

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen48555>

Генетическая структура популяций комплекса зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) на территории юга Среднерусской возвышенности



© А.С. Бархатов, Э.А. Снегин, С.Р. Юсупов

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Цель. Комплекс зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) имеет гибридную природу. Ввиду того что в литературе существует большое количество данных о видовом составе зеленых лягушек и очень скудный материал о генетической структуре популяций, нами была поставлена цель на основе микросателлитных маркеров ДНК проанализировать генетическую структуру популяций комплекса зеленых лягушек на территории юга Среднерусской возвышенности, которая являлась одним из рефугиумов для многих видов в ледниковую эпоху и центром расселения в послеледниковое время.

Материалы и методы. В исследовании было задействовано 36 локальных популяций. Анализ изменчивости ДНК проводили методом мультиплексной SSR-PCR. Для амплификации использовали семь локусов (Res 14, Res 15, Res 17, Res 22, Rrid059A, Rrid082A, Rrid171A). Фрагментный анализ ПЦР-продуктов был проведен на автоматическом капиллярном ДНК-секвенаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США).

Результаты. Общее число выявленных аллелей варьировало от 13 до 41. Эффективное число аллелей (A_e) в среднем составило $4,569 \pm 0,219$, индекс Шенона (H) $1,567 \pm 0,04$, уровень ожидаемой гетерозиготности (H_e) $0,68 \pm 0,01$. Согласно модели Райта наибольший вклад в генетическую изменчивость вносит разнородность особей внутри популяций, часть из которых имеют гибридную природу ($F_{is} = 0,281 \pm 0,069$, $F_{it} = 0,413 \pm 0,053$, $F_{st} = 0,180 \pm 0,017$). Средний показатель интенсивности обмена генами между популяциями (N_m) составил $1,212 \pm 0,142$ особи за поколение. Расчет эффективной численности с помощью LD-метода свидетельствует о высоком уровне жизнеспособности изучаемых групп лягушек.

Выводы. Результаты продемонстрировали высокий уровень генетического разнообразия и жизнеспособности большинства изученных групп, которые, в силу интенсивного обмена генами между собой, могут представлять единую панмиктическую популяцию. Данные генетического анализа свидетельствуют в пользу активной адаптации *P. esculentus* complex к обитанию в урбанизированной среде.

Ключевые слова: *Pelophylax esculentus* complex; популяционная структура; микросателлиты.

Как цитировать:

Бархатов А.С., Снегин Э.А., Юсупов С.Р. Генетическая структура популяций комплекса зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) на территории юга Среднерусской возвышенности // Экологическая генетика. 2021. Т. 19. № 2. С. 107–119. DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen48555>

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen48555>

Genetic structure of the water frog (*Pelophylax esculentus* complex) populations in the south of the Central Russian Upland

© Anatoliy S. Barkhatov, Eduard A. Snegin, Sergey R. Yusupov

Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

BACKGROUND: The water frog (*Pelophylax esculentus* complex) is hybrid in composition. In view of the fact that a large number of data on the species composition of the water frog and very scarce material on the genetic structure of populations are available in the literature, we aimed to analyze the genetic structure of populations of the water frog in the southern part of the Middle Russian upland, which was one of the refugia for many species during the glacial epoch and the center of dispersion in the postglacial time, based on DNA microsatellite markers.

MATERIALS AND METHODS: The study involved 36 local populations. DNA variability was analyzed by multiplex SSR-PCR. Seven loci (Res 14, Res 15, Res 17, Res 22, Rrid059A, Rrid082A, and Rrid171A) were used for amplification. Fragment analysis of PCR products was performed on an ABI PRISM 3500 automated capillary DNA sequencer (Applied Biosystems, USA).

RESULTS: The total number of alleles detected ranged from 13 to 41. The effective number of alleles (A_e) averaged 4.569 ± 0.219 , the Chenon index (I) 1.567 ± 0.04 , level of expected heterozygosity (H_e) 0.68 ± 0.01 . According to Wright's model, the greatest contribution to genetic variability is made by the heterogeneity of individuals within populations, some of which are of a hybrid nature ($F_{is} = 0.281 \pm 0.069$, $F_{it} = 0.413 \pm 0.053$, $F_{st} = 0.180 \pm 0.017$). The average indicator of the intensity of gene exchange between populations (N_m) was 1.212 ± 0.142 individuals per generation. The calculation of the effective abundance using the LD method indicates a high level of viability of the studied groups of the frogs.

CONCLUSION: The results demonstrated a high level of genetic diversity and viability of most of the studied groups, which, due to the intense gene exchange between them, can represent a single panmictic population. The data of the genetic analysis support the active adaptation of *P. esculentus* complex to living in an urbanized environment.

Keywords: population structure; microsatellites; *Pelophylax esculentus* complex.

To cite this article:

Barkhatov AS, Snegin EA, Yusupov SR. Genetic structure of the water frog (*Pelophylax esculentus* complex) populations in the south of the Central Russian Upland. *Ecological genetics*. 2021;19(2):107–119. DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen48555>

Received: 26.10.2020

Accepted: 23.04.2021

Published: 21.06.2021

ВВЕДЕНИЕ

Антропогенный пресс становится доминирующей причиной изменения ландшафтов, оказывая тем самым сильное воздействие на биологическое разнообразие [1]. При этом наиболее сильно от воздействия человека страдают представители гидросферы, как наиболее мобильной части биосферы [2]. Известно, что земноводные — это важные компоненты прибрежных биоценозов. Являясь консументами второго и последующих порядков, они представляют собой связующее звено в трофических цепях между водной и наземной частью экосистем. Благодаря этому, амфибий очень часто используются в качестве объектов экологических исследований [3, 4].

Комплекс среднеевропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) включает в себя три вида: озерная лягушка (*P. ridibundus* Pallas, 1771), прудовая лягушка (*P. lessonae* Camerano, 1882), а также съедобная лягушка (*P. esculentus* Linnaeus, 1758). Первые два — это так называемые менделевские виды. Съедобная лягушка (*P. esculentus*) является гибридом, произошедшим от скрещивания указанных выше двух родительских видов, и имеет полуклональный (мероклональный) тип размножения [5]. Кроме того, известно, что озерная лягушка имеет как минимум две формы (таксономический статус которых еще не стал предметом дискуссий), «западная», она же центрально-европейская *P. ridibundus*, включая балканскую лягушку *P. kurtmuelleri* (Gayda, 1940), и «восточная» *P. cf. bedriagae* (анатолийская лягушка) [6, 7].

Гибридные лягушки распространены практически на всей территории Европы. Гибридные и родительские особи, несмотря на отличия в образе жизни, могут обитать вместе и образовывать общие группы размножения [8, 9]. Данный факт свидетельствует об их «эволюционном успехе» [9]. В литературе существует большое количество данных о видовом составе популяционных систем зеленых лягушек, обитающих как в урбанизированных ландшафтах, так и в естественных биотопах Поволжья, Кавказа и Крыма [10–13]. Однако отсутствуют данные о генетической структуре популяций этого сложного гибридогенного комплекса зеленых лягушек, обитающего на востоке ареала.

Цель настоящей работы — используя микросателлитные маркеры ДНК, проанализировать генетическую структуру популяций комплекса зеленых лягушек на территории юга Среднерусской возвышенности, которая была одним из рефугиумов для многих видов в ледниковую эпоху и центром расселения в послеледниковое время.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала проведен в летний полевой сезон 2018–2020 гг. Всего было проанализировано 770 особей

из 36 локалитетов¹ (табл. 1, рис. 1). Стоит отметить, что, по нашим данным, в ходе исследования была обнаружена только одна особь *P. lessonae* (пункт № 31 «Ворскла»). При этом в составе многих групп, помимо озерной лягушки *P. ridibundus*, были выявлены особи съедобной лягушки (*P. esculentus*), имеющие гибридную природу. Определение видовой принадлежности особей и выявление гибридов осуществляли с помощью традиционных морфометрических показателей, а также с использованием мультиплексной полимеразно-цепной реакции (ПЦР) первого интрона гена сывороточного альбумина (SAI-1) ядерной ДНК и фрагмента первой субъединицы гена цитохромоксидазы (COI) митохондриальной ДНК [14].

Молекулярно-генетический анализ проведен в Научно-исследовательском центре геномной селекции «НИУ БелГУ». Геномную ДНК выделяли из скелетных мышц животного с использованием набора «ДНК-Экстран-2» (ООО «Синтол», Россия), согласно протоколу производителя. При работе с подопытными животными соблюдены все международные этические правила и нормы [15].

Анализ изменчивости ДНК проводили методом мультиплексной (мультипраймерной) ПЦР SSR-PCR (Simple Sequence Repeats). Для проведения амплификации использовали набор «ПЦР-Комплект» (ООО «Синтол», Россия). Пробы подготавливали из расчета на одну пробирку следующим образом: 2,5 × Реакционная смесь (ПЦР-буфер Б [KCl, трисHCl (pH 8,8), 6,25 мМ MgCl₂], SynTaq ДНК-полимераза — 5 Е/мкл, dNTP — 2,5 мМ, глицерол, Tween 20) — 8 мкл; MgCl₂ 25 мМ — 0,5 мкл; деионизированная вода — 9,3 мкл, смесь праймеров 0,05 мкл.

Праймеры были мечены тремя флуоресцентными красителями, детектируемыми в каналах *Blue* (FAM), *Green* (R6G), *Red* (ROX) и подобраны с учетом проведения амплификации всех 7 локусов в одной пробирке (табл. 2). Последовательности праймеров были взяты из ранее опубликованных работ [16–18]. Стандарт длины СД 450 (ООО «Синтол», Россия) был мечен четвертым, флуоресцентным красителем и детектировался в отдельном канале *Orange* одновременно с продуктами ПЦР.

ПЦР проводили в ДНК-амплификаторе Veriti, Thermo FS. Параметры ПЦР: 94 °C — 3 мин; 98 °C — 30 с; 59 °C — 120 с, 72 °C — 90 с, 4 цикла; 94 °C — 30 с, 59 °C — 120 с, 72 °C — 90 с, 6 циклов; 90 °C — 30 с, 59 °C — 120 с, 72 °C — 75 с, 20 циклов; 68 °C — 30 мин. При этом скорость нагрева с 59 до 72 °C составляла не более 0,3 °C/с. После амплификации к 1 мкл ПЦР-продукта добавляли 9 мкл формамида Hi-Di™ и 0,5 мкл раствора размерного стандарта СД 450.

¹ Под локалитетом мы понимаем локальную группировку (или дем), обитающую в условиях небольшой по площади части популяционного ареала.

Таблица 1. Пункты сбора *Pelorhynchus esculentus* complex

Локалитеты	Описание	Координаты	Локалитеты	Описание	Координаты
1. Северский Донец	Река Северский Донец, Белгород. Промышленная застройка	50°35'28.6" N 36°34'59.2" E	19. Ольшанка	Река Ольшанка, близ с. Ольшанка. Зеленая зона	51°00'14.4" N 37°39'50.4" E
2. Везёлка	Река Везёлка, Белгород. Многоэтажная застройка	50°35'28.6" N 36°34'59.2" E	20. Халань	Река Халань, близ с. Русская Халань. Малоэтажная застройка	50°56'49.2" N 37°43'33.6" E
3. Оскочное	Пруд, Белгород. Малоэтажная застройка	50°38'53.8" N 36°33'25.5" E	21. Беленская	Река Беленская, близ рыбопроизводческого пруда. Зеленая зона	50°44'53.2" N 37°57'43.4" E
4. Ячевский	Пруд, Белгород. Малоэтажная застройка	50°38'23.1" N 36°34'44.8" E	22. Оскол	Река Оскол, Новый Оскол. Малоэтажная застройка	50°44'05.4" N 37°50'21.0" E
5. Дубовое	Белгородский район. Зеленая зона	50°31'56.5" N 36°34'59.8" E	23. Чуфичка	Исток р. Чуфички, близ хвостохранилища Стойленского горно-обогатительного комбината. Промышленная застройка	51°11'59.5" N 37°50'04.9" E
6. Устье	Устье р. Разумной, Белгород. Малоэтажная застройка	50°31'49.1" N 36°38'57.2" E	24. Корень	Река Корень, близ с. Коломыцева. Зеленая зона	50°50'52.8" N 37°03'00.0" E
7. Майский	Озеро, пос. Майский. Малоэтажная застройка	50°30'54.0" N 36°27'43.2" E	25. Короча	Корочанское водохранилище, р. Короча. Малоэтажная застройка	50°50'35.5" N 37°13'00.7" E
8. Северный	Озеро, близ пос. Северного. Зеленая зона	50°43'58.8" N 36°29'13.2" E	26. Сейм	Река Сейм, близ с. Солнцева. Зеленая зона	51°11'16.8" N 37°17'34.8" E
9. Шопино	Река Липовый Донец. Малоэтажная застройка	50°42'19.7" N 36°36'40.0" E	27. Тихая Сосна	Река Тихая Сосна, пгт. Бирюч. Малоэтажная застройка	50°38'24.1" N 38°24'04.1" E
10. Нежеголь	Река Нежеголь, окраина г. Шебекина. Малоэтажная застройка	50°23'24.8" N 36°50'23.6" E	28. Валуй	Река Валуй, г. Валуйки. Малоэтажная застройка	50°12'17.2" N 38°06'03.9" E
11. Графовка	Водно-болотный комплекс близ Белгородского водохранилища. Зеленая зона	50°25'07.4" N 36°46'24.8" E	29. Голубой Дунай	Река Голубой Дунай, с. Свистовка. Малоэтажная застройка	50°04'58.3" N 38°56'34.1" E
12. Глотова	Озеро, близ с. Глотова. Малоэтажная застройка	50°27'52.9" N 35°37'51.9" E	30. Айдар	Река Айдар, пгт. Ровеньки. Малоэтажная застройка	49°54'12.2" N 38°55'23.4" E
13. Плотва	Река Плотва, близ с. Борисовка. Зеленая зона	50°21'23.2" N 37°36'44.6" E	31. Ворскла	Река Ворскла, пгт. Борисовка. Малоэтажная застройка	50°36'15.6" N 36°01'36.2" E
14. Сазон	Озеро Сазон, пгт. Волоконовка. Малоэтажная застройка	50°29'38.4" N 37°52'33.6" E	32. Ракита	Река Ракита, пгт. Ракитное. Малоэтажная застройка	50°49'47.7" N 35°49'56.3" E
15. Оскол 1	Река Оскол, Волоконовский район. Зеленая зона	50°24'26.6" N 37°49'03.9" E	33. Пена	Река Пена, близ с. Венгеровка. Малоэтажная застройка	50°56'11.9" N 36°02'01.8" E
16. Волчья	Река Волчья, близ с. Волчья Александровка. Зеленая зона	50°26'54.4" N 37°34'15.4" E	34. Полная	Река Полная, х. Полный, Курская обл. Малоэтажная застройка	51°33'21.6" N 36°28'01.2" E
17. Губкин	Река Осколец, г. Губкин. Промышленная застройка	51°16'15.6" N 37°32'56.4" E	35. Белая	Река Белая, Воронежская обл. Зеленая зона	49°50'01.7" N 39°20'03.6" E
18. Орлик	Река Орлик, близ с. Орлика. Зеленая зона	51°04'04.8" N 37°41'06.0" E	36. Дон	Река Дон, ст. Казанская, Ростовская обл. Малоэтажная застройка	49°47'23.0" N 41°08'11.9" E

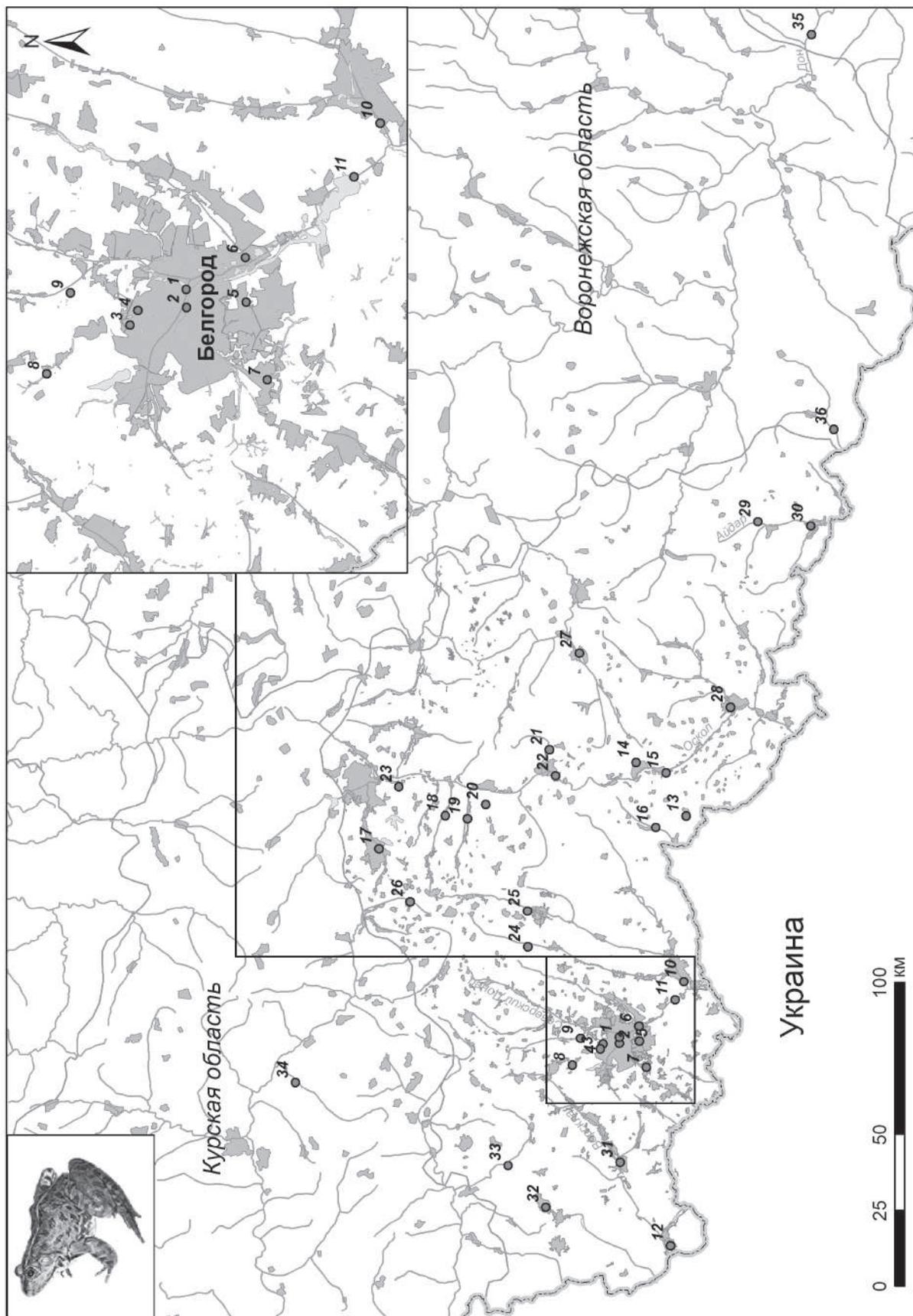


Рис. 1. Пункты сбора *Rana lessonae* complex. Описание пунктов приведено в табл. 1

Таблица 2. Характеристика микросателлитных локусов

Локус	Последовательность прямого и обратного праймера (5'-3')	Флуоресцентный краситель	Диапазон размеров аллелей (п. н.)	Количество выявленных аллелей
Res14	F: gcctagccagcacaaatg R: ctaaacagtatgggaggtcag	FAM	127–152	13
Res15	F: tttttattgctaactgcctgctgtg R: cagcccctctgtacacct	FAM	206–286	41
Res17	F: ctgtgctggctgggtattgta R: catcgggtctgtctatctatccac	ROX	136–176	21
Res22	F: atacagggttagtgaaatgaa R: aaggggttaaaggtgtgactat	FAM	81–125	22
Rrid059A	F: tgtaccctcatcgtagag R: ccccatcatattgttggtcc	R6G	103–143	21
Rrid082A	F: caatttccataccaaccttc R: actctgggaccttgattcc	FAM	156–201	23
Rrid171A	F: tgacttgccagcattttctg R: aatgccaggaaagattacc	R6G	156–220	34

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

Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения GenAlExv.6.5, divMigrate, NeEstimator.2 [19–21].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно полученным данным, 7 микросателлитных локусов содержали от 13 до 41 аллеля (в среднем 9 аллелей на локус). Наиболее разнообразным оказался локус Res15 (табл. 2). Средние показатели генетического

разнообразия исследуемых популяций и процент гибридных особей представлены в табл. 3. Уровень дифференциации изучаемых популяций комплекса зеленых лягушек рассчитывали при помощи модели С. Райта (табл. 4). Степень различия между локалитетами оценивали с использованием анализа главных компонент (PCA, Principal Component Analysis) на основе генетических дистанций по Неи (рис. 2). При этом первая главная компонента (PC1) отражала 30,46 % наблюдаемой изменчивости популяций, а вторая (PC2) — 18,84 % общей дисперсии.

График зависимости уровня потока генов (N_m) между парами популяций от географического расстояния между ними (D_g) (рис. 3) демонстрирует слабую обратную связь.

Ввиду того, что исследуемые локальные группировки (локалитеты), обитающие в условиях одной реки, из-за

Таблица 3. Показатели генетического разнообразия и процент гибридных особей в популяциях *Pelophylax esculentus* complex

Локалитеты	N	P	A	A_e	I	H_o	H_e	F	% гибридов <i>P. esculentus</i> (95% CI)
1. Северский Донец	19	100	10,14	5,14	1,76	0,55	0,73	0,28	15,78 (3,36–25,75)
2. Везёлка	20	100	9,57	4,89	1,68	0,43	0,70	0,36	0 (0,0–7,88)
3. Оскочное	20	100	14,00	8,52	2,14	0,62	0,81	0,26	30,00 (11,90–38,84)
4. Ячевский	16	100	11,71	7,02	1,97	0,59	0,77	0,27	18,75 (4,06–31,29)
5. Дубовое	18	100	8,86	4,20	1,56	0,37	0,66	0,48	83,33 (58,59–94,91)
6. Устье	26	100	9,71	4,94	1,66	0,40	0,70	0,44	73,07 (50,69–82,41)
7. Майский	16	100	7,29	3,58	1,32	0,34	0,58	0,40	25,00 (7,24–36,68)
8. Северный	22	100	7,86	4,03	1,33	0,41	0,59	0,30	27,27 (10,65–35,71)
9. Шопино	23	100	9,29	3,75	1,42	0,45	0,60	0,24	34,78 (16,29–37,5)
10. Нежеголь	22	100	9,00	4,97	1,50	0,45	0,64	0,28	13,64 (2,91–22,64)

Продолжение таблицы 3

Локалитеты	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>A_e</i>	<i>I</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>F</i>	% гибридов <i>P. esculentus</i> (95% CI)
11. Графовка	17	100	5,43	2,96	1,18	0,59	0,60	0,01	0 (0–9,72)
12. Глотово	25	100	11,57	5,56	1,93	0,61	0,78	0,22	36,00 (17,83–38,46)
13. Плотва	13	100	9,57	6,54	1,71	0,57	0,71	0,24	0 (0–12,99)
14. Сазон	20	100	11,57	6,67	1,84	0,62	0,75	0,19	0 (0–7,88)
15. Оскол 1	22	100	9,43	4,18	1,60	0,43	0,68	0,41	0 (0–7,21)
16. Волчья	18	100	7,29	4,04	1,40	0,50	0,64	0,16	0 (0–8,68)
17. Губкин	60	100	17,14	5,15	2,01	0,51	0,78	0,36	0 (0–2,26)
18. Орлик	25	100	14,14	7,82	1,94	0,57	0,74	0,29	0 (0–6,16)
19. Ольшанка	14	100	7,14	3,21	1,39	0,47	0,65	0,31	0 (0–11,56)
20. Халань	34	100	14,43	5,39	1,98	0,55	0,78	0,32	0 (0–4,41)
21. Беленькая	24	100	9,71	4,98	1,55	0,43	0,66	0,32	0 (0–6,4)
22. Оскол	18	100	8,71	5,68	1,84	0,50	0,79	0,38	0 (0–6,86)
23. Чуфичка	15	100	9,86	5,26	1,85	0,51	0,78	0,34	0 (0–10,87)
24. Корень	19	100	6,71	3,99	1,39	0,57	0,64	0,14	15,7 (3,37–25,79)
25. Короча	14	100	5,57	2,74	1,18	0,52	0,58	0,11	0 (0–11,56)
26. Сейм	17	100	7,14	4,44	1,45	0,47	0,65	0,24	0 (0–9,14)
27. Тихая сосна	22	100	7,57	4,12	1,48	0,47	0,68	0,35	0 (0–7,21)
28. Валуй	24	100	7,57	2,69	1,26	0,49	0,59	0,20	0 (0–6,40)
29. Голубой Дунай	21	100	8,00	3,59	1,40	0,46	0,60	0,27	0 (0–7,53)
30. Айдар	33	100	12,14	4,35	1,76	0,50	0,70	0,33	0 (0–4,54)
31. Ворскла	19	100	7,57	3,88	1,52	0,53	0,69	0,27	15,79 (3,37–25,79)
32. Ракита	21	100	6,00	3,25	1,33	0,57	0,65	0,15	4,76 (1,16–25,89)
33. Пена	27	100	6,29	3,11	1,30	0,48	0,65	0,30	11,11 (4,38–17,47)
34. Полная	22	100	9,14	4,41	1,65	0,49	0,72	0,35	0 (0–7,21))
35. Белая	12	100	4,29	2,70	1,01	0,36	0,52	0,26	0 (0–13,92)
36. Дон	12	100	4,43	2,75	1,13	0,43	0,60	0,35	0 (0–13,92)
Среднее		100	9,05 ± ± 0,34	4,57 ± ± 0,22	1,57 ± ± 0,04	0,49 ± ± 0,01	0,68 ± ± 0,01	0,28 ± ± 0,02	–

Примечание. *N* — число особей в выборке; *P* — процент полиморфных локусов; *A* — среднее число аллелей; *A_e* — эффективное число аллелей; *I* — индекс Шеннона; *H_o* — наблюдаемая гетерозиготность; *H_e* — ожидаемая гетерозиготность; *F* — индекс фиксации (коэффициент инбридинга); 95% CI — доверительный интервал с вероятностью 95 %, вычисленный на основе точной формулы с использованием *F*-распределения [22].

Таблица 4. Показатели полокусных значений коэффициентов инбридинга и уровня потока генов в изучаемых популяциях

Показатели	Локусы							<i>M ± m</i>
	Res14	Res15	Res17	Res22	Rrid059A	Rrid082A	Rrid171A	
<i>F_{is}</i>	0,461	0,277	0,551	0,009	0,219	0,293	0,154	0,281 ± 0,069
<i>F_{it}</i>	0,530	0,399	0,639	0,237	0,318	0,459	0,306	0,413 ± 0,053
<i>F_{st}</i>	0,128	0,168	0,195	0,230	0,127	0,235	0,180	0,180 ± 0,017
<i>N_m</i>	1,711	1,237	1,034	0,836	1,716	0,814	1,140	1,212 ± 0,142

Примечание. *F_{is}* — коэффициент инбридинга особи относительно субпопуляции; *F_{it}* — коэффициент инбридинга особи относительно большой популяции; *F_{st}* — коэффициент инбридинга субпопуляции относительно большой популяции; *N_m* — средний показатель интенсивности обмена генами между популяциями.

Таблица 5. Локалитеты, объединенные в речные популяции

№ объединенных речных популяций	Бассейн	Популяция	№ локалитетов
1	Днепровский	Пена	32, 33
2		Ворскла	12, 31
3		Сейм	26, 34
4	Донской	Северский Донец	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

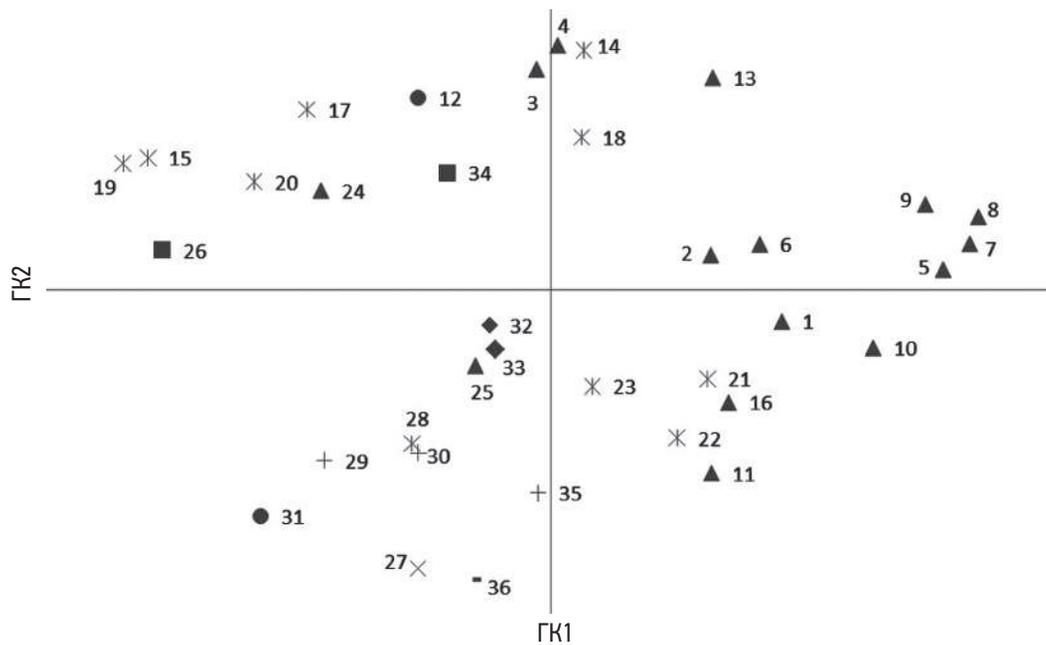
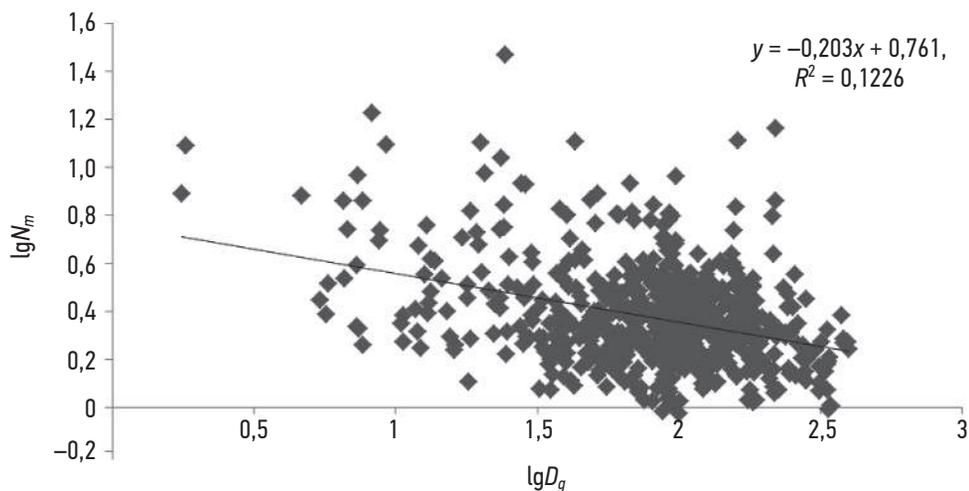
**Рис. 2.** Результаты анализа по методу главных компонент (ГК). Значками обозначены популяции бассейнов: \blacklozenge — р. Пена; \bullet — р. Ворскла; \blacksquare — р. Сейм; \blacktriangle — р. Северский Донец; \ast — р. Оскол; $+$ — р. Айдар; \times — р. Тихая Сосна; $-$ — р. Дон**Рис. 3.** Линейная регрессия логарифма потока генов (N_m) между парами популяций на логарифм географического расстояния между ними (D_g)

Таблица 6. Оценки эффективной численности популяции (N_e) различных популяций лягушек

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

Примечание. 95% CI — 95 % доверительный интервал.

отсутствия географических барьеров могут представлять собой единую панмиктическую популяцию, мы сочли необходимым объединить исследуемые локалитеты в 8 групп (табл. 5). При этом анализ главных компонент продемонстрировал отличия изучаемых групп (рис. 4). Уровень потока генов между этими «речными» популяциями (N_m) визуализировали при помощи программного обеспечения divMigrate-online (рис. 5).

В заключение нами был осуществлен расчет эффективной численности популяций с использованием LD-метода (linkage disequilibrium) между 7 локусами МС-ДНК [23] (табл. 6).

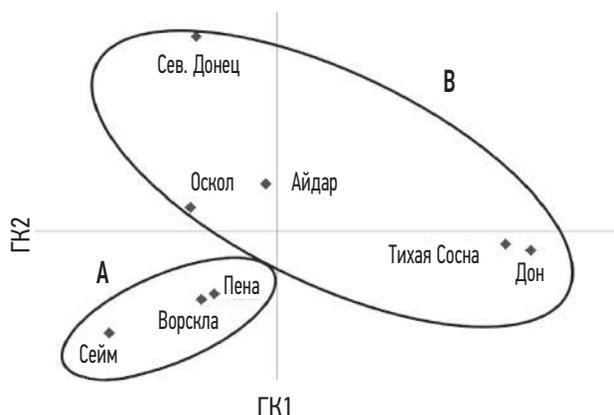


Рис. 4. Результаты анализа по методу главных компонент (ГК) объединенных локалитетов: А — Днепровский бассейн (реки Сейм, Ворскла, Пена); В — Донской бассейн (реки Северский Донец, Оскол, Айдар, Тихая Сосна, Дон)

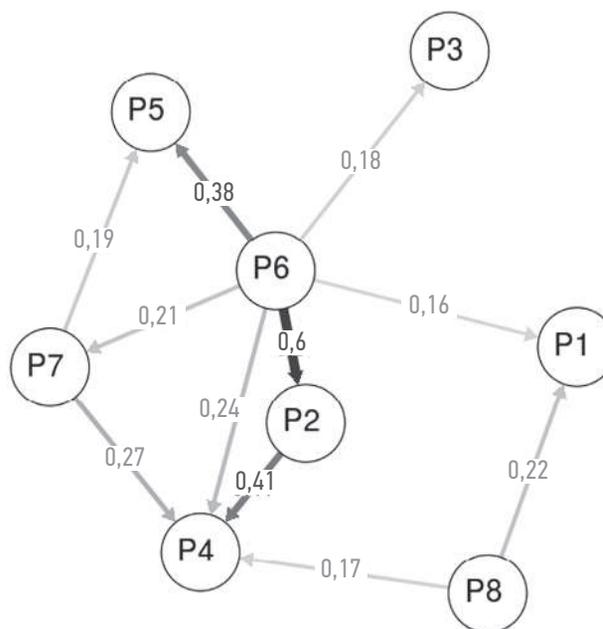


Рис. 5. Уровень потока генов между популяциями, обитающими в различных реках. P1 — Пена, P2 — Ворскла, P3 — Сейм, P4 — Северский Донец, P5 — Оскол, P6 — Айдар, P7 — Тихая Сосна, P8 — Дон

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным, представленным в табл. 3, во всех изученных локалитетах гибридного комплекса *P. esculentus* complex наблюдается высокое генетическое разнообразие. Наибольшие показатели отмечены в группе № 3 «Оскочное». Немного ей уступают локалитеты № 18 «Орлик», № 4 «Ячевский», № 14 «Сазон», № 13 «Плотнова». Стоит отметить, что из них две группы (№ 3 и 4) обитают в условиях городской среды. Более моноформными оказались локалитеты, обитающие в мало нарушенной естественной среде — № 35 «Белая»,

№ 36 «Дон» и № 28 «Валуй». Самый высокий индекс фиксации (коэффициент инбридинга, F) отмечен в локалитете № 5 «Дубовое», вероятнее всего, это связано с большим количеством гибридных особей (83,33 %). Подобное явление наблюдается также в пункте № 6 «Устье», где доля гибридов составляет 73,07 % общей выборки. Самый низкий коэффициент инбридинга был отмечен в группе № 11 «Графовка». Примечательно, что указанные пункты располагаются в урбанизированной среде. Таким образом, можно констатировать факт отсутствия зависимости генетического разнообразия изученных локалитетов от влияния человека, что может свидетельствовать об активной адаптации *P. esculentus* complex к обитанию в условиях антропогенного прессинга [24]. Само явление повышения генетического разнообразия в ряде групп, обитающих на урбанизированных территориях, можно рассматривать как реакцию популяций на нестабильные условия существования.

Проведенный анализ PCA (рис. 2.) показал неоднозначную картину. С одной стороны, популяции, обитающие на географически близких территориях, например № 28 «Валуй», № 30 «Айдар», № 29 «Голубой Дунай», оказались генетически сходны. В то же время, генетическая близость отмечена и у географически удаленных групп (например, № 25 «Короча», № 32 «Ракита», № 33 «Пена»). Данные PCA подтверждаются графиком зависимости уровня потока генов (N_m) между популяциями от географических дистанций между ними (D_g) [рис. 3, который демонстрирует слабую обратную зависимость между этими показателями (коэффициент корреляции Пирсона $r = -0,350 \pm 0,037$, $p < 0,001$)]. Это свидетельствует о нарушении модели изоляции расстоянием в популяционной структуре *P. esculentus* complex и приближении ее к островному варианту.

Вместе с тем, согласно F -статистике Райта (табл. 4), индекс подразделенности популяций F_{st} имеет небольшое значение, а уровень потока генов N_m оказался больше единицы, что, согласно «теории эволюции со смещающимся равновесием», свидетельствует о существующем обмене генами между популяциями [25]. Наибольший вклад в генетическое разнообразие ожидаемо вносит разнородность особей внутри популяций (показатели F_{it} и F_{is}), так как в составе популяций присутствуют особи, имеющие гибридную природу.

Проведенный анализ PCA географически близких популяций по бассейнам 8 полноводных рек юга Среднерусской возвышенности выявил существенное отличие групп Днепровского и Донского бассейнов (рис. 4). При этом группа Донского бассейна не выглядит столь консолидированной, как Днепровская. Тем не менее генетическое расстояние по методу Неи между этими двумя группами оказалось невелико $D = 0,184$, индекс подразделенности $F_{st} = 0,021$, а уровень потока генов $N_m = 11,9$ особей за поколение.

Сеть миграции для популяций *P. esculentus* complex, построенная с помощью программы divMigrate (рис. 5), также свидетельствует о значительном обмене генами между популяциями, обитающими в бассейнах различных рек. Несмотря на географическую отдаленность, наблюдается интенсивный поток генов (N_m) между популяциями «Айдар» – «Ворскла», «Ворскла» – «Северский Донец», «Айдар» – «Оскол». Данный феномен можно объяснить воздействием антропогенного фактора. Создание ирригационных систем позволяет земноводным проникать в несвойственные для них биотопы и осуществлять активную миграцию на дальние расстояния [26].

Результаты демонстрируют и высокие значения эффективного размера большинства изученных групп. Особенно выделяются три группы № 5 «Дубовое», № 32 «Ракита» и № 25 «Короча». У многих групп верхний рубеж доверительного интервала оказался бесконечным (∞), то есть эффективный размер популяции был оценен как «бесконечно большой». Этот результат можно интерпретировать как наличие в районе исследования единой панмиктической популяции и, вероятно, активного обмена генами внутри нее. 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. Наиболее уязвимой из изученных групп оказался локалитет № 28 «Валуй», имеющий самое низкое значение эффективного размера. Стоит отметить, что данная группа входит в число наиболее мономорфных.

Полученные результаты отчасти согласуются с другими исследованиями популяционной генетики комплекса зеленых лягушек. Так, в частности, ранее были получены схожие значения эффективного размера популяции у зеленых лягушек Великобритании, Словакии [18, 27]. Тем не менее на территории юга Среднерусской возвышенности в популяциях *P. esculentus* complex наблюдается большее генетическое разнообразие, чем у особей, обитающих на территории Западной Европы. Данный факт, вероятно, можно отчасти объяснить уменьшением генетического разнообразия вследствие послеледниковой экспансии из юго-восточных ледниковых убежищ, в число которых входила Среднерусская возвышенность [28, 29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные показали, что в популяциях комплекса средневропейских зеленых лягушек в районе исследования наблюдается высокий уровень генетического разнообразия. Проведенный анализ главных компонент на основе генетических дистанций по Неи и F -статистика Райта свидетельствуют

о свободных миграциях между популяциями зеленых лягушек и их генетической близости, а также о значительном генетическом разнообразии внутри групп. Расчет эффективной численности свидетельствует о высоком уровне жизнеспособности большинства изученных популяций. Результаты данных исследований в дальнейшем помогут оценить уровень интрогрессии в популяциях *P. esculentus* complex с использованием метода

секвенирования консервативных последовательностей ядерной и митохондриальной ДНК.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pillsbury F.C., Miller J.R. Habitat and landscape characteristics underlying anuran community structure along an urban-rural gradient // *Ecol Appl*. 2008. Vol. 18, No. 5. P. 1107–1118. DOI: 10.1890/07-1899.1
2. Шиян А.А. Изменения популяционных характеристик озерной лягушки (*Rana ridibunda* Pall.) при обитании в прудах испарителях сахарных заводов // *Научный журнал КубГАУ*. 2011. Т. 67. № 3. С. 47–54.
3. Рыжов М.К. Земноводные и пресмыкающиеся республики Мордовия: распространение, распределение, трофические связи и состояние охраны: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тольятти, 2007. 19 с.
4. Кузовенко А.Е. Эколого-фаунистическая характеристика амфибий урбанизированных территорий Самарской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тольятти, 2018. 19 с.
5. Berger L. Morphology of the F1 Generation of various crosses within *Rana esculenta*-complex // *Acta Zool Cracoviensia*. 1968. Vol. 13. P. 301–324.
6. Plötner J., Uzzell T., Beerli P., et al. Genetic divergence and evolution of reproductive isolation in eastern Mediterranean water frogs. In: *Evolution in Action*. Glaubrecht M., Schneider H, eds. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. P. 373–403. DOI: 10.1007/978-3-642-12425-9_18
7. Ермаков О.А., Файзулин А.И., Зак М.М., и др. Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. l. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) // *Известия Самарского научного центра РАН*. 2014. Т. 16. № 5. С. 409–412.
8. Лада Г.А. Среднеевропейские зеленые лягушки (гибридогенный комплекс *Rana esculenta*): введение в проблему. Флора и фауна Черноземья. Тамбов, 1995. С. 88–109.
9. Plötner J. Die westpaläarktischen Wasserfrösche: von Märtyrern der Wissenschaft zur biologischen Sensation. Bielefeld: Laurenti, 2005. 160 p. (In Germ.)
10. Файзулин А.И., Замалетдинов Р.И., Литвинчук С.Н. и др. Видовой состав и особенности распространения зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) на особо охраняемых природных территориях среднего Поволжья (Россия) // *Nature Conservation Research*. Заповедная Наука. 2018. Т. 3, № S1. С. 1–16. DOI: 10.24189/ncr.2018.056
11. Замалетдинов Р.И., Павлов А.В., Зак М.М., и др. Молекулярно-генетическая характеристика лягушек *Pelophylax esculentus* комплекса на восточной периферии ареала (Поволжье, Республика Татарстан) // *Вестник Томского государственного университета*. Биология. 2015. № 3(31). С. 54–66. DOI: 10.17223/19988591/31/5
12. Ермаков О.А., Симонов Е.П., Иванов А.Ю., и др. Генетические формы озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex) Западного Кавказа по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК // *Труды Института биологии внутренних вод РАН*. 2016. № 73. С. 70–76. DOI: 10.24411/0320-3557-2016-10006
13. Файзулин А.И., Кукушкин О.В., Иванов А.Ю., и др. Предварительные данные о молекулярно-генетической структуре *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura, Ranidae) южной части Крымского полуострова, по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК // *Современная герпетология*. 2017. Т. 17. № 1/2. С. 56–65. DOI: 10.18500/1814-6090-2017-17-1-2-56-65
14. Ermakov O., Ivanov A., Titov S., et al. New multiplex PCR method for identification of East European green frog species and their hybrids // *Russian Journal of Herpetology*. 2019. Vol. 26, No. 6. P. 367–370. DOI: 10.30906/1026-2296-2019-26-6-367-370
15. Липатов В.А., Северинов Д.А., Крюков А.А., Саакян А.Р. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований *in vivo*. Часть II // *Российский медицинско-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2019. Т. 27. № 2. С. 245–257. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257
16. Zeisset I., Rowe G., Beebee T.J. Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the north European water frogs *Rana ridibunda* and *R. lessonae* // *Mol Ecol*. 2000. Vol. 9, No. 8. P. 1173–1174. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.00954-2.x
17. Hotz H., Uzzell T., Guex G., et al. Microsatellites: A tool for evolutionary genetic studies of western Palearctic water frogs // *Mitt Mus Nat kd Berl Zool*. 2001. Vol. 77, No. 1. P. 43–50. DOI: 10.1002/mmnz.20010770108
18. Mikuliček P., Pišút P. Genetic structure of the marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) populations in urban landscape // *Eur J Wildl Res*. 2012. Vol. 58. P. 833–845. DOI: 10.1007/s10344-012-0631-5
19. Peakall R., Smouse P.E. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Mol Ecol Notes*. 2006. Vol. 6, No. 1. P. 288–295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
20. Sundqvist L., Keenan K., Zackrisson M., et al. Directional genetic differentiation and relative migration // *Ecol Evol*. 2016. Vol. 6, No. 11. P. 3461–3475. DOI: 10.1002/ece3.2096
21. Do C., Waples R.S., Peel D., et al. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data // *Mol Ecol Resour*. 2014. Vol. 14, No. 1. P. 209–214. DOI: 10.1111/1755-0998.12157
22. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
23. Hill W.G. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetics Research*. 1981. Vol. 38, No. 3. P. 209–216. DOI: 10.1017/S0016672300020553

24. Снегин Э.А., Бархатов А.С. Морфогенетическая структура популяций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) в условиях городской среды // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 1. С. 47–53. DOI: 10.25750/1995-4301-2019-1-047-053
25. Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution. Mathematical topics in population genetics. Berlin: Springer Verlag, 1970. 31 p.
26. Кузьмин С.Л. Земноводные бывшего СССР. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. 370 с.

27. Zeisset I., Beebee T.J. Population genetics of a successful invader: the marsh frog *Rana ridibunda* in Britain // Mol Ecol. 2003. Vol. 12, No. 3. P. 639–646. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2003.01775.x
28. Hoffmann A., Plötner, J., Pruvost N.B.M., et al. Genetic diversity and distribution patterns of diploid and polyploid hybrid water frog populations (*Pelophylax esculentus* complex) across Europe // Mol Ecol. 2015. Vol. 24, No. 17. P. 4371–4391. DOI: 10.1111/mec.13325
29. Мильков Ф.Н. Лесостепь Русской равнины. М.: Изд-во АН СССР, 1950. 292 с.

REFERENCES

1. Pillsbury FC, Miller JR. Habitat and landscape characteristics underlying anuran community structure along an urban-rural gradient. *Ecol Appl.* 2008;18(5):1107–1118. DOI: 10.1890/071899.1
2. Shijan AA. Changes of population characteristics of lake frog (*Rana ridibunda* Pall.) At dwelling in ponds-evaporators of sugar factories. *Scientific Journal of KubSAU.* 2011;67(3):47–54. (In Russ.)
3. Ryzhov MK. *Zemnovodnye i presmykajushhiesja respubliki Mordovija: rasprostranenie, raspredelenie, troficheskie svjazi i sostojanie ohrany.* [dissertation] Tol'jatti; 2007. 19 p. (In Russ.)
4. Kuzovenko AE. *Jekologo-faunisticheskaja harakteristika amfibij urbanizirovannyh territorij Samarskoj oblasti.* [dissertation abstract] Tol'jatti; 2018. 19 p. (In Russ.)
5. Berger L. Morphology of the F1 Generation of various crosses within *Rana esculenta*-complex. *Acta Zool Cracoviensia.* 1968;13:301–324.
6. Plötner J, Uzzell T, Beerli P, et al. Genetic divergence and evolution of reproductive isolation in eastern Mediterranean water frogs. In: *Evolution in Action.* Glaubrecht M, Schneider H, eds. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010. P. 373–403. DOI: 10.1007/978-3-642-12425-9_18
7. Ermarov OA, Fayzulin AI, Zaks MM, et al. Distribution “western” and “eastern” forms of marsh frog *Pelophylax ridibundus* s. l. in the samara and Saratov Region (on data of analysis of mtDNA and nDNA). *Izvestija Samarskogo Nauchnogo Centra RAN.* 2014;16(5):409–412. (In Russ.)
8. Lada GA. Sredneevropejskie zelenye ljagushki (gibridogenyj kompleks *Rana esculenta*): vvedenie v problem. *Flora i fauna Chernozem'ja.* Tambov; 1995. P. 88–109. (In Russ.)
9. Plötner J. Die westpaläarktischen Wasserfrösche: von Märtyrern der Wissenschaft zur biologischen Sensation. Bielefeld: Laurenti; 2005. 160 p. (In Germ.)
10. Fayzulin AI, Zamaletdinov RI, Litvinchuk SN et al. Species composition and distributional peculiarities of green frogs (*Pelophylax esculentus* complex) in protected areas of the middle Volga Region (Russia). *Nature Conservation Research. Zapovednaja Nauka.* 2018;3(S1):1–16 (In Russ.) DOI: 10.24189/ncr.2018.056
11. Zamaletdinov RI, Pavlov AV, Zaks MM, et al. Molecular-genetic characteristic of *Pelophylax esculentus* complex from the eastern range of distribution (Volga Region, Tatarstan Republic). *Tomsk State University Journal of Biology.* 2015;(3):54–66. (In Russ.) DOI: 10.17223/19988591/31/5
12. Ermakov OA, Simonov EP, Ivanov AJu, et al. Genetic characteristics of marsh frog (*Pelophylax ridibundus* complex) from the Western Caucasus based on mitochondrial and nuclear DNA data. *Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters Ras.* 2016;(73):70–76 (In Russ.) DOI: 10.24411/0320-3557-2016-10006
13. Faizulin AI, Kukushkin OV, Ivanov Ayu, et al. Preliminary Data on the Molecular Genetic Structure of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura: Ranidae) from the Southern Part of the Crimean Peninsula, Based on Mitochondrial and Nuclear DNA Analysis. *Current Studies in Herpetology.* 2017;17(1–2):56–65. (In Russ.) DOI: 10.18500/1814-6090-2017-17-1-2-56-65
14. Ermakov O, Ivanov A, Titov S, et al. New multiplex PCR method for identification of East European green frog species and their hybrids. *Russian Journal of Herpetology.* 2019;26(6):367–370. DOI: 10.30906/1026-2296-2019-26-6-367-370
15. Lipatov VA, Severinov DA, Kryukov AA, Saakyan AR. Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research of the conduct. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2019;27(2): 245–257. (In Russ.) DOI: 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257
16. Zeisset I, Rowe G, Beebee TJ. Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the north European water frogs *Rana ridibunda* and *R. lessonae*. *Mol Ecol.* 2000;9(8):1173–1174. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.00954-2.x
17. Hotz H, Uzzell T, Guex G, et al. Microsatellites: A tool for evolutionary genetic studies of western Palearctic water frogs. *Mitt Mus Nat kd Berl Zool.* 2001;77(1):43–50. DOI: 10.1002/mmnz.20010770108
18. Mikuliček P, Pišút P. Genetic structure of the marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) populations in urban landscape. *Eur J Wildl Res.* 2012;58:833–845. DOI: 10.1007/s10344-012-0631-5
19. Peakall R, Smouse PE. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Mol Ecol Notes.* 2006;6(1):288–295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
20. Sundqvist L, Keenan K, Zackrisson M, et al. Directional genetic differentiation and relative migration. *Ecol Evol.* 2016;6(11):3461–3475. DOI: 10.1002/ece3.2096
21. Do C, Waples RS, Peel D, et al. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. *Mol Ecol Resour.* 2014;14(1):209–214. DOI: 10.1111/1755-0998.12157
22. Zhivotovskij LA. *Populjacionnaja biometrija.* Moscow: Nauka; 1991. 271p. (In Russ.)
23. Hill WG. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetics Research.* 1981;38(3):209–216. DOI: 10.1017/S0016672300020553

- 24.** Snegin EA, Barkhatov AS. Morphogenetic structure of marsh frog populations of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) under conditions of urban environment. *Theoretical and Applied Ecology*. 2019;(1):47–53 (In Russ.) DOI: 10.25750/1995-4301-2019-1-047-053
- 25.** Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution. *Mathematical topics in population genetics*. Berlin: Springer Verlag; 1970. 31 p.
- 26.** Kuz'min SL. *Zemnovodnye byvshego SSSR*. Moscow: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK; 2012. 370 p. (In Russ.)
- 27.** Zeisset I, Beebee TJ. Population genetics of a successful invader: the marsh frog *Rana ridibunda* in Britain. *Mol Ecol*. 2003;12(3):639–646. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2003.01775.x
- 28.** Hoffmann A, Plötner J, Pruvost NBM, et al. Genetic diversity and distribution patterns of diploid and polyploid hybrid water frog populations (*Pelophylax esculentus* complex) across Europe. *Mol Ecol*. 2015;24(17):4371–4391. DOI: 10.1111/mec.13325
- 29.** Mil'kov FN. *Lesostep' Russkoj ravniny*. Moscow: Izd-vo AN SSSR; 1950. 292p. (In Russ.)

ОБ АВТОРАХ

*Анатолий Сергеевич Бархатов, аспирант; адрес: Россия, 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9996-7251>;
eLibrary SPIN: 3833-2940; e-mail: barkhatov@bsu.edu.ru

Эдуард Анатольевич Снегин, д-р биол. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7574-6910>;
eLibrary SPIN 5655-7828; e-mail: snegin@bsu.edu.ru

Сергей Рискулович Юсупов, аспирант;
e-mail: yusupov@bsu.edu.ru

AUTHORS INFO

*Anatoliy S. Barkhatov, graduate student;
address: 85 Pobedy str., Belgorod, 308015, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9996-7251>;
eLibrary SPIN: 3833-2940; e-mail: barkhatov@bsu.edu.ru

Eduard A. Snegin, Dr. Sci. (Biol.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7574-6910>;
eLibrary SPIN 5655-7828; e-mail: snegin@bsu.edu.ru

Sergey R. Yusupov, graduate student;
e-mail: yusupov@bsu.edu.ru