

**О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ
ОЗЕРНЫХ ЛЯГУШЕК КРЫМА, ВЫЯВЛЯЕМОЙ
ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ
И ЯДЕРНОЙ ДНК (*PELOPHYLAX (RIDIBUNDUS) COMPLEX*;
ANURA, RANIDAE)¹**

Аннотация.

Актуальность и цели. Озерная лягушка, *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), представляет собой сложный комплекс криптических видов и эволюционных линий с невыясненным таксономическим статусом. Низкий уровень репродуктивной изоляции между формами *P. (ridibundus) complex* обуславливает их способность к гибридизации, причем зоны интрогрессии могут распространяться на обширные территории. Целями данной работы являлись: изучение генетической структуры и особенностей пространственно-биотопического распределения «западной» и «восточной» форм озерной лягушки (соответственно, средневропейской линии *P. ridibundus* s. l. и анатолийской *P. cf. bedriagae* s. str.) на всей территории Крыма.

Материалы и методы. Проведен молекулярно-генетический анализ 188 особей озерной лягушки *Pelophylax (ridibundus) complex* из 55 географических пунктов Крымского полуострова по двум молекулярным маркерам – фрагменту первой субъединицы гена цитохром оксидазы мтДНК (*COI*) и первому интрону гена сывороточного альбумина (*SAL-1*) яДНК. Различия частот аллелей мт- и яДНК в различных ландшафтных областях полуострова (Равнинный Крым, Предгорье, Главная гряда, Южный берег) оценивались с помощью критериев хи-квадрат (χ^2) и Фишера. При анализе биотопического распределения поселений озерной лягушки с одним и двумя митотипами учитывались высота местности над уровнем моря, тип и местоположение водоема, характер растительности и степень антропогенного влияния.

Результаты. Анализ мтДНК показал наличие у 87 % особей озерных лягушек маркеров, специфичных для «восточной» формы, в то время как доля митотипов «западной» формы составила 13 %. По результатам анализа маркера яДНК, частоты аллелей, специфичных для *P. cf. bedriagae* и *P. ridibundus*, соотносились как 4:1. Большая часть находок лягушек с мтДНК «западной» формы приходится на северный макросклон Главной гряды, где данный митотип отмечен почти у 1/5 особей. Местоположение локалитетов «западной» формы приурочено преимущественно к бассейну реки Черная на юго-западе Крыма и приайлинским местностям центрально-восточного участка Главной гряды. Популяции, в которых присутствуют особи с митотипом «западной» формы, тяготеют к малонарушенным лесным местообитаниям – ущельям горных рек, холодноводным источникам, озерам под пологом леса.

¹ Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00640 а и частично в рамках Госзадания Зоологического института РАН АААА-А17-117030310017-8.

© 2018 Кукушкин О. В., Иванов А. Ю., Ермаков О. А. Данная статья доступна по условиям всемирной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая дает разрешение на неограниченное использование, копирование на любые носители при условии указания авторства, источника и ссылки на лицензию Creative Commons, а также изменений, если таковые имеют место.

Выводы. Несоответствие частот распределения маркеров мт- и яДНК у озерных лягушек Крыма наряду с данными о ландшафтно-биотопическом распределении находок «западной» формы свидетельствует о сложной истории колонизации полуострова представителями *P. (ridibundus)* complex. По-видимому, вся территория Крыма должна быть отнесена к зоне гибридизации «западной» и «восточной» форм озерной лягушки. «Западная» форма, распространение которой на Крымском полуострове в настоящее время достаточно узко локализовано и связано с наиболее изолированными горными местностями, вероятнее всего, должна рассматриваться как реликт позднего плейстоцена.

Ключевые слова: *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax* cf. *bedriagae*, Крым, цитохромоксидаза, сывороточный альбумин, интрогрессивная гибридизация, реликты, плейстоцен, голоцен.

O. V. Kukushkin, A. Yu. Ivanov, O. A. Ermakov

**GENETIC HETEROGENEITY OF THE MARSH FROG
(PELOPHYLAX (RIDIBUNDUS) COMPLEX; ANURA, RANIDAE)
POPULATION IN CRIMEA REVEALED
BY MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR DNA ANALYSES**

Abstract.

Background. According to current concept, the marsh frog, *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), is a diverse complex of cryptic species and evolutionary lineages with an unelucidated taxonomical status. The low level of reproductive isolation between the forms of *P. (ridibundus)* complex defines their hybridizing potential, and besides the introgression zones could embrace quite large areas. The objectives of the current study was to dissect the genetic structure and features of spatial-biopic distribution of “western” and “eastern” forms of a marsh frog (the middle-European lineage *P. ridibundus* s. l. and the Anatolian lineage *P. cf. bedriagae* s. str., respectively) throughout the Crimea.

Materials and methods. Molecular analysis of 188 individuals of a marsh frog from 55 sites at the Crimean Peninsula was based on two genetic markers: a fragment of the first subunit of cytochrome oxidase (*COI*) mtDNA gene, and the first intron of the serum albumin (*SAI-1*) nuDNA gene. Differences in allele frequencies in different landscape areas of the peninsula (Plain Crimea, Piedmont area, Main Range, Southern Coast) were assessed using Pearson’s chi-squared (χ^2) and Fisher’s two-tailed tests. The analysis of the biotopic distribution of the of the marsh frog populations with one and two mitotypes was performed with considering of an altitude range above the sea level, water body type and location, vegetation type as well as the degree of anthropogenic disturbance.

Results. MtDNA marker-based analysis revealed the presence of “eastern” form specific mitotype in 87 % of marsh frog individuals, while the “western” form comprised only 13 %. In turn, nuDNA marker-based analysis showed that the frequency of alleles specific for *P. cf. bedriagae* and *P. ridibundus* was in 4:1 ratio. Frogs with mtDNA marker specific for the “western” form reside predominantly on northern macroslope of the Main Range, where this mitotype was found in almost 1/5 of the total sample of the assessed individuals, while frogs belonging to the “western” form are mainly confined to the Chernaya River basin in the south-west of the Crimean Peninsula and the pre-yaila (highland) terrains of the central-eastern part of the Main Range. It is noteworthy that the populations including individuals characterized by the “western” form mitotype prefer mostly undisturbed wooded habitats – the gorges of mountain rivers, cold-water springs and lakes under the forest canopy.

Conclusions. The discordant mt- and nuDNA markers distribution patterns in the Crimea along with the data on “western” form habitat distribution suggests a complex colonization history of the peninsula by representatives of *P. (ridibundus)* complex. Apparently, the hybridization of “western” and “eastern” forms of a marsh frog occurred throughout the Crimea. Thus, the “western” form should be considered as a late Pleistocene relic, because its distribution in the Crimean Peninsula is restricted and associated with most isolated mountains areas.

Key words: *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax* cf. *bedriagae*, cytochrome oxidase mtDNA gene, serum albumin nuDNA gene, the Crimean Peninsula, introgressive hybridization, relics, Pleistocene, Holocene.

Введение

В недалеком прошлом озерная лягушка, *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), рассматривалась среди широкоареальных видов бесхвостых амфибий в фауне Западной Палеарктики. Согласно существовавшим во второй половине XX в. представлениям ареал вида “*Rana ridibunda*” охватывал колоссальную территорию в Северной Африке, Европе, Западной и Центральной Азии [1]. В последние 1,5–2 десятилетия сформировалось представление о *P. ridibundus* как о сложном комплексе криптических видов и эволюционных линий с невыясненным таксономическим статусом [2–5]. Несмотря на достаточно древний возраст обособления генетических линий *P. (ridibundus)* complex (поздний миоцен – ранний плейстоцен), уровень репродуктивной изоляции между видами низкий, что обуславливает их способность к гибридизации при совмещении ареалов [3; 6].

По данным анализа митохондриальной ДНК (далее мтДНК), в Восточной Европе, Северной и Западной Азии отмечено обитание двух генетически дифференцированных форм *P. (ridibundus)* complex – «западной» (центрально-европейская *P. ridibundus* sensu lato, включая балканскую “*P. kurtmuelleri* (Gayda, 1940)”) и «восточной» (анатолийская *P. cf. bedriagae* sensu stricto) [3; 4]. Фактически эти формы рассматриваются как хорошо обособленные виды, хотя в отношении последней соответствующий номенклатурный акт до настоящего времени не был совершен. *P. ridibundus* s. l. населяет преимущественно западную и северную части этой территории, в то время как *P. cf. bedriagae* тяготеет к южным и восточным ее частям (Крым, Кавказ, Нижнее Поволжье). Области распространения данных форм приходят в соприкосновение на восточных Балканах [3; 6] и в Поволжье, где выявлены многочисленные совместные поселения представителей «западной» и «восточной» форм [7; 8].

Анализ ядерной ДНК (далее яДНК) дает более сложную картину, поскольку в северной, восточной и центральной Анатолии, на Кавказском перешейке и на обширных пространствах в Поволжье у многих особей мтДНК *P. cf. bedriagae* совмещается с аллелями яДНК характерными для *P. ridibundus*. Таким образом, имеет место несоответствие частот распределения обоих генетических маркеров, что может рассматриваться как свидетельство вторичного контакта ареалов видов в позднем плейстоцене – голоцене, сопровождавшегося их гибридизацией, либо как проявление анцестрального полиморфизма и неполного расхождения эволюционных линий [5; 7–10].

В Крыму озерная лягушка – наиболее массовый вид бесхвостых амфибий, обитающий в диапазоне высот от нуля до 1150 м над уровнем моря

практически повсеместно, в любых типах пресных водоемов [11]. Предшествующими исследователями по результатам анализа мтДНК в Крыму выявлены исключительно представители анатолийской формы – *P. cf. bedriagae* [3–5]. Отметим, что ближайшие к Крыму пункты находок лягушек с мтДНК *P. ridibundus* s. l. в Северном Причерноморье известны из Нижнего Поднепровья и Предкавказья [5; 9; 10].

Результатами анализа маркера яДНК показано, что, кроме аллелей, характерных для «восточной» формы, у озерных лягушек Крыма встречаются аллели, специфичные для «западной» формы, при соотношении их частот, равном 5:2 [12]. Полученные данные позволили выдвинуть предположение, что в Крыму нет «чистых» озерных лягушек «западной» формы, поскольку все изученные экземпляры диагностировались либо *P. cf. bedriagae*, либо совмещали в своем генотипе маркеры *P. cf. bedriagae* и *P. ridibundus*.

Крымский полуостров характеризуется расчлененным рельефом, высоким разнообразием ландшафтов и климатов, богатством и длительной, сложной историей развития природного комплекса [13–15]. Тем не менее в период 2014–2016 гг. гаплотип «западной» формы был выявлен в единственном пункте на крайнем юго-западе Главной гряды Крымских гор, в горном обрамлении Байдарской долины. Данная находка дала основания предполагать, что распространение в Крыму *P. ridibundus* s. l. может быть связано с бассейном реки Черная – наиболее изолированной и стабильной на протяжении всей истории своего существования речной системы [12].

Целями данной работы являлись: получение более полного представления о географическом распределении генотипов озерной лягушки на территории Крыма; проверка предположения об особой роли реки Черная для сохранения реликтовых популяций «западной» формы с использованием более репрезентативного материала; выявление закономерностей в биотопической приуроченности представителей «западной» формы (если таковые будут повторно обнаружены).

Материалы и методы

Сбор материала производился в период с мая 2013 г. по август 2018 г. Типировано 188 особей озерной лягушки из 55 географических пунктов, расположенных на территории Крыма. Помимо этого, были исследованы шесть образцов *P. ridibundus* с территории Украины (1 локалитет в Нижнем Поднепровье). Список материала приводится в табл. 1. Сборами были охвачены все основные ландшафтные пояса и высотные ярусы, однако в общей выборке резко преобладали особи из Горного Крыма (90,4 %), занимающего около 25 % площади всего полуострова, но при этом характеризующегося наивысшим ландшафтно-климатическим разнообразием [14; 15]. Наиболее детально исследована в отношении распространения генетических форм озерной лягушки Главная горная гряда (табл. 1, рис. 1), особенно ее юго-западная часть, для чего имелись определенные предпосылки (см. выше). Наибольшая плотность отбора проб и их количество приходится на бассейн реки Черная в пределах территории Севастополя и юго-западной части Бахчисарайского района: 33 % локалитетов, 41 % всех типированных особей.

Номера, указанные перед названиями локалитетов, соответствуют таковым на рис. 1; знаком «*» отмечены пункты, выборки из которых (в указанном объеме или частично) послужили основой исследования Файзулина и др. (2017).

Характеристика исследованного материала

Локалитет; административная принадлежность	n	Координаты		Высота над уровнем моря, м
		с.ш., °	в.д., °	
1	2	3	4	5
1. «Чатырлык», с. Долинка; Краснопереконский район	2	45.864	33.930	3
2. «Балтыходжа», окрестности с. Зоркино; Нижегородский район	1	45.506	34.738	15
3. «Тарпанчи», окрестности с. Окуневка; Черноморский район	2	45.406	32.769	105
4.* «Сасык», с. Охотниково; Сакский район	3	45.236	33.588	1
5. «Акмонай», п. Владиславовка; Ленинский район	2	45.181	35.432	1
6.* «Хрони», окрестности с. Осовины; Ленинский район	2	45.433	36.599	5
7. «Чауда», близ мыса Чауда; Ленинский район	6	45.012	35.837	20
8. «Борла», окрестности с. Долиновка; Белогорский район	4	45.139	34.385	220
9. «Карабай», окрестности с. Мироновка; Белогорский район	4	45.128	34.561	225
10. «Саль», окрестности с. Грушевка; Белогорский район	2	45.047	34.953	190
11. «Бештерек», с. Мазанка; Симферопольский район	2	45.015	34.243	310
12. «Кайнаут», окрестности с. Овражки; Белогорский район	1	45.002	34.404	350
13. «Джан-Кая», с. Пожарское; Симферопольский район	2	44.935	33.846	125
14.* «Мангуп», окрестности с. Терновка; Бахчисарайский район	5	44.582	33.814	370
15.* «Бодрак», с. Прохладное; Бахчисарайский район	3	44.771	34.011	305
16.* «Казанлы», окрестности с. Межгорье; Белогорский район	1	44.943	34.492	680
17.* «Байсу», окрестности с. Красноселовка; Белогорский район	5	44.890	34.596	900
18. «Куртлук», с. Пчелиное; Белогорский район	5	44.936	34.545	530
19. «Фуна», выше с. Лучистое; Алушта	3	44.760	34.390	700
20. «Суат», уроч. Водопой, Симферопольский район	2	44.847	34.468	980
21. «Енисала», с. Чайковское; Симферопольский район	1	44.832	34.353	600

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5
22. «Бурчу-Голь», оз. Кутузовское; Алушта	4	44.739	34.336	870
23. «Суботхан», кордон Буковый; Симферопольский район	4	44.830	34.389	990
24. «Кизгич», уроч. Малый каньон; Симферопольский район	7	44.819	34.315	580
25. «Ангара», с. Перевальное; Симферопольский район	2	44.833	34.315	490
26.* «Байдар 1», ущелье Деймень-Дере; Севастополь	9	44.429	33.798	450
27. «Байдар 2», окрестности с. Орлиное; Севастополь	3	44.423	33.782	370
28. «Узунджа 1», с.Колхозное; Севастополь	8	44.476	33.881	365
29. «Узунджа 2», каньон р. Узунджа; Бахчисарайский район	8	44.489	33.895	500
30. «Календи», окрестности с. Подгорное; Севастополь	5	44.458	33.841	295
31. «Караголь», окрестности с. Соколиное; Бахчисарайский район	1	44.526	34.008	590
32.* «Айя», окрестности с. Резервное; Севастополь	1	44.479	33.680	260
33. «Бечку», окрестности с. Поляна; Бахчисарайский район	1	44.534	33.872	700
34. «Уппа», окрестности с. Родное; Севастополь	3	44.550	33.741	205
35. «Чоргунь», Чернореченский каньон; Севастополь	1	44.536	33.690	50
36. «Уркуста», окрестности с. Передовое; Севастополь	5	44.525	33.817	350
37. «Чуваш-Голь», окрестности с. Родниковское; Севастополь	5	44.447	33.907	815
38. «Шайтан-Мердвен», окрестности п. Мелас; Севастополь	2	44.423	33.845	580
39. «Бага», окрестности с. Новобобровское; Севастополь	2	44.505	33.850	330
40. «Скеля», окрестности с. Родниковское; Севастополь	3	44.457	33.867	350
41. «Адымтюр», окрестности с. Колхозное; Бахчисарайский район	5	44.506	33.907	650
42. «Узунджа 3», окрестности с. Колхозное; Севастополь	4	44.475	33.892	510
43. «Петролар», окрестности с. Передовое; Севастополь	5	44.549	33.815	520

1	2	3	4	5
44. «Узунджа 4», окрестности с. Колхозное; Бахчисарайский район	7	44.484	33.898	550
45. «Абалач», кордон Верховина; Бахчисарайский район	1	44.618	34.224	1100
46. «Хапхал», окрестности с. Генеральское; Алушта	2	44.807	34.454	550
47. «Хун», окрестности с. Рыбачье; Алушта	1	44.837	34.571	500
48.* «Меганом», окрестности п. Прибрежный; Судак	3	44.820	35.100	15
49.* «Карадаг», п. Биостанция; Феодосия	6	44.915	35.203	25
50.* «Отуз», окрестности п. Щебетовка; Феодосия	2	44.932	35.140	100
51.* «Кизилташ», окрестности п. Краснокаменка; Судак	3	44.953	35.106	240
52. «Кикенеиз», окрестности с. Оползневое; Ялта	5	44.418	33.957	535
53. «Лимены», окрестности п. Голубой Залив; Ялта	5	44.412	33.960	410
54. «Демерджи», ниже с. Лучистое; Алушта	1	44.731	34.397	410
55. «Кастель», окрестности п. Виноградное; Алушта	6	44.638	34.353	510
56. «Н. Каховка», п. Новая Каховка; Херсонская область	6	46.760	33.364	20

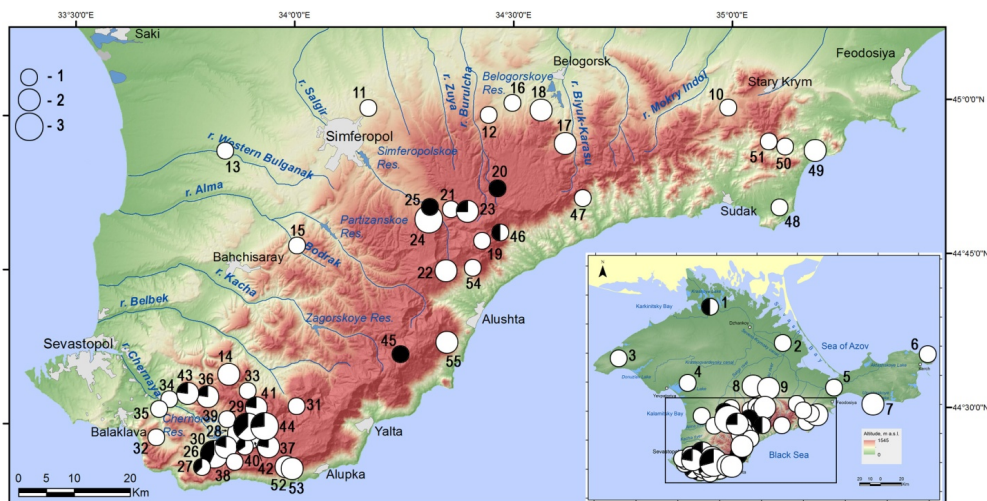


Рис. 1. Распространение гаплотипов мтДНК у озерной лягушки на Крымском полуострове: *P. cf. bedriagae* – прозрачный пунсон, *P. ridibundus* s. str. – залитый пунсон; пунсоны разных размеров соответствуют: 1–3 особям (меньший), 4–6 особям (средний) и 7–9 особям (крупный); номера локалитетов тождественны номерам в табл. 1

В качестве образцов тканей для выделения ДНК методом высаливания [16] брали первые фаланги пальцев, фиксированные в 96 %-м этаноле. Использовались два молекулярно-генетических маркера: для мтДНК – фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы (*COI*), для яДНК – интрон одного гена сывороточного альбумина (*SAL-1*). Принадлежность гаплотипов мтДНК и аллелей яДНК к «западной» или «восточной» формам устанавливалась по методике, опубликованной нами ранее [7].

Различия частот аллелей оценивались с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) для таблиц 2×2 с поправкой Йетса и по критерию Фишера двустороннему, с использованием программного обеспечения STATISTICA v.10 (Stat-Soft).

Пункты сбора материала группировались по четырем основным ландшафтным областям Крыма [13; 15]. Равнинный (Степной) Крым включает Присивашье, Тарханкутский полуостров и Западное побережье до района г. Саки на юге, а также Керченский полуостров (локалитеты 1–7 в табл. 1; 18 особей). Под Предгорьем подразумевается район в пределах Внутренней (мел-палеогеновой) и Внешней (неогеновой) куэстовых гряд – вплоть до долины реки Западный Булганак и северной границы Белогорского района (локалитеты 8–15; 23 особи). Главная (юрская) гряда, включающая наиболее высокие известняковые массивы, на севере ограничена Южной продольной депрессией, в то время как ее естественными пределами на юге являются бровка яйлы или вершины перевалов (локалитеты 16–45; 113 особей). Под Южным берегом мы понимаем побережье Горного Крыма до Карадага на востоке и южный макросклон Главной гряды (локалитеты 46–55 в табл. 1; 34 особи).

При анализе вертикального распределения гаплотипов за основу взяты следующие диапазоны высот: 0–300, 301–600, 601–900, 901–1200 м над уровнем моря. Для характеристики особенностей биотопического распределения носителей маркеров мтДНК в горной части Крыма использовалась учитывающая специфику региона классификация местообитаний, которая включает сведения о типе водоема, его местоположении, преобладающем типе растительности и степени антропогенного влияния на ландшафт.

Нами выделено шесть основных типов водоемов: «река» (сравнительно крупная река со спокойным течением); «горная река» (характеризуется наличием перепадов и бурным течением на многих участках); «ручей» (сезонный водоток малой мощности); источник (небольшие бочажки или разливы близ выхода на поверхность карстовых вод); «пруд» (как правило, рукотворный стоячий или слабопроточный водоем крупных или средних размеров); «малое озеро» (диаметр около 10 м, также может иметь искусственное происхождение: запруда, копанка).

Преобладающий тип растительности (всего 6): «фригана» (степные или лесостепные сообщества с доминированием многолетних полукустарничков); «шибляк» (субсредиземноморский вариант лесостепи, представленный ассоциациями гемиксерофильных листопадных кустарников и низкорослых деревьев); «горный можжевельниковый лес» (доминирующие породы – можжевельники древовидный и дельтовидный, дуб пушистый; вдоль скалистых водотоков формируются ленточные лесошибляковые заросли с преобладанием граба восточного); «широколиственный лес» (неморальный лес с преобладанием дубов скального и черешчатого, граба обыкновенного, ясеня, клена, кизила);

«лес с буком» (широколиственный лес с доминированием или заметной примесью бука); «луг» (лугово-степные ассоциации в сочетании с обширными заболоченностями в поймах рек). С типом растительности тесно связана категория «местоположение водоема». Последнее может быть открытым, закрытым (лесным) или полуоткрытым (опушечным).

Учитывалась также степень антропогенного влияния на ландшафт: высокая (водоем расположен в сильно трансформированном человеком ландшафте и граничит с полями, пастбищами либо населенными пунктами); умеренная (в непосредственной близости от водоема имеются проезжие дороги, однако воздействие ограничено по преимуществу рекреацией и умеренным выпасом); низкая (ландшафт мало нарушен и сохранил облик, близкий к первозданному).

Результаты

Частотное распределение маркеров мт- и яДНК и генотипов в Крыму

Результаты анализа маркера мтДНК показали наличие у 87 % (164 экземпляра) исследованных особей озерных лягушек из Крыма митотипов, специфичных для «восточной» формы (табл. 2, рис. 1), что согласуется с ранее полученными нами данными [12]. Однако в сравнении с данными предшествующего исследования доля митотипов «западной» формы оказалась более значительной, превысив полученное ранее значение более чем в 3 раза: соответственно 13 % (24 экземпляра) и 4 % (1 экземпляр).

Таблица 2

Соотношение (%) типов мт- и яДНК в различных ландшафтных областях Крымского полуострова и в одном из локалитетов на континенте

Ландшафтная область, локалитет	n, экз.	COI мтДНК		SAI-1 яДНК			n	Аллели яДНК	
		B	R	BB	RB	RR		B	R
Н. Каховка, Украина	6	–	100	17	33	50	12	33	67
Равнинный Крым	18	94	6	39	50	11	36	64	36
Предгорье	23	100	–	74	17	9	46	83	17
Главная гряда	113	81	19	70	21	9	226	81	19
Южный берег	34	97	3	59	26	15	68	72	28
ВСЕ КРЫМ	188	87	13	65	25	10	376	78	22

Среди изученных особей преобладали гомозиготы *BB*-типа (123 экземпляра), диагностирующиеся как «восточная» форма, 46 экземпляров были гетерозиготами (*RB*), 19 экземпляров – гомозиготами «западной» формы (*RR*-тип). Частоты аллелей яДНК, специфичных для *P. cf. bedriagae* и *P. ridibundus*, в общей выборке соотносились как 4:1 (соответственно 292 и 84 случая) (см. табл. 2). В связи с преобладанием в общей выборке аллелей «восточной» формы представляется вероятным, что появление гомозигот «запад-

ной» формы может быть следствием выщепления при скрещиваниях гетерозиготных особей.

Частоты распределения маркеров мт- и яДНК двух форм озерных лягушек приблизительно равны и характеризуются преобладанием маркеров «восточной» формы (мтДНК – 87 %, яДНК – 78 %); различия в частотах распределения маркеров статистически не значимы ($\chi^2 = 2,81, p = 0,0940$).

Наиболее распространены в Крыму генотипы *B/BB* и *B/RB* – совокупная их доля составляет свыше 2/3 нашей выборки. Генотипы, гомозиготные по аллелям яДНК (*B/RR* и *R/BB*), встречаются с равной, но небольшой частотой (табл. 3). Особи с наиболее редким сочетанием аллелей *R/RR* (которые с известной долей условности могут быть отнесены к «чистым» представителям «западной» формы) найдены только в двух локалитетах на юго-западе Главной гряды (№ 27 и 44 в табл. 1).

Таблица 3

Соотношение генотипов у озерной лягушки
в различных ландшафтных областях Крыма

Ландшафтная область	n, экз.	Комбинация маркеров – яДНК/мтДНК n (%)					
		<i>BB/B</i>	<i>RB/B</i>	<i>RR/B</i>	<i>BB/R</i>	<i>RB/R</i>	<i>R/RR</i>
Равнина	18	6 (33)	9 (50)	2 (11)	1 (6)	–	–
Предгорье	23	17 (74)	4 (17)	2 (9)	–	–	–
Главная гряда	113	64 (57)	19 (17)	8 (7)	15 (13)	5 (4)	2 (2)
Южный берег	34	19 (56)	9 (26)	5 (15)	1 (3)	–	–
ВСЕ КРЫМ	188	106 (56)	41 (22)	17 (9)	17 (9)	5 (3)	2 (1)

Наивысшее разнообразие генотипов отмечено в зоне Главной гряды. Здесь выявлены все шесть возможных сочетаний маркеров мт- и яДНК. Наименьшее генотипическое разнообразие присуще Крымскому Предгорью (см. табл. 3). Процентное соотношение генотипов заметно различается во всех ландшафтных областях. Тем не менее, по нашим результатам, представляется возможным противопоставление равнинной и всех горно-крымских выборок, поскольку особи с генотипом *BB/B* в горно-лесной зоне всюду численно доминируют (56–74 %), в то время как в равнинно-степном Крыму их доля составляет лишь около 1/3 выборки.

Для сопоставления, все шесть исследованных особей из Херсонской области имели гаплотип «западной формы». Это соответствует представлениям об обитании на континенте к северу от Крыма популяций *P. ridibundus* s. l.

Распределение частот маркеров мт- и яДНК и генотипов по ландшафтным выделам

Из данных табл. 2 следует, что в Крыму представители «западной» митохондриальной линии были обнаружены во всех ландшафтных областях за исключением зоны предгорий. В равнинно-степном Крыму и на Южном берегу выявлено лишь по одной особи с митотипом *R*. Зато в зоне северного

макросклона Главной гряды он отмечен почти у 1/5 особей (у 22 экземпляров). Местоположение локалитетов «западной» формы не выглядит случайным. Так, в Равнинном Крыму данный митотип выявлен только на крайнем севере полуострова в протяженной и сравнительно многоводной реке Чатырлык (локалитет № 1), на Южном берегу – в холодном, хорошо обводненном ущелье Хапхал (№ 46). В зоне Главной гряды, откуда известно наибольшее количество локалитетов «западной» формы (всего 14), распространение митотипа *R* приурочено к приайлинским районам высокой центральной части и притокам р. Черная выше Чернореченского водохранилища (см. рис. 1).

При сравнении по частотам аллелей яДНК не обнаружено отличий между Главной грядой и Предгорьем. В этих ландшафтных областях соотношение аллелей «восточной» и «западной» форм варьирует как 4:1 – 5:1. Увеличение доли аллеля *R* (до 36 %, что соответствует соотношению около 2:1) наблюдается в Равнинном Крыму, в то время как Южный берег занимает промежуточное положение по этому признаку – около 3:1 (см. табл. 2). Подобная картина отмечена и в отношении особей (см. табл. 3). В Горном Крыму всюду доминируют гомозиготы *BB*-типа. Предгорье по этому признаку почти не отличается от Главной гряды, но на Южном берегу имеет место увеличение доли гетерозигот и гомозигот *RR*-типа. На равнине доля гетерозигот составляет уже 50 % выборки.

При сравнении выборок из различных ландшафтных областей на достоверность различий частот аллелей, по критериям χ^2 и Фишера, по маркеру мтДНК обнаружены достоверные отличия локалитета № 56 («Н. Каховка») от всех крымских выборок, тогда как по маркеру яДНК он достоверно отличался от выборок из Горного Крыма, но не из Равнинного (табл. 4).

Таблица 4

Сравнение выборок на достоверность различий с использованием критериев хи-квадрат (верхняя строка, χ^2) и Фишера (нижняя строка, $F(t-t)$): мтДНК над диагональю, яДНК под диагональю

Ландшафтная область, локалитет	Н. Каховка, Украина	Равнинный Крым	Предгорье	Главная гряда	Южный берег
1	2	3	4	5	6
Н. Каховка, Украина	–	$\chi^2 = 15,13$, $p = 0,0001$ $F(t-t)$, $p = 0,0001$	$\chi^2 = 23,23$, $p = 0,0000$ $F(t-t)$, $p = 0,0000$	$\chi^2 = 16,30$, $p = 0,0001$ $F(t-t)$, $p = 0,0001$	$\chi^2 = 26,89$, $p = 0,0000$ $F(t-t)$, $p = 0,0000$
Равнинный Крым	$\chi^2 = 2,29$, $p = 0,1306$ $F(t-t)$, $p = 0,0951$	–	$\chi^2 = 0,02$, $p = 0,9010$ $F(t-t)$, $p = 0,4390$	$\chi^2 = 1,23$, $p = 0,2681$ $F(t-t)$, $p = 0,1959$	$\chi^2 = 0,08$, $p = 0,7707$ $F(t-t)$, $p = 1,0000$
Предгорье	$\chi^2 = 9,23$, $p = 0,0024$ $F(t-t)$, $p = 0,0018$	$\chi^2 = 3,71$, $p = 0,0539$ $F(t-t)$, $p = 0,0747$	–	$\chi^2 = 4,00$, $p = 0,0454$ $F(t-t)$, $p = 0,0249$	$\chi^2 = 0,04$, $p = 0,8427$ $F(t-t)$, $p = 1,0000$

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	6
Главная гряда	$\chi^2 = 12,23$, $p = 0,0005$ $F(t-t)$, $p = 0,0008$	$\chi^2 = 5,05$, $p = 0,0246$ $F(t-t)$, $p = 0,0306$	$\chi^2 = 0,11$, $p = 0,7439$ $F(t-t)$, $p = 0,8392$	–	$\chi^2 = 4,23$, $p = 0,0397$ $F(t-t)$, $p = 0,0166$
Южный берег	$\chi^2 = 5,22$, $p = 0,0223$ $F(t-t)$, $p = 0,0172$	$\chi^2 = 0,74$, $p = 0,3904$ $F(t-t)$, $p = 0,5033$	$\chi^2 = 1,69$, $p = 0,1937$ $F(t-t)$, $p = 0,2622$	$\chi^2 = 2,23$, $p = 0,1355$ $F(t-t)$, $P = 0,1766$	–

Полужирным шрифтом выделены достоверные значения критериев.

При попарном сравнении по частотам аллелей ландшафтных областей Крымского полуострова, по маркеру мтДНК Главная гряда достоверно отличалась как от Предгорья, так и от Южного берега (но не от Равнины), в то время как по маркеру яДНК достоверные отличия были выявлены лишь при сравнении Главной гряды с Равнинным Крымом (см. табл. 4).

Биотопическое распределение особей с различными типами мтДНК

Данные о биотопическом распределении горно-крымских поселений озерной лягушки с одним (специфичным для «восточной» формы) и двумя (т.е. «восточной» и «западной» формы) аллелями мтДНК представлены в табл. 5 и визуализированы на рис. 2. На сегодняшний день представляется возможным обозначить некоторые общие тенденции. Так, популяции с двумя типами аллелей в сравнении с поселениями, представленными только «восточной» формой, тяготеют к более мезофильным местообитаниям. Такие «смешанные» поселения располагаются на отметках высот от 295 до 1100 м над уровнем моря (в среднем 594 ± 71 ; $n = 15$) и нередко приурочены к каньонам и ущельям горных рек, холодноводным источникам и лесным озерам малой величины. Положение водоемов лишь в редких случаях бывает открытым (на приайлинских лугах); обычно они располагаются под пологом или на краю леса и в большей или меньшей степени затенены кронами деревьев (рис. 3). Одна особь, идентифицируемая по маркеру мтДНК как «западная» форма, добыта в пещерном водоеме у истоков реки Черная (локалитет № 40).

Своего рода фитоиндикатором, указывающим на высокую вероятность нахождения особей «западной» формы в локалитете, является бук (*Fagus sp.*) – 2/3 ее находок приходится на лесные массивы с присутствием или доминированием этой древесной породы, а во всех остальных случаях бук произрастал на небольшом удалении от пункта отбора материала. Еще один признак, по которому можно судить о присутствии в биотопе лягушек с маркером *R* – наличие поблизости массивов горного можжевельного леса, представляющего собой реликтовый тип растительности. Степень антропогенного воздействия в пунктах выявления митотипа «западной» формы оценена нами как низкая (в 2/3 случаев) или умеренная (1/3 случаев).

Напротив, «чистые» популяции «восточной» формы придерживаются более ксероморфных местообитаний, расположенных на меньших высотах (диапазон 15–900 м над уровнем моря, в среднем $377 \pm 39,3$; $n = 33$), и не избегают антропогенно нарушенных биотопов (см. табл. 5). Водоемы нередко демонстрируют явные признаки эвтрофикации – «цветение воды».

Таблица 5

Высотн-биотическое распределение поселений озерных лягушек из Горного Крыма с одним и двумя типами мтДНК: *R* [-] – выявлены особи только с гаплотипом *P. cf. bedriagae*; *R* [+] – выявлены особи с гаплотипами *P. cf. bedriagae* и *P. ridibundus*

Характеристика гаплотипического разнообразия поселения	n	Диапазон высот над уровнем моря, м экз., %				Тип водоема экз., %							Тип растительности экз., %							Местоположение водоема экз., %			Степень антропогенного воздействия экз., %		
		0-300	301-600	601-900	901-1200	Рк	Гр	Рч	Ис	Пр	Мо	Фр	Шб	Мж	Лс	Бл	Лг	О	ПО	3	Вс.	Ум.	Нз.		
<i>R</i> [-]	15	1 7	9 60	2 13	3 20	0 0	3 20	1 7	3 20	6 40	2 13	0 0	0 0	2 13	10 67	1 7	1 7	7 46,5	7 46,5	0 0	5 33	10 67			
<i>R</i> [-]	33	11 33	17 52	5 15	0 0	3 9	4 12	7 21	1 3	17 52	1 3	2 6	16 49	0 0	8 24	7 21	0 0	7 21	15 46	11 33	13 40	9 27	11 33		

Примечание. Условные обозначения: Тип водоема: Рк – река, Гр – ручей, Ис – источник, Пр – пруд, Мо – малое озеро; тип растительности: Фр – фригана, Шб – шибляк, Мж – можжевельный лес, Лс – широколиственный лес, Бл – лес с буком, Лг – луг; местоположение водоема: О – открытое, ПО – полуоткрытое, 3 – закрытое кронами деревьев; степень антропогенного воздействия: Вс. – высокая, Ум. – умеренная, Нз. – низкая.

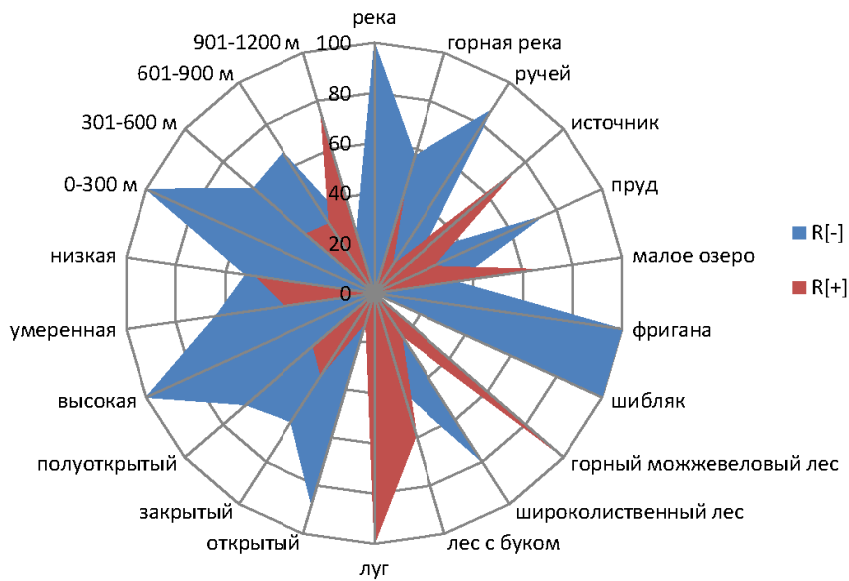


Рис. 2. Диаграмма высотно-биотопического распределения поселений озерной лягушки с одним – В (R[-]) и двумя – В, R (R[+]) митотипами

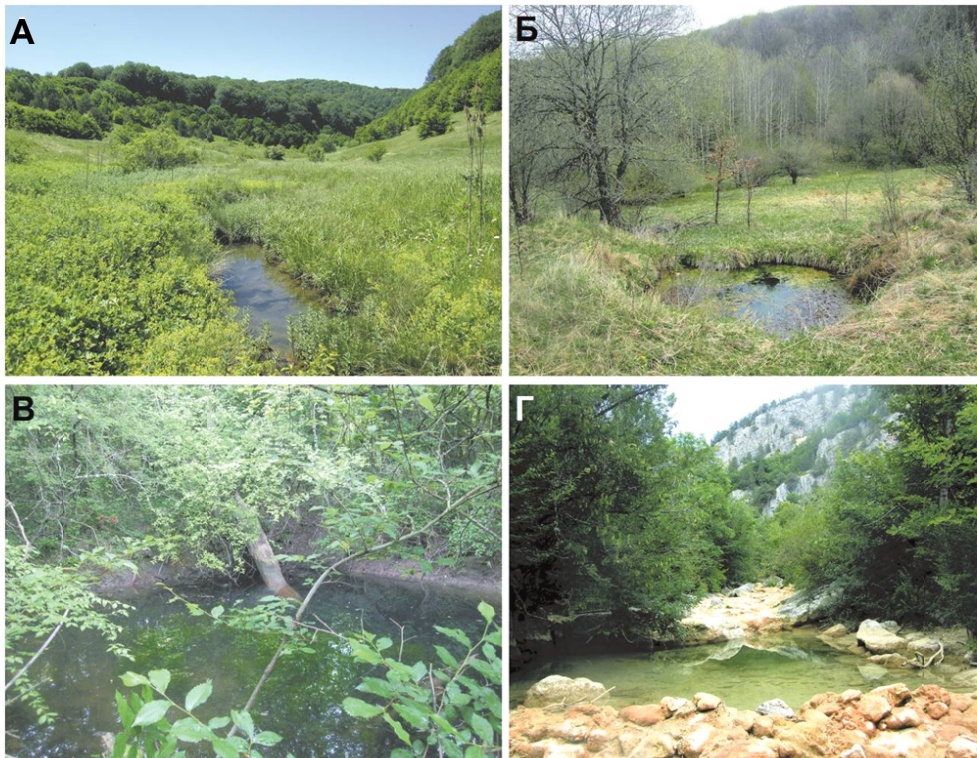


Рис. 3. Некоторые локалитеты «западной» формы озерной лягушки в Крыму:
 А – р. Суат, седловина между нагорьями Тырке, Караби-Яйла и Орта-Сырт (локалитет № 20), Б – р. Суботхан, Долгоруковская яйла (№ 23), В – озерцо-копанка в окрестности с. Орлиное, юг Байдарской долины (№ 27), Г – каньон р. Узунджа, северо-западные отроги нагорья Ай-Петринская яйла (№ 29)

Обсуждение

Отмечалось, что в Крыму, как и на Кавказе, доминируют гаплотипы и аллели, специфичные для *P. cf. bedriagae* [12]. По данным нашего исследования, распределение частот аллелей маркеров яДНК идентично в обоих южных регионах: *B* – 78 %, *R* – 22 %. Однако картина распределения митотипов на Крымском полуострове существенно иная, нежели на Кавказском перешейке, где особи «западной» формы не выявлены вовсе. При сравнении по частотам маркеров мтДНК 188 особей озерных лягушек из Крыма и 93 особей с Кавказа, данные по которым были опубликованы ранее [9; 10], различия достоверны ($\chi^2 = 10,35$, $p = 0,0013$).

Заслуживает внимания тот факт, что лягушки «западной» формы из бассейна реки Черная по результатам секвенирования гена *ND2* мтДНК идентифицируются как центрально-европейская *P. ridibundus* s. str., в то время как изученные особи с Нижнего Днепра принадлежали к балканской линии «*P. kurtmuelleri*» (неопубликованные данные авторов). Более того, даже в пределах очень небольшой территории на крайнем юго-западе Крыма (Байдарская долина и каньон реки Узунджа) сосуществуют несколько, несомненно, близкородственных, но при этом достаточно удаленных друг от друга уникальных гаплотипов *P. ridibundus* s. str. Следовательно, особенности распространения «западной» формы наряду с гаплотипическим своеобразием ее крымских представителей не позволяют связывать ее появление на полуострове с зарыблением водохранилищ, каковое нередко сопровождается заносом лягушек из других частей ареала [17]. Противоречит возможности случайной интродукции «западной» формы и отсутствие здесь «*P. kurtmuelleri*», между тем как зарыбление крымских водохранилищ, включая Чернореченское, производилось преимущественно из бассейна реки Днепр [18; 19].

На том основании, что в популяциях Крыма велика доля особей с несоответствием маркеров ядерной и митохондриальной ДНК, а особи с генотипом *RR/R* встречены единично, можно предполагать, что здесь имеют место возвратные скрещивания гибридов с той из родительских форм, которая в настоящее время численно доминирует, т.е. с «восточной». По-видимому, вся территория Крыма должна быть отнесена к зоне гибридизации «восточной» и «западной» форм.

Ранее отмечалось, что наблюдаемое распределение частот аллелей яДНК у озерных лягушек северной и восточной Анатолии может быть следствием вторичного контакта *P. cf. bedriagae* и *P. ridibundus* в позднем плейстоцене или раннем голоцене – в периоды, когда Черное море превращалось в солоноватоводный бассейн озерного типа [5]. Географическое положение Крымского полуострова на стыке Юго-Восточной Европы и Западной Азии создает предпосылки для возникновения аналогичной ситуации, что прослеживается на примере других групп организмов. Так, недавними исследованиями [20] был установлен гибридный генезис крымской популяции бука (*F. sylvaticus* × *F. orientalis*). Гибридное происхождение обсуждается и для ряда представителей эндемичной горно-крымской ихтиофауны [21].

Смешанные поселения, включающие особей с митотипом «западной» формы, выявлены в немногих районах горной части полуострова в пределах северного (чаще) и южного (значительно реже) макросклонов. Эти популяции, предположительно, представляют собой своего рода реликты, сохра-

нившиеся благодаря существованию барьеров, затрудняющих свободную миграцию амфибий. Опеределенный уровень изоляции таких поселений может поддерживаться за счет целого ряда факторов. Так, на юго-западе Крыма вершины речных каньонов на протяжении большей части года отрезаны от нижележащих долин километрами сухих русел. Однако в средней и верхней части каньонов всегда сохраняются наполненными достаточно глубокие эвразийские котлы («каменные ванны»), в которых горные популяции лягушек переживают засушливые периоды. В этих же микроводоемах происходит размножение лягушек. Этот вариант изоляции характерен для наиболее теплообеспеченных участков северного макросклона Главной гряды (зона субсредиземноморских можжевельников на северо-западных отрогах Ай-Петринской яйлы). В других случаях (глубокое ущелье Хапхал, приайлинские популяции, обитающие в долинах у речных истоков) сохранению эксклавов «западной» формы, вероятно, способствовал неоптимальный для *P. cf. bedriagae* влажный холодный климат местообитаний. Отметим также, что в быстрых горных реках под пологом леса плотность популяций лягушек обычно очень низкая, и встречаются они далеко не повсеместно [11]. Данное обстоятельство, по-видимому, должно замедлять темпы ассимиляции древнего населения лягушек Крыма более молодыми вселенцами.

В действительности ситуация еще более сложная, поскольку особи с митотипом, специфичным для «западной» формы, добывались не только на участках с крутосклонным и приподнятым горным рельефом, но и в водоемах Байдарской долины, а также у подножья Чатырдага (см. рис. 1, 3). Возможно, отклонение от предложенной выше схемы является следствием встречной миграции особей «западной» линии вниз по течению горных рек, которые в отдельные периоды бывают весьма бурными.

Ранее высказанное нами предположение об уникальной роли реки Черная для сохранения «западной» формы озерной лягушки [12] подтвердилось отчасти. Эта короткая (до 40 км) артерия имеет площадь водосбора порядка 436 км², но занимает второе место по полноводности среди крымских рек и выделяется самобытностью гидрофауны [13; 18; 22]. 2/3 локалитетов, в которых отмечено присутствие «западной» формы, действительно расположены в бассейне реки Черная. Однако «западная» форма выявлена также в речных системах центральной и восточной частей Главной гряды: у истоков рек Писара (бассейн реки Кача), Суат (приток реки Бурульча, бассейн Салгира) и Суботхан (единственный постоянный водоток на крымской яйле), в долине реки Ангара (приток Салгира), а также на южном макросклоне в реке Восточный Улу-Узень (см. табл. 1, рис. 1). Перечисленные выше водотоки имеют малую протяженность (7–15 км) и небольшую площадь водосбора (10–70 км²). Отметим однако, что истоки рек, берущих начало на яйле, и горные потоки, заключенные в каньоны и ущелья, характеризуются сравнительным постоянством гидрографического режима, а их приподнятое и затененное (в силу закрытости горизонта склонами глубоких долин или горными обрывами) положение определяет своеобразный прохладный климат местообитаний, температуру и гидрохимические характеристики воды. Таким образом, «западная» форма в Крыму не столь узко локализована, как предполагалось ранее [12]. При дальнейших исследованиях, несомненно, будут выявлены и другие ее эксклавы в лесной зоне северного макросклона Главной гряды.

Данные о распределении частот маркеров мт- и яДНК у озерных лягушек Крыма наряду с представленными фактами по распространению «западной» формы, по нашему мнению, свидетельствуют о сложной истории колонизации полуострова формами *P. (ridibundus) complex* в конце плейстоцена – голоцене. Можно предполагать, что во время позднеплейстоценового похолодания в Крым с севера была оттеснена *P. ridibundus*, чему способствовало широкое соединение нынешнего Крымского полуострова с континентом в области ныне затопленной шельфовой зоны и наличие граничащих с Крымом мощных речных систем [23]. Потепление в голоцене обусловило экспансию либо восстановление доледникового ареала *P. cf. bedriagae*. Последняя форма, более термофильная и устойчивая к засушливому климату, распространилась, вероятно, с Кавказа (на что указывает сходство первичных последовательностей гена *ND2* у озерных лягушек Западного Кавказа и Крыма (неопубликованные данные авторов)) или имела рефугиум в районе дельты Дона – южнее современного Керченского пролива [24]. Высокая миграционная способность «восточной» формы [17], вероятно, благоприятствовала быстрой (ре-)колонизации территории Крыма, в то время как мезофильная и менее стойкая в отношении высоких температур «западная» форма была оттеснена в горы и к настоящему времени практически полностью ассимилирована экспансивным вселенцем. Предложенный здесь сценарий согласуется с концепцией, согласно которой эндемичная гидрофауна крымских рек (представленная оксифильными холодноводными формами) сформировалась на рубеже плейстоцена и голоцена у речных истоков, в то время как их предгорные участки были оккупированы голоценовыми иммигрантами [25]. Современная климатическая обстановка и ландшафтная динамика (повышение среднегодовых температур, аридизация, падение уровня грунтовых вод, возрастающее антропогенное воздействие [26]) должны приводить к еще большему сокращению площади пригодных биотопов *P. ridibundus* s. str. Одним из заметных признаков этого процесса явилось усыхание в конце XX в. – начале XXI в. большинства естественных озер на крымской яйле.

В заключение коснемся еще одного существенного аспекта проблемы. Еще совсем недавно реки Степного Крыма были включены в коллекторно-дренажную сеть Северо-Крымского канала. Ихтиофауна канала сформировалась на основе днепровской, причем для ряда видов предполагается самостоятельное расселение [19]. Также обсуждалась возможность вселения в Крым с использованием этой крупной гидросистемы видов и генетических линий амфибий и экологически тесно связанных с водной средой рептилий [11; 12; 27]. Нашими исследованиями значение Северо-Крымского канала для проникновения в Крым «западной» формы озерной лягушки не установлено. Находка близ Перекопского перешейка (в реке Чатырлык) особи, идентифицированной по маркеру мтДНК как «западная» форма (см. рис. 1), пока не имеет однозначной трактовки, поскольку ее принадлежность к одной из линий внутри *P. ridibundus* s. l. остается неустановленной. Чатырлык – наиболее многоводная и протяженная из крымских степных рек – представляет собой реликт древнего русла Салгира, в позднечетвертичное время объединявшегося с речной системой палео-Днепра или палео-Каланчака [28; 29]. Поэтому и занос с водами Северо-Крымского канала и сохранение в Чатырлыке оста-

точной популяции «западной» формы на данный момент кажутся событиями равновероятными.

Более общей тенденцией современности может быть, напротив, постепенное расширение ареала «восточной» формы в направлении на север и запад. Благодаря развитой системе дренажных каналов ирригация Равнинного Крыма привела к значительному увеличению численности озерной лягушки и способствовала ее продвижению на ранее не заселенные территории [27]. Поскольку в единую гидросистему канала были включены и такие значительные крымские реки, как Салгир и Биюк-Карасу, вероятность экспансии в недалеком прошлом «восточной» формы с использованием многочисленных искусственных водоемов, возникших в ранее безводной степи, выглядит не столь уж и низкой. В этом ключе представляет интерес выявление специфических для *P. cf. bedriagae* аллелей яДНК у части особей из нижнеднепровской популяции (локалитет № 56).

Изучение взаимоотношений крымских представителей *P. (ridibundus)* complex обнажает пласт проблем, связанных с интрогрессивной гибридизацией видов и линий, их экологическими предпочтениями, генетическими процессами в популяциях аборигенных форм при экспансии близкородственных вселенцев, действием изолирующих факторов, включая особенности конкретной гидрологической сети и рельефа местности, а также влиянием природопреобразующей деятельности человека на динамику ареалов амфибий. В силу сочетания многих причин Крым является перспективным полигоном для исследований, способных углубить знание о перечисленных аспектах биологии зеленых лягушек.

Благодарности. Авторы искренне признательны Илье Турбанову (Борк), Наталье Кушан (Николаев), Павлу Оксиненко (Симферополь), Александру Трофимову, Антону Надольному и Сергею Свиринову (Севастополь), Юлии Красиленко и Ольге Мануиловой (Киев), Ивану Блохину (Москва), Игорю Стаднику (п. Курортное, Феодосия) за содействие при проведении полевых исследований и сборе материала, Сергею Токареву (Симферополь) и Илье Турбанову – за предоставление использованной в данной работе картографической основы и помощь в изготовлении иллюстраций.

Библиографический список

1. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР / А. Г. Банников, И. С. Даревский, В. Г. Ищенко, А. К. Рустамов, Н. Н. Щербак. – М. : Просвещение, 1977. – 415 с.
2. Боркин, Л. Я. О криптических видах (на примере амфибий) / Л. Я. Боркин, С. Н. Литвинчук, Ю. М. Розанов, Д. В. Скоринов // Зоологический журнал. – 2004. – Т. 83, вып. 8. – С. 936–960.
3. Genetic Divergence and Evolution of Reproductive Isolation in Eastern Mediterranean Water Frogs / J. Plötner, T. Uzzel, P. Beerli, C. Akin, C. C. Bilgin, C. Haefeli, T. Ohst, F. Köhler, R. Schreiber, G. Gaston-Denis, S. N. Litvinchuk, R. Westaway, R. Heinz-Ulrich, N. Pruvost, H. Hotz // Evolution in Action / ed. M. Glaubrecht. – Berlin ; Heidelberg : Springer-Verlag, 2010. – P. 373–403.
4. Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs have been determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic / Ç. Akin, C. C. Bilgin, P. Beerli, R. Westaway, T. Ohst, S. N. Litvinchuk, T. Uzzel,

- M. Bilgin, H. Hotz, G.-D. Guex, J. Plötner // Journal of Biogeography. – 2010. – Vol. 37. – P. 2111–2124.
5. **Akin, Ç. P.** Molecular evolution and phylogeography of the Eastern Mediterranean water frog (*Pelophylax*) complex / Ç. P. Akin // Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. – Ankara : School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, 2015. – 342 p.
6. Balancing a Cline by Influx of Migrants: A Genetic Transition in Water Frogs of Eastern Greece / H. Hotz, P. Beerli, T. Uzzel, G.-D. Guex, N. B. M. Pruvost, R. Schreiber, J. Plötner // Journal of Heredity. – 2012. – Vol. 104, № 1. – P. 57–71.
7. **Ермаков, О. А.** Диагностика и распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. l. в Пензенской области (по данным анализа гена COI мтДНК) / О. А. Ермаков, М. М. Закс, С. В. Титов // Вестник Тамбовского государственного университета. Сер.: Естественные и технические науки. – 2013. – Т. 18, вып. 6. – С. 2999–3002.
8. Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. l. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) / О. А. Ермаков, А. И. Файзулин, М. М. Закс, Э. И. Кайбелева, Ф. Ф. Зарипова // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – Т. 16, № 5 (1). – С. 409–412.
9. Генетические формы озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex) Западного Кавказа по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК / О. А. Ермаков, Е. П. Симонов, А. Ю. Иванов, Р. И. Замалетдинов, А. И. Файзулин // Молекулярная генетика гидробионтов / под ред. Б. А. Левина. – Ярославль : Филигрань, 2016. – Вып. 73 (76). – С. 70–76. – (Труды Ин-та биологии внутренних вод РАН).
10. **Ермаков, О. А.** Молекулярно-генетическая характеристика озерных лягушек *Pelophylax ridibundus* Республики Дагестан (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) / О. А. Ермаков, А. И. Файзулин, А. Д. Аскендеров, А. Ю. Иванов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2016. – Т. 18, № 4. – С. 94–99.
11. **Писанець, Є.** Земноводні Криму / Є. Писанець, О. Кукушкін. – Київ : Національний науково-природничий музей НАН України, 2016. – 320 с.
12. **Файзулин, А. И.** Предварительные данные о молекулярно-генетической структуре *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura, Ranidae) южной части Крымского полуострова по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК / А. И. Файзулин, О. В. Кукушкин, А. Ю. Иванов, О. А. Ермаков // Современная герпетология. – 2017. – Т. 17, вып. 1/2. – С. 56–65.
13. **Подгородецкий, П. Д.** Крым: Природа / П. Д. Подгородецкий. – Симферополь : Таврия, 1988. – 192 с.
14. **Ведь, В. И.** Климатический атлас Крыма / В. И. Ведь. – Симферополь : Таврия-Плюс, 2000. – 120 с.
15. **Ена, В. Г.** Заповедные ландшафты Тавриды / В. Г. Ена, Ан. В. Ена, Ал. В. Ена. – Симферополь : Бизнес-Информ, 2004. – 424 с.
16. **Aljanabi, S. M.** Universal and rapid salt-extraction of high genomic DNA for PCR-based techniques / S. M. Aljanabi, I. Martinez // Nucleic Acids Research. – 1997. – Vol. 25. – P. 4692–4693.
17. **Ляпков, С. М.** Распространение и происхождение двух форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* complex (Anura, Ranidae) на Камчатке по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК / С. М. Ляпков, О. А. Ермаков, С. В. Титов // Зоологический журнал. – 2017. – Т. 96, № 11. – С. 1384–1391.
18. **Прокопов, Г. А.** Пресноводная фауна бассейна р. Черной / Г. А. Прокопов // Вопросы развития Крыма : науч.-практ. дискуссионно-аналит. сб. Вып. 15. Проблемы инвентаризации крымской биоты. – Симферополь : Таврия-Плюс, 2003. – С. 151–174.

19. **Карпова, Е. П.** Чужеродные виды рыб в пресноводной ихтиофауне Крыма / Е. П. Карпова // Журнал российских биологических инвазий. – 2016. – № 3. – С. 47–60.
20. **Gömöry, D.** Phylogeny of beech in Western Eurasia as inferred by approximate Bayesian computation / D. Gömöry, L. Paule, V. Mačejovský // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2018. – Vol. 87, № 2. – P. 1–11.
21. Molecular phylogeny of the genus *Gobio* Cuvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae) and its contribution to taxonomy / J. Mendel, S. Lusk, E. D. Vasil'eva, V. P. Vasil'ev, V. Lusková, F. G. Ekmekci, F. Erk'akan, A. Ruchin, J. Kosčšo, L. Vetešnik, K. Halačka, R. Šanda, A. N. Pashkov, S. I. Reshetnikov // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2008. – Vol. 47. – P. 1061–1075.
22. **Мирошниченко, А. И.** Паразитофауна рыб бассейна реки Черной / А. И. Мирошниченко // Заповедники Крыма: Биоразнообразие и охрана природы в Азово-Черноморском регионе : материалы VI Междунар. науч.-практ. конф. (г. Симферополь, 20–22 октября 2011 г.). – Симферополь : Таврический национальный ун-т, 2011. – С. 310–322.
23. **Yanina, T. A.** The Ponto-Caspian region: Environmental consequences of climate change during the Late Pleistocene / T. A. Yanina // Quaternary International. – 2014. – Vol. 345. – P. 88–99.
24. **Мищенко, А. А.** Палеогеография Черного и Азовского морей и их побережий в плейстоцене и голоцене (в пределах Краснодарского края) / А. А. Мищенко, Т. А. Волкова, В. В. Миненкова, Ю. О. Антипцева // Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Сер.: Естественные и точные науки. – 2018. – Т. 12, № 1. – С. 65–72.
25. **Прокопов, Г. А.** Особенности распределения пресноводной фауны Крыма в свете истории ее формирования / Г. А. Прокопов // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Сер.: Біологія. – 2005. – № 3 (26). – С. 363–365.
26. Трансформация ландшафтно-экологических процессов в Крыму в XX веке – начале XXI века / под ред. А. В. Бокова. – Симферополь : ДОЛЯ, 2010. – 304 с.
27. **Котенко, Т. И.** Влияние ирригации на герпетокомплексы в Крымском Присивашье / Т. И. Котенко // Біорізноманіття та роль зооценозу в природних і антропогенних екосистемах : матеріали III Міжнар. наук. конф. “Zoocenosis-2005” (м. Дніпропетровськ, 4–6 жовтня 2005 р.). – Дніпропетровськ : Від-во Дніпропетровського національного ун-ту, 2005. – С. 392–394.
28. **Позаченюк, Е. А.** Флористические связи Крыма с точки зрения позиционных отношений / Е. А. Позаченюк // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2012. – Вып. 7. – С. 11–21.
29. Палеогеография северо-западного шельфа Черного моря в голоцене / Ю. И. Иноземцев, Л. В. Ступина, Н. В. Тюленева, А. А. Парышев, Н. А. Маслаков, В. Б. Сидоренко, Е. Н. Рыбак, Т. А. Мельниченко, О. В. Паславская // Вісник Одеського національного університету. Сер.: Географічні та геологічні науки. – 2014. – Т. 19, вип. 1. – С. 43–52.

References

1. Bannikov A. G., Darevskiy I. S., Ishchenko V. G., Rustamov A. K., Shcherbak N. N. *Opredelitel' zemnovodnykh i presmykayushchikhsya fauny SSSR* [Identifier of amphibians and reptiles of the USSR]. Moscow: Prosveshchenie, 1977, 415 p.
2. Borkin L. Ya., Litvinchuk S. N., Rozanov Yu. M., Skorinov D. V. *Zoologicheskij zhurnal* [Zoological journal]. 2004, vol. 83, iss. 8, pp. 936–960.
3. Plötner J., Uzzel T., Beerli P., Akin C., Bilgin S. S., Haefeli S., Ohst T., Köhler F., Schreiber R., Gaston-Denis G., Litvinchuk S. N., Westaway R., Heinz-Ulrich R., Pru-

- vost N., Hotz H. *Evolution in Action*. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2010, pp. 373–403.
4. Akin Ç., Bilgin C. C., Beerli P., Westaway R., Ohst T., Litvinchuk S. N., Uzzell T., Bilgin M., Hotz H., Guex G.-D., Plötner J. *Journal of Biogeography*. 2010, vol. 37, pp. 2111–2124.
 5. Akin Ç. P. *Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy*. Ankara: School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, 2015, 342 p.
 6. Hotz H., Beerli P., Uzzell T., Guex G.-D., Pruvost N. B. M., Schreiber R., Plötner J. *Journal of Heredity*. 2012, vol. 104, no. 1, pp. 57–71.
 7. Ermakov O. A., Zaks M. M., Titov S. V. *Vestnik Tambovskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser.: Estestvennye i tekhnicheskie nauki* [Bulletin of Tambov State University. Series: Natural and engineering sciences]. 2013, vol. 18, iss. 6, pp. 2999–3002.
 8. Ermakov O. A., Fayzulin A. I., Zaks M. M., Kaybeleva E. I., Zaripova F. F. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN* [Proceedings of Samara Research Center of RAS]. 2014, vol. 16, no. 5 (1), pp. 409–412.
 9. Ermakov O. A., Simonov E. P., Ivanov A. Yu., Zamaletdinov R. I., Fayzulin A. I. *Molekulyarnaya genetika gidrobiontov* [Molecular genetics of hydrocoles]. Yaroslavl: Filigran', 2016, iss. 73 (76), pp. 70–76.
 10. Ermakov O. A., Fayzulin A. I., Askenderov A. D., Ivanov A. Yu. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN* [Proceedings of Samara Research Center of RAS]. 2016, vol. 18, no. 4, pp. 94–99.
 11. Pisanets' E., Kukushkin O. *Zemnovodni Krimu* [Amphibians of Crimea]. Kiev: Natsional'nyi naukovo-prirodnicхий muzey NAN Ukraïni, 2016, 320 p.
 12. Fayzulin A. I., Kukushkin O. V., Ivanov A. Yu., Ermakov O. A. *Sovremennaya gerpetologiya* [Modern herpetology]. 2017, vol. 17, iss. 1/2, pp. 56–65.
 13. Podgorodetskiy P. D. *Krym: Priroda* [Crimea: nature]. Simferopol: Tavriya, 1988, 192 p.
 14. Ved' V. I. *Klimaticheskiiy atlas Kryma* [Climatic atlas of Crimea]. Simferopol: Tavriya-Plyus, 2000, 120 p.
 15. Ena V. G., Ena An. V., Ena Al. V. *Zapovednye landshafty Tavridy* [Tavrida's nature reserve landscapes]. Simferopol: Biznes-Inform, 2004, 424 p.
 16. Aljanabi S. M., Martinez I. *Nucleic Acids Research*. 1997, vol. 25, pp. 4692–4693.
 17. Lyapkov S. M., Ermakov O. A., Titov S. V. *Zoologicheskiiy zhurnal* [Zoological journal]. 2017, vol. 96, no. 11, pp. 1384–1391.
 18. Prokopov G. A. *Voprosy razvitiya Kryma: nauch.-prakt. diskussionno-analit. sb. Vyp. 15. Problemy inventarizatsii krymskoy bioty* [Issues of Crimea's development: a scientific and practical analytical collection. Issue 15. Inventory problems of the Crimean biota]. Simferopol: Tavriya-Plyus, 2003, pp. 151–174.
 19. Karpova E. P. *Zhurnal rossiyskikh biologicheskikh invaziy* [Journal of Russian biological infestations]. 2016, no. 3, pp. 47–60.
 20. Gömöry D., Paule L., Mačejovský V. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2018, vol. 87, no. 2, pp. 1–11.
 21. Mendel J., Lusk S., Vasil'eva E. D., Vasil'ev V. P., Lusková V., Ekmekci F. G., Erk'akan F., Ruchin A., Kosčšo J., Vetešnik L., Halačka K., Šanda R., Pashkov A. N., Reshetnikov S. I. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2008, vol. 47, pp. 1061–1075.
 22. Miroshnichenko A. I. *Zapovedniki Kryma: Bioraznoobrazie i okhrana prirody v Azovo-Chernomorskom regione: materialy VI Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (g. Simferopol', 20–22 oktyabrya 2011 g.)* [Crimean natural reserves: Biodiversity and environmental protection in Azov-Black Sea region: proceedings of VI International scientific and practical conference (Simferopol, October 20th–22nd, 2011)]. Simferopol: Tavricheskiiy natsional'nyy un-t, 2011, pp. 310–322.
 23. Yanina T. A. *Quaternary International*. 2014, vol. 345, pp. 88–99.

24. Mishchenko A. A., Volkova T. A., Minenkova V. V., Antiptseva Yu. O. *Izvestiya Dagestanskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Ser.: Estestvennye i tochnye nauki* [Dagestan State Pedagogical University. Series: Natural and exact scientists]. 2018, vol. 12, no. 1, pp. 65–72.
25. Prokopov G. A. *Naukovi zapiski Ternopil'skogo natsional'nogo pedagogichnogo universitetu. Ser.: Biologiya* [Proceedings of Ternopyl National Pedagogical University. Series: Biology]. 2005, no. 3 (26), pp. 363–365.
26. *Transformatsiya landshaftno-ekologicheskikh protsessov v Krymu v XX veke – nachale XXI veka* [Transformation of landscape ecological processes in Crimea in the XX – early XXI centuries]. Ed. by A. V. Bokov. Simferopol: DOLYa, 2010, 304 p.
27. Kotenko T. I. *Bioriznomanitya ta rol' zootsenozu v prirodnikh i antropogennikh ekosistemakh: materialy III Mizhnar. nauk. konf. "Zoocenosis-2005" (m. Dnipropetrovs'k, 4–6 zhovtnya 2005 r.)* [Biodiversity and the role of cenosis in natural and anthropogenic ecosystems: proceedings of III International scientific conference “Zoocenosis-2005” (Dnepropetrovsk, October 4th–6th, 2005)]. Dnipropetrovsk: Vid-vo Dnipropetrovs'kogo natsional'nogo un-tu, 2005, pp. 392–394.
28. Pozachenyuk E. A. *Ekosistemy, ikh optimizatsiya i okhrana* [Ecosystems, their optimization and protection]. 2012, iss. 7, pp. 11–21.
29. Inozemtsev Yu. I., Stupina L. V., Tyuleneva N. V., Paryshev A. A., Maslakov N. A., Sidorenko V. B., Rybak E. N., Mel'nichenko T. A., Paslavskaya O. V. *Vicnik Odes'kogo natsional'nogo universitetu. Ser.: Geografichni ta geologichni nauki* [Bulletin of Odessa National University. Series: Geographical and geological sciences]. 2014, vol. 19, iss. 1, pp. 43–52.

Кукушкин Олег Витальевич

научный сотрудник, отдел изучения биоразнообразия и экологического мониторинга, Карадагская научная станция имени Т. И. Вяземского – природный заповедник Российской академии наук (Россия, Республика Крым, г. Феодосия, пос. Курортное, ул. Науки, 24); соискатель, отдел герпетологии, Зоологический институт Российской академии наук (Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 1)

E-mail: mtasketi2018@gmail.com

Иванов Александр Юрьевич

преподаватель, кафедра зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: akella58@mail.ru

Ермаков Олег Александрович

кандидат биологических наук, доцент, кафедра зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: oaermakov@list.ru

Kukushkin Oleg Vital'evich

Researcher, department of biodiversity studies and ecological monitoring, T. I. Vyazemsky Karadag Research Station – RAS Nature Reserve (24 Nauki street, Kurortnoe settlement, Theodosia, Russia); applicant, Department of Herpetology, Zoological Institute of RAS (1 Universitetskaya embankment, Saint-Petersburg, Russia)

Ivanov Aleksandr Yur'evich

Teacher, sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Ermakov Oleg Aleksandrovich

Candidate of biological sciences, associate professor, sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

УДК 597.851 (477.75)

Кукушкин, О. В.

О генетической неоднородности населения озерных лягушек Крыма, выявляемой по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК (*Pelophylax (ridibundus) complex; anura, ranidae*) / О. В. Кукушкин, А. Ю. Иванов, О. А. Ермаков // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2018. – № 3 (23). – С. 32–54. – DOI 10.21685/2307-9150-2018-3-3.