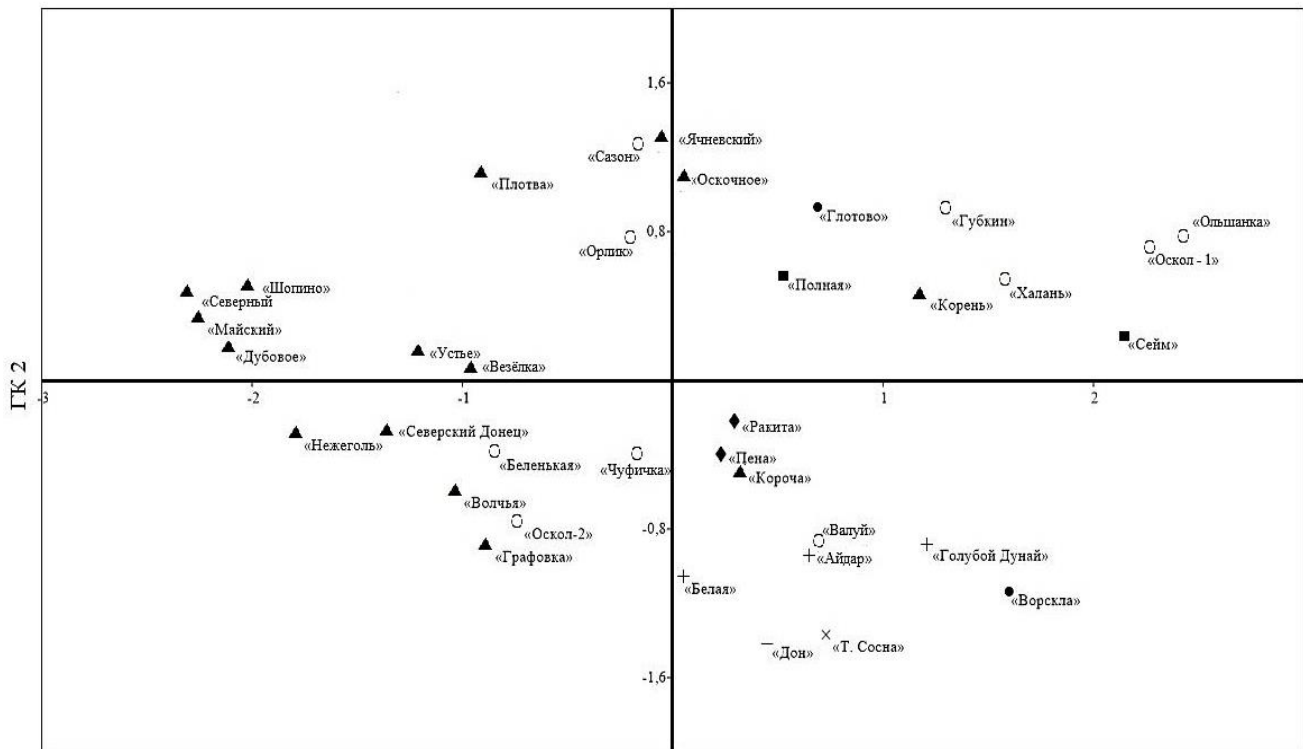
Ввиду того, что полученные данные свидетельствуют о наличии в регионе исследования единой панмиктической популяции, мы провели филогенетический анализ популяций 8 бассейнов полноводных рек юга Среднерусской возвышенности на основе генетических дистанций Неи при помощи метода невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA). Результаты кластерного анализа представлены на рисунке 6 по изоферментным (А) и микросателлитным маркерам (Б) соответственно.



ГК 1

Рис. 4. Ординация центроидов на основании матрицы попарных оценок генетических дистанций М. Неи на основе распределения частот аллелей 3 локусов изоферментов *P. esculentus* complex. Здесь и на рис. 5 значками обозначены популяции бассейнов:

◆ – р. Пена; ● – р. Ворскла; ■ – р. Сейм; ▲ – р. Северский Донец; ○ – р. Оскол; + – р. Айдар; × – р. Тихая Сосна; – – р. Дон



ГК 1

Рис. 5. Ординация центроидов на основании матрицы попарных оценок генетических дистанций М. Неи на основе распределения частот аллелей 7 локусов МС-ДНК

По изоферментам 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%).

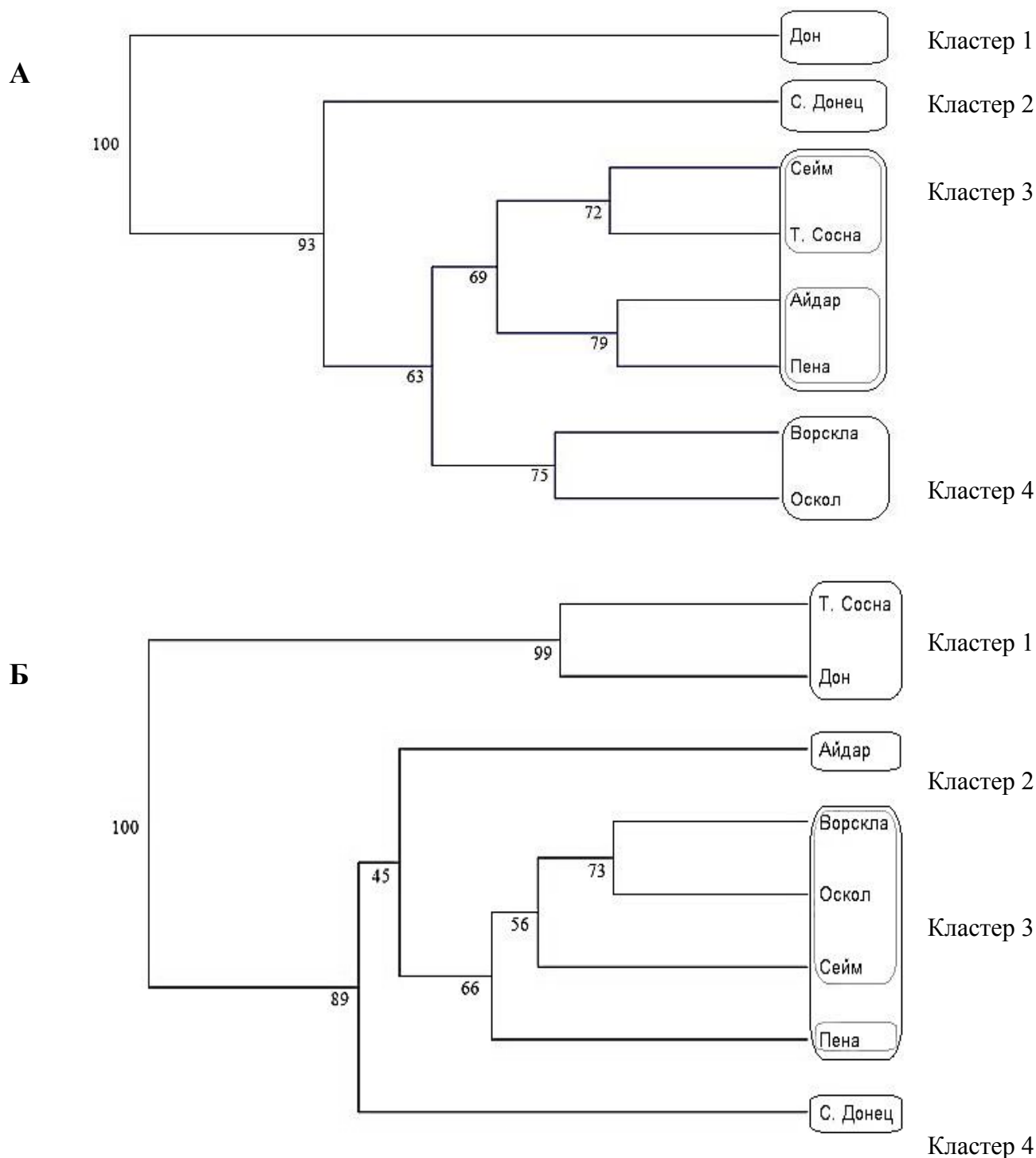


Рис. 6. Дендрограмма генетических расстояний Неи построенная методом UPGMA с числом бутстреп-реализаций 5000.

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

По микросателлитным маркерам, 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; Шабанов, Литвинчук, 2010; Коршунов, 2010). Наше исследование подтверждает это определение.

Для дальнейшего анализа популяционной структуры комплекса среднеевропейских зеленых лягушек, мы создали миграционную сеть, используя критерий Nm (уровень потока генов за поколение), представленную на рисунке 7. Данные, полученные на основе результатов моделирования миграционной сети потока генов, подтверждают выводы, сделанные на основе анализа главных компонент, кластерного и регрессионного анализа, и выявили генетическую близость изучаемых популяций. Данный факт свидетельствует о значительном обмене генами между популяциями, обитающими в Донском и Днепровском водосборном бассейне, несмотря на их географическую отдаленность и изоляцию.

Невысокие значения генетических дистанций по Неи 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 среднеевропейских зеленых лягушек могут быть обусловлены воздействием антропогенных факторов, к которым можно отнести создание искусственных водоемов, мелиорацию земель, преднамеренную или случайную интродукцию, 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 водоемов, 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 при этом 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 рассчитали эффективную численность популяций (N_e) методом неравновесного сцепления генов (LD-метод (linkage disequilibrium)). Данные представлены в таблице 6. Стоит отметить, что анализ эффективной численности популяции представляет собой один из важнейших параметров для оценки их жизнеспособности.

Наибольшее значение N_e зафиксированы в одиннадцати популяциях, где верхний рубеж доверительного интервала оказался бесконечным (∞), это означает, что эффективный размер популяции был оценен как «бесконечно большой». Данный 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.

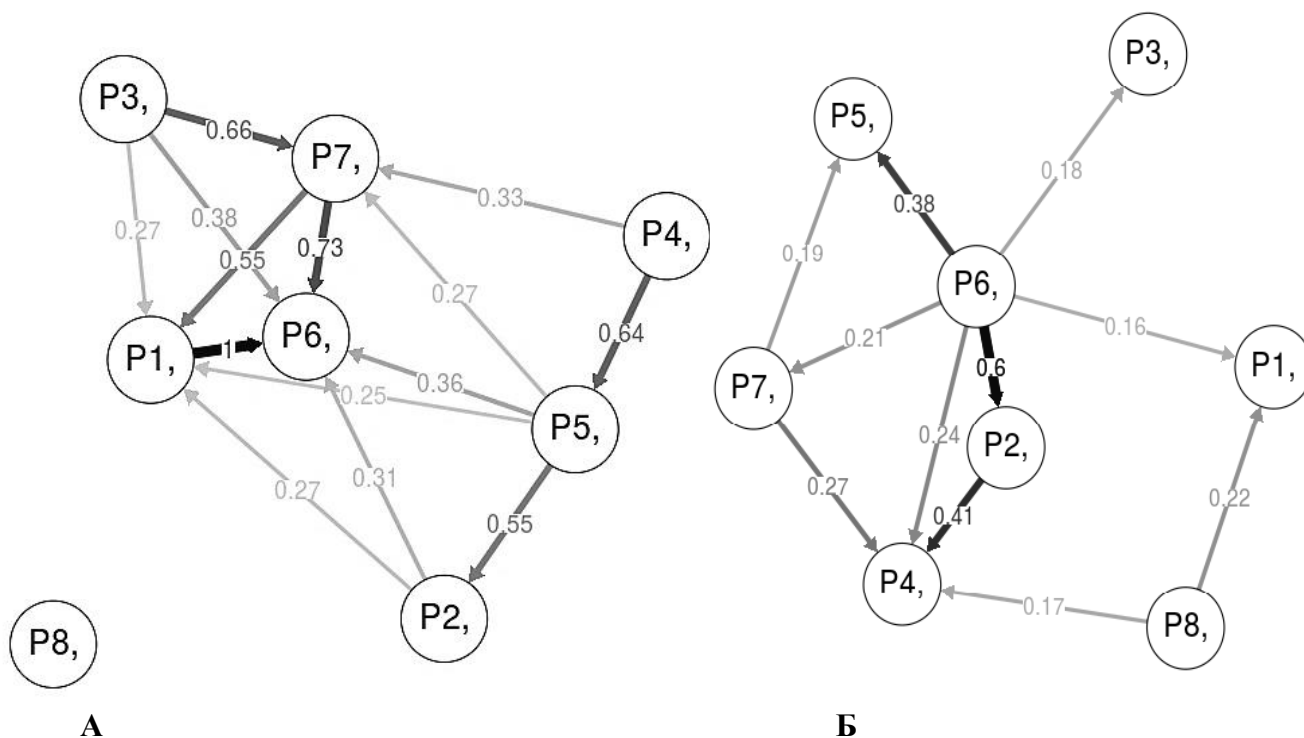


Рис. 7. Уровень потока генов между популяциями, обитающими в различных реках при бутстреп-реализаций 5000 (стрелками указаны направления потока генов).
 А. По данным изоферментных маркеров. Б. По данным микросателлитных маркеров ДНК
 P1 – Пена, P2 – Ворскла, P3 – Сейм, P4 – Северский Донец,
 P5 – Оскол, P6 – Айдар, P7 – Тихая Сосна, P8 – Дон.

В большинстве изученных популяций диапазон эффективной численности оказался меньше 100 особей. Из них в 17 группах эффективная численность оказалась меньше 50 особей. Самое низкое значение эффективного размера отмечено в популяции №28 «Валуй». Данный факт может свидетельствовать о снижении жизнеспособности и уязвимости этой группы.

Таблица 6

Оценка эффективной численности популяций (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. Оскольное | 26,3 | 15,6–57,7 |
| 4. Ячевский | 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 |

| Популяция | № | 95% CI |
|-------------------|-------|------------|
| 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

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

Одним из главных способов оценки адаптивных реакций популяций на воздействие экологических факторов является изучение возрастной структуры популяций. Изменение частот аллелей, как правило, вызванное гибелью особей на разных стадиях онтогенеза, отражает ответную реакцию популяции на пресс естественного отбора.

Ввиду отсутствия возможности определения точного возраста методом скелетохронологического анализа, для выявления возрастных изменений частот аллелей, мы разделили особей на две группы: взрослые (половозрелые) и ювенильные (неполовозрелые). Полученные данные показали, что в большинстве популяций нет статистически значимых отличий ($p < 0,05$) между частотами аллелей и уровнем генетической изменчивости разновозрастных групп. Тем не менее, в ряде случаев удалось зафиксировать достоверные изменения. Так, в группе популяций «Ворскла», достоверные изменения частот аллелей отмечен 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.

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, 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.

Иное распределение частот аллелей у двух возрастных групп комплекса средневропейских зеленых лягушек наблюдается по данным микросателлитных маркеров ДНК. Статистически значимые отличия частот аллелей по всем популяциям было выявлено в трех из семи локусов, а именно: Res17, Rrid059A, Rrid082A. При этом только в популяции бассейна реки Северский Донец выявлено достоверное изменение частот аллелей по всем семи микросателлитным локусам. Подобное расхождение частот аллелей наблюдается и в популяции реки Оскол, в которой несоответствие распределения частот аллелей зафиксировано 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, вызванным антропогенным прессом. 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 и обуславливает сокращение численности популяций к моменту полового созревания и, как следствие, изменение частот аллелей.

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.

Несмотря на сильную антропогенную нагрузку в исследуемых популяциях наблюдается незначительный уровень повреждения ДНК. Данный факт может свидетельствовать, с одной стороны об отсутствии в биотопах генотоксичных поллютантов, а с другой стороны об эффективной работе репаративной системы в клетках лягушек. Тем не менее, значения ИДК позволили выстроить градационную шкалу уровня разрушения ДНК в исследуемых группах лягушек в зависимости от степени загрязнения и близости жилых и промышленных построек. Ввиду отсутствия возможности проведения химического анализа воды для выявления концентрации генотоксичных загрязнителей, мы проанализировали данные по загрязнению поверхностных вод в некоторых исследуемых пунктах из доступных литературных источников. В результате анализа литературных данных гидрохимического мониторинга нами установлена степень азотного загрязнения рек Северский Донец, Везелка и Разумная в пределах Белгородского района (Марыныч и др., 2018; Стороженко и др., 2018, 2019; Киселев, Корнилов, 2019). Стоит отметить, что соединения азота обладают генотоксичным действием (Tamić et. al., 1996; Колясникова, 2019).

Согласно полученным данным (табл. 7) в условиях промышленной и многоэтажной застройки (пункты: №1 «Северский Донец»; №2 «Везелка») наблюдаются одни из самых высоких значений ИДК. При этом в одноименных реках наблюдается превышение предельно допустимой концентрации нитритов в 8 раз для реки Северский Донец и практически 20 раз для реки Везелка. Наибольшее значение ИДК зарегистрировано в пункте №6 «Устье». Здесь же отмечено самое большое количество клеток, находящихся в состоянии апоптоза, что вероятно объясняется ее географическим положением. Преобладающая часть водосборной территории этой реки занята «неканализованной» частной застройкой, а также пашней, куда ежегодно вносятся азотные удобрения, поэтому показатели загрязнения здесь возрастают по мере продвижения от истока реки к устью, где она впадает в реку Северский Донец.

Таблица 7

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

| Пункт | 1. Сев. Донец | 2. Везелка | 3. Оскольное | 4. Ячевский | 6. Устье | 37. Севрюково |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ИДК | 0,454± 0,049 | 0,416± 0,031 | 0,472± 0,061 | 0,186± 0,038 | 0,521± 0,098 | 0,057± 0,011 |
| N | 512 | 523 | 520 | 506 | 521 | 585 |
| Na | 7 | 6 | 4 | - | 9 | - |

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

Наименьшее значение ИДК отмечено в популяции №37 «Севрюково» (верховье реки Разумная), где отсутствуют явные загрязнители и интенсивное течение способствует самоочищению реки.

Несмотря на географическую близость, были выявлены статистически значимые отличия значений ИДК между пунктами №3 «Оскочное» и №4 «Ячевский». Данный феномен можно объяснить локальным загрязнением пруда Оскочное.

Выявленное повышение степени разрушения ДНК в градиенте антропогенного пресса города Белгорода и его окрестностей, свидетельствует о негативном влиянии поллютантов на наследственный аппарат даже такого устойчивого к загрязнителям комплекса. Это должно вызывать озабоченность природоохранных структур, т.к. с большой долей вероятности можно утверждать, что подобные изменения могут затрагивать популяции других менее устойчивых гидробионтов. Все это может негативно сказаться на биоразнообразии региона в целом.

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 , V_{mt}/R_nL_n , R_{mt}/V_nL_n , V_{mt}/V_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 гибридолиза. 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 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.

**Список работ, опубликованных по теме диссертации
Статьи в рецензируемых научных изданиях**

1. Снегин Э. А., Бархатов А. С. Морфогенетическая структура популяций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) в условия городской среды // Теоретическая и прикладная экология. 2019, №1 С. 47–53. DOI: 10.25750/1995-4301-2019-1-047-053 (ВАК, Scopus, Web of Science).
2. Бархатов А. С., Снегин Э. А. Фенотипическая структура популяций *Pelophylax esculentus* complex в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2021. № 3. С. 68–84 (ВАК).
3. Snegin E. A., Barkhatov A. S., Snegina E. A., Adamova V. V. Estimation of damage in populations of marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) based on DNA comet assay // Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018. V. 5, № 6. PP. 6091–6094. DOI: 10.5281/zenodo.1304332 (Web of Science).
4. Бархатов А. С., Снегин Э. А., Юсупов С. Р. Генетическая структура популяций комплекса зеленые лягушки (*Pelophylax esculentus* complex) на территории юга Среднерусской возвышенности // Экологическая генетика. 2021. Т. 19, № 2. С. 107–119 DOI: 10.17816/ecogen48555 (ВАК, Scopus).
5. Снегин Э. А., Бархатов А. С., Киселев В. В., Юсупов С. Р., Снегина Е. А. Оценка степени повреждения геномной ДНК популяций озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771) Белгородской агломерации методом ДНК-комет // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2021. № 55. С. 58–76 (ВАК, Scopus)

Другие публикации

1. Бархатов А. С., Юсупов С. Р. Морфогенетическая структура популяций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* урбанизированных территорий // Экология и эволюция: новые горизонты: материалы Международного симпозиума, посвященного 100-летию академика С. С. Шварца (1–5 апреля, 2019, г. Екатеринбург). Екатеринбург: Гуманитарный университет, 2019. С. 304–306.
2. Снегин Э. А., Бархатов А. С., Снегина Е. А. Анализ генетической структуры популяций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* импактных территорий г. Белгорода на основе микросателлитных маркеров ДНК // Innovations in life sciences: сборник материалов Международного симпозиума. Белгород, 10–11 октября 2019 г. С. 207–209.
3. Бархатов А. С., Юсупов С. Р. Оценка цитогенетической стабильности озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) г. Белгород // Современная герпетология: проблемы и пути их решения: Материалы второй международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран, посвященной 100- летию отделения герпетологии Зоологического института РАН (Санкт- Петербург, Россия, 25–27 ноября 2019 г.). Санкт- Петербург: Зоологический институт РАН, 2019. С 29.
4. Снегин Э. А., Бархатов А. С., Сычев А. А., Снегина Е. А. Видовой состав комплекса зеленые лягушки (*Pelophylax esculentus* complex) Белгородской агломерации на основе ДНК-маркеров // Innovations in life sciences: сборник материалов II международного симпозиума, г. Белгород, 19–20 мая 2020 г. / отв. ред. И.В. Спичак. Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ», 2020. С. 274–275.
5. Снегин Э. А., Юсупов С. Р., Бархатов А. С., Артемчук О. Ю. Оценка степени повреждения ДНК в популяциях озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) г. Белгород методом ДНК-комет // Innovations in life sciences: сборник материалов II международного симпозиума. Белгород, 9–20 мая 2020 г. / отв. ред. И. В. Спичак. Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ», 2020. С. 275–277.

Бархатов Анатолий Сергеевич
Популяционная структура комплекса средневропейских зеленых лягушек
(*Pelophylax esculentus* complex) в условиях юга Среднерусской возвышенности

Диссертационное исследование посвящено изучению популяционной структуры комплекса средневропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex), включающей в себя три вида: прудовую лягушку *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882), гибридную форму (съедобная лягушка), *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758) и озерную лягушку *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771). В ходе исследования получены данные, свидетельствующие об активных адаптивных процессах в популяционной структуре комплекса, затрагивающие генетические и морфологические признаки. Ведущим фактором, оказывающим изменение в популяционной структуре, является деградация водных биотопов, вызванная абиотическим (аридизация) и антропогенными факторами.

Anatoliy Barkhatov
Population structure of the complex of water frogs (*Pelophylax esculentus* complex) in the
conditions of the south of the Central Russian upland

The dissertation research is devoted to the study of the population structure of the complex of water frogs (*Pelophylax esculentus* complex), which includes three species: pool frog *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882), hybrid form (edible frog), *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758) and marsh frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771). In the course of the study, data were obtained indicating active adaptive processes in the population structure of the complex, affecting genetic and morphological characteristics. The leading factor exerting a change in the population structure is the strongest degradation of aquatic biotopes caused by abiotic (aridization) anthropogenic factors.