

Зеленые лягушки: жизнь без правил или особый способ эволюции?

Д.А.Шабанов, С.Н.Литвинчук

Современные представления об организмах, популяциях и видах созданы усилиями многих поколений биологов. Познавая мир, они попытались выстроить упорядоченную картину действительности, систематизировав всех обитателей планеты. Основная единица систематики — вид — это не просто название организма, но и качественный этап эволюции, совокупность особенностей, связанных процессом размножения и определенной эволюционной судьбой.

Большинство животных и растений размножаются половым способом, при котором новый организм получает два набора наследственной информации (генома) — от матери и отца. В геномах потомков наследственные задатки родителей сочетаются (рекомбинируют) по вероятностным законам, что порождает неисчерпаемое генетическое разнообразие.

Особи одного вида существуют в составе определенных популяций. Под влиянием изоляции две части когда-то единой популяции могут измениться настолько сильно, что скрещивание между их представителями окажется затруднено. Так возникают новые виды.

Все это верно, но не всегда. Как известно, нет правил без исключений. Поиск таких исклю-



Дмитрий Андреевич Шабанов, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и экологии животных Харьковского национального университета им.В.Н.Каразина. Область интересов — популяционная экология, батрахология, эволюционная биология.



Спартак Николаевич Литвинчук, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии РАН. Область интересов — цитогенетика, зоология, эволюционная биология.

чений, точнее нарушений известных биологических законов, — один из способов понимания феномена жизни. Рассматривая их, можно перейти от уже понятых «правил игры» к более глубоким истинам.

Отступить и от упомянутых «правил игры», и от многих других могут, казалось бы, вполне изученные животные — например, лягушки. Конечно, в XX в. — в эпоху биохимии, генетики

и молекулярной биологии — классическими объектами исследований стали мыши, крысы, дрозофилы и круглый червь *Caenorabditis*. Но до этого долгое время подопытными животными биолога (и даже нигилиста Базарова) были именно лягушки, и чаще всего зеленые (*Rana* sp.). Это они сидят по берегам почти любого пресного водоема и шлепаются в воду при приближении человека.

© Шабанов Д.А., Литвинчук С.Н., 2010

Все не как у людей

В начале 60-х годов XX в. польский гидробиолог Лешек Бергер захотел разобраться в путанице, гулявшей по страницам зоологических определителей того времени. Было неясно, два или три вида (или подвида) лягушек населяют польские водоемы. Он поступил просто: рассадил лягушек по парам в небольшие пруды в собственном огороде и дождался их потомства. Один из «видов» лягушек оказался гибридом двух других. Что ж, бывает и так. Парадоксальнее было то, что при скрещивании гибридов с особями родительского вида получались или лягушки родительского вида, или такие же гибриды [1]. Отступление от канонов вызвало пристальный интерес исследователей. Загадку ре-



Рис.1. По этому экземпляру сам Карл Линней описал вид *Rana esculenta*! Можно считать, что это — лягушка №1, т.е. носитель видового имени, или голотип.
Фото С.Н.Литвинчука

шил немецкий биолог Хейнц Тюннер. Он сначала догадался, а потом с помощью генетических маркеров доказал, что у гибридных лягушек в половые клетки переходит лишь один из родительских геномов [2]. Аналогичное явление незадолго до того обнаружили у одного американского рода живородящих рыб и назвали *гибридогенезом*.

Открытия Бергера и Тюннера были лишь началом череды чудес, связанных с зелеными лягушками. Отступив от истории, кратко опишем особенности этой группы. Восточноевропейские зеленые лягушки представлены двумя родительскими видами и их гибридами: озерная лягушка (*Rana* ridibunda*) и прудовая лягушка (*R.*lessonae*), скрещиваясь, порождают съедобных лягушек (*R.*esculenta*) (рис.1).

Строго говоря, обычные гибриды видовых имен не получают, и съедобные лягушки сохранили свое имя не потому, что его дал в 1758 г. Карл Линней, а вследствие того, что они представляют отдельную линию эволюции, способную не только поддерживать себя во взаимодействии с родительскими видами, но даже и воспроизводиться самостоятельно (рис.2, 3).

Чтобы проще осознать необычность способа размножения гибридных лягушек, сравним образование половых клеток у них и у людей. Клетки нашего тела имеют по 46 хромосом, а лягушек — по 26. В обоих случаях половина этих хромосом получена от матери, а половина — от отца. У людей в половых клетках формируется фактически новый геном, состоящий из перемешанных «материнских» и «отцовских» фрагментов. Количество возможных сочетаний при этом невообразимо. Даже простая перетасовка хромосом (в какую половую клетку войдет «материнская», а в какую — «отцовская»)

* В последние годы многие систематики выделяют этих лягушек в отдельный род *Pelophylax* и называют соответственно — *Pridibundus*, *Plessonae* и *Pesculentus*.

дает 2^{23} комбинаций. На самом деле вариантов несоизмеримо больше, так как после обмена участками между хромосомами каждая из них (кроме половых, X и Y) перестает быть «материнской» или «отцовской», становясь новой, рекомбинантной. Среди сотен миллиардов сперматозоидов, которые мужчина производит за свою жизнь, нет двух одинаковых. Смысл такой «перетасовки» — поиск удачных сочетаний наследственных задатков. В этом отношении человек — вполне обычный представитель животных, а вот лягушки — не вполне.

У лягушек рекомбинация наследственной информации происходит при размножении особей одного вида, а вот у гибридов, возникающих при скрещивании лягушек разного вида, все иначе! Такие особи производят одинаковые (клональные**) половые клетки, несущие один из родительских геномов. А что случается со вторым? Он попросту уничтожается, элиминируется. Такое наследование называется *гемиклональным* (от греч. $\gamma\epsilon\mu\iota$ — полу- и $\kappa\lambda\omega\nu$ — отпрыск, ветвь).

А к чему приводит скрещивание гибридных лягушек с особями родительского вида? Все их потомки получают один и тот же клональный геном и разные рекомбинантные геномы (рис.3).

Теперь представим ситуацию, когда в одном водоеме присутствуют особи, относящиеся к разным видам и формам. Совместно размножаясь, они передают как рекомбинантные, так и клональные геномы. Такую совокупность особей можно назвать *гемиклональной популяционной системой* (ГПС) (рис.4, 5). В ГПС, в которой, допустим, размножаются озерные лягушки — RR и гибриды, которые клонально передают геном прудовой лягушки — (L)R, возможны три варианта скрещивания. При размножении озер-

** Клональность генома мы обозначаем заключением его символа в скобки: если клонально передается геном прудовой лягушки — (L), если озерной — (R).

ных лягушек все их потомство принадлежит к одному виду: $RR \times RR \rightarrow RR$. Скрещивание озерной лягушки и гибридов приведет к появлению гибридного потомства: $RR \times (L)R \rightarrow (L)R$. А что будет при скрещивании гибридов?

Как ни странно, во многих случаях скрещивание гибридов, передающих клональный геном одного вида, приводит к появлению нежизнеспособного потомства: $(L)R \times (L)R \rightarrow [(L)(L)] \rightarrow \dagger$. Этот феномен принято объяснять накоплением мутаций в клональном геноме. Раз он передается из поколения в поколение без обновления в ходе рекомбинаций, он не может избавляться от неизбежно возникающих в нем летальных мутаций. Запомним этот факт и вернемся к рассмотрению судьбы системы, состоящей из особей с генотипами RR и (L)R. Скрещивания «гибрид-родитель» будут приводить к увеличению доли гибридов, пока в такой гемиклональной популяционной системе не исчезнут представители родительского вида. ГПС, состоящая из гибридов, неспособных произвести жизнеспособное потомство, погибнет...

К счастью гибридных лягушек и их исследователей, так происходит не всегда. Во-первых, преимущество в воспроизводстве гибридов может уравновеситься их пониженной жизнеспособностью и плодовитостью, что приведет к стабилизации численности двух форм в популяции в каком-то определенном соотношении. Во-вторых, существуют разные формы гибридов, и некоторые из них, обитая совместно, способны породить вполне устойчивые популяционные системы.

Особенности жизни без правил

Нам посчастливилось участвовать в открытии в 2002 г., а также дальнейшем изучении необычного центра разнообразия зеленых лягушек — региона,

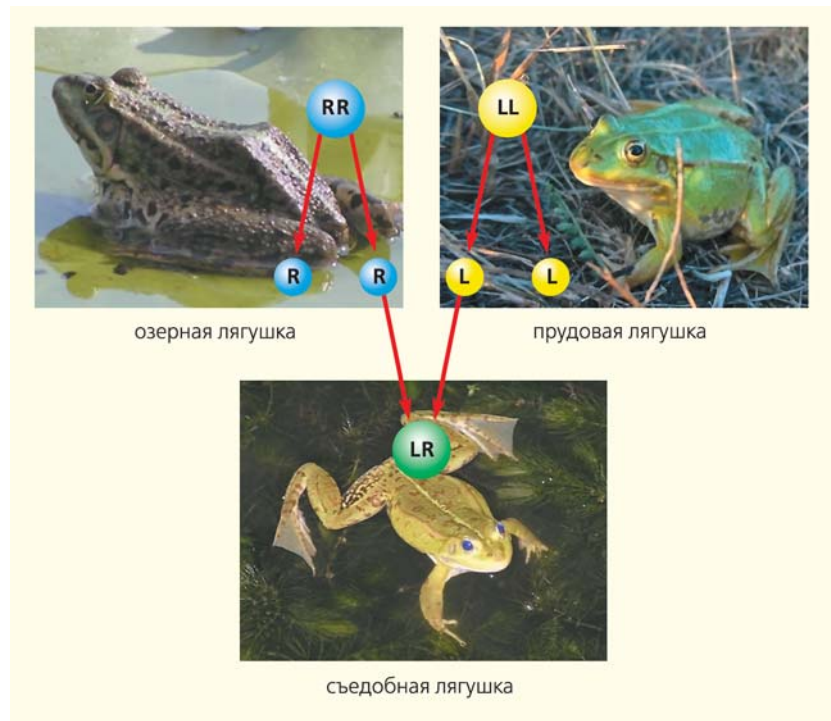


Рис.2. Схема изначального возникновения гибридов. L — геном прудовой лягушки, R — озерной. Особи с генотипом LR получаются от скрещивания двух родительских видов — LL и RR.

Здесь и далее фото А.В.Коршунова и Д.А.Шабанова

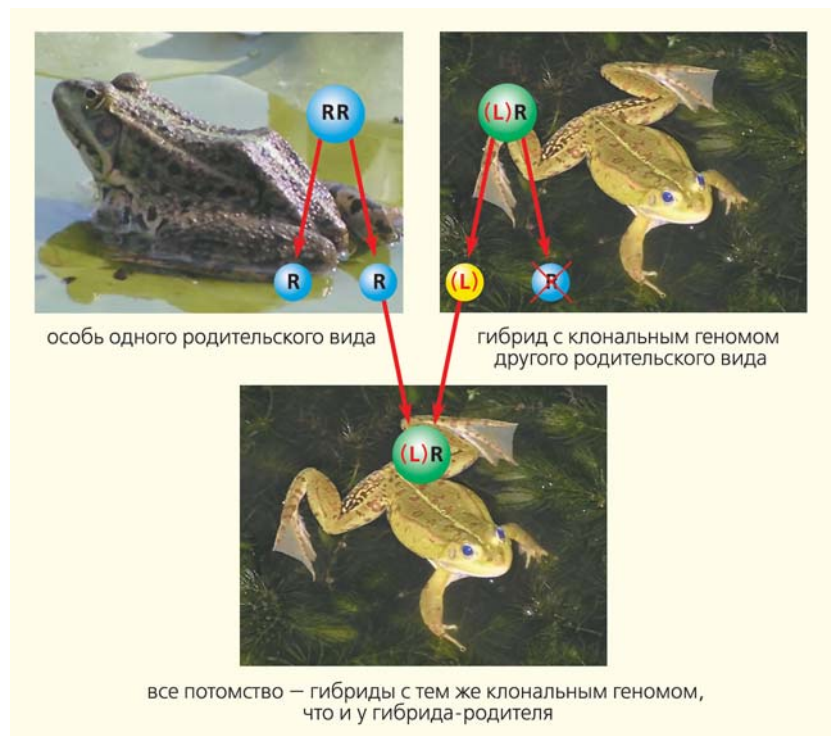


Рис.3. Схема воспроизводства гибридных лягушек при их скрещивании с особями родительского вида. Символ клонального генома (в данном случае — генома прудовой лягушки L) взят в скобки.



Рис.4. Размножение в составе гемиклональной популяционной системы: в общем нерестовом котле встретились особи родительского вида и разнообразные гибриды. Их легко различить по цвету резонаторов самцов: у съедобной лягушки (гибрида озерной и прудовой лягушек) они белые, у самцов озерной — серые.

Фото Д.А.Шабанова

где одновременно встречается много их форм. Этот центр разнообразия связан с р.Северский Донец [3–5].

Кроме озерных лягушек и диплоидных (с двумя геномами) гибридов в этом центре массово представлены триплоидные гибриды, т.е. особи с тремя геномами (таблица, рис.б)! Среди молодых особей зарегистрированы даже единичные тетраплоиды (по два генома прудовой и озерной лягушек), а также прудовые лягушки. Вероятно, тетраплоидные гибриды и прудовые лягушки гибнут в молодом возрасте. И это еще не все. Диплоидные гибриды в этих ГПС представлены тремя формами, отличающимися по составу их половых клеток. Эти формы можно обозначить (L)R, L(R) и (L)(R).

Хотя все перечисленные формы (см. табл.) были известны науке и ранее, системы такого сложного состава раньше никто не находил. Наиболее разнообразные ГПС найдены в Харьковской области Украины, но зона распространения

триплоидов простирается вниз по течению Северского Донца вплоть до Ростовской области России [6].

В самом деле, нормальная жизнеспособность триплоидных гибридов плохо согласуется с традиционными представлениями о генетике животных. Вдумайтесь: геномы и прудовой, и озерной лягушек — результат длительной эволюции диплоидных организмов с одинаковыми хромосомными наборами. Способность трех таких геномов, сошедшихся в одной особи

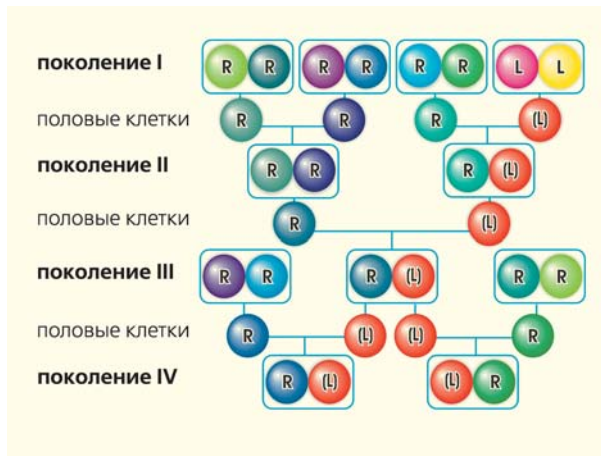


Рис.5. Схема истории нескольких поколений лягушек, основанная на анализе передачи геномов (цветные шарики). В случае наследования с рекомбинацией в половые клетки переходит геном, образующийся при смешении наследственной информации родителей (показано смешением цветов). Клональные геномы передаются как единое целое (цвет сохраняется).

Таблица

Состав гемиклональной популяционной системы в северско-донецком центре разнообразия зеленых лягушек (окрестности биостанции Харьковского университета в с.Гайдары и Национальный парк «Гомольшанские леса»)

Генотипы	RR	LR		LLR	LRR	LLRR	LL
Сеголетки	+++	+++		++	+++	+	+
Самки	+++	++		+	++	Вероятно, не доживают до половозрелости	
Самцы	+++	+++		+	++		
Половые клетки самцов	R	L	R	L и R одновременно*	L		
Половые клетки самок**	R	L	R	L и R одновременно	LR	LR	

Количество плюсов показывает обилие различных форм.

* В редких случаях отмечались и гаметы со смешанными (гибридными) геномами.

** Половые клетки самок указаны на основе предположений, так как их изучение — намного более сложная проблема, чем изучение половых клеток самцов; прочие результаты зафиксированы с помощью проточной ДНК-цитометрии и подтверждены комплексом других методов.

в соотношении 2:1, обеспечить ее нормальное развитие и размножение парадоксально! Кстати, данные, полученные в ходе определения возраста лягушек с помощью учета «годовых колец» — линий, образующихся во время зимовки в их трубчатых костях (рис.7), свидетельствуют, что триплоиды, которые дожили до половозрелости, живут не меньше, а растут даже немного быстрее, чем диплоидные гибриды.

Если вас это не удивляет, учтите, что триплоиды «построены» из более крупных клеток. Дело в том, что размер ядра клетки определяется количеством содержащегося в нем генетического материала, а соотношение размеров ядра и цитоплазмы клетки — приблизительно постоянная величина для каждой ткани. В полтора раза больше хромосом — в полтора раза больше объем ядра клетки — в полтора раза больше и масса самой клетки. А вот размеры и масса самих лягушек не увеличиваются! Триплоиды если и обгоняют диплоидов в росте, то ненамного и в весьма «зрелом» возрасте. Есть целый ряд процессов, для которых важны размеры клеток.

Поведение триплоидов, по крайней мере на первый взгляд, ничем особенно не отличается от поведения диплоидов. Однако из всего сказанного вытекает, что функционирование нервной системы триплоидов должно отличаться от нормы. Или клеток в мозгу триплоидов действительно меньше, или они функционируют иначе, чем диплоидные. Так что трем геномам, эволюционировавшим в разных видах, приходится управлять лягушачьим развитием с существенными отличиями по сравнению с нормой. И ничего, справляются!

Еще непривычнее для традиционных представлений существование гибридных особей, которые производят половые клетки, принадлежащие или одному, или другому родительскому виду. Возможно, это следст-

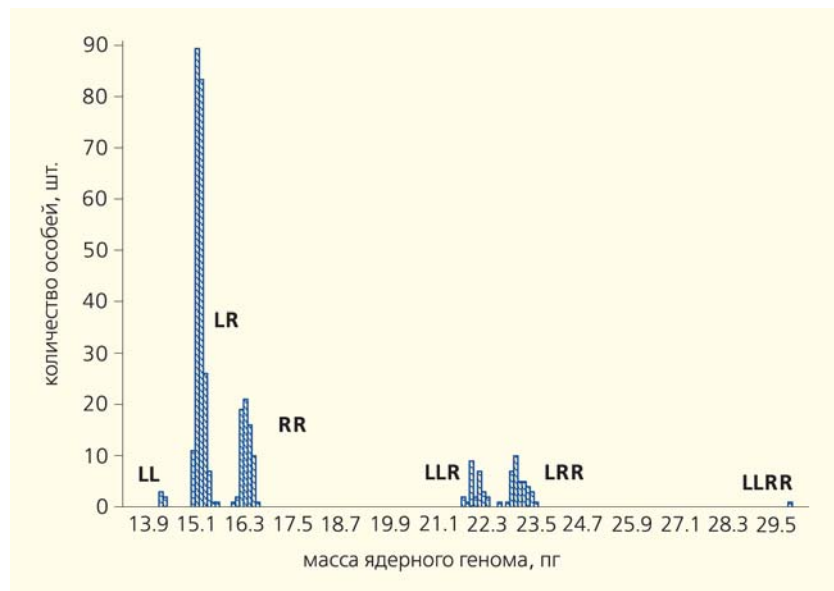


Рис.6. Результаты проточной ДНК-цитометрии, позволяющей определить массу ДНК буквально в каждой клетке. На основании очевидных отличий в массе геномов прудовой (LL) и озерной (RR) лягушек, а также четырех форм их гибридов (LR, LLR, LRR и LLRR) получены, в частности, данные, приведенные в таблице.

вие мозаичности их тканей, борьбы двух геномов, каждый из которых приспособился уничтожать соперника, или какого-то еще механизма. Какой бы ни оказалась причина существования таких особей, в любом случае это — интеллектуальный вызов для современной науки.

Вы думаете, что проблема зеленых лягушек — лишь част-

ность, касающаяся единственной группы животных? Нет. Дело в том, что в этом и подобных случаях проявляют себя принципы работы самых общих механизмов. Одна из таких проблем — проблема мейоза. И вот почему.

Живые организмы, существующие в меняющейся среде, вынуждены сочетать консерватив-



Рис.7. Срез фаланги лягушачьего пальца. Так определяют возраст и динамику роста лягушек.

Фото Е.Е.Усовой

ность своего развития с поиском новаций. Настоящим прорывом в эволюции стало оплодотворение — слияние двух клеток, соединяющих свой эволюционный опыт, записанный в их геномах. Однако новая клетка будет иметь вдвое больший набор наследственной информации! Значит, в жизненных циклах организмов, где есть оплодотворение, должен присутствовать не только митоз (клеточное деление, при котором комплекс наследственной информации передается клеткам-потомкам без изменений), но и мейоз — деление, сокращающее наследственную информацию вдвое (рис.8)! Подавляющее большинство понастоящему сложных организмов на нашей планете использует мейоз в своем жизненном цикле. Мейоз у фораминифер (морских «амеб», раковинки которых образовали залежи мела), яблоны, белого гриба и человека имеет свои особенности, но в основных чертах сходен.

Гемиклональное наследование у гибридных зеленых лягушек — следствие нарушения мейоза. И разнообразие состава гамет, производимых разными гибридами, означает, что нарушен он у них по-разному! Геномы прудовой и озерной лягушек, встречаясь в одной особи, порождают такую неустойчивость мейоза, которая может приводить не к одной его аномалии, а к нескольким. Устойчивость таких ГПС, которые мы изучаем в северско-донецком центре разнообразия зеленых лягушек, связана именно с тем, что в них сосуществуют и воспроизводят себя особи с различными аномалиями мейоза, производящие разные гаметы.

Одна из интересных особенностей северско-донецкого центра разнообразия лягушек состоит в том, что он расположен за пределами ареала прудовой лягушки (см. табл.) [7]. Это означает, что геномы L в этом центре передаются от гибридов к гиб-

ридам в течение длительного времени. Согласно всем канонам популяционной генетики, такие «оторвавшиеся от корней» геномы должны были утратить генетическое разнообразие и попросту дегенерировать. Почему-то этого не происходит. Возможно, в северско-донецком центре важную роль по поддержанию жизнеспособности геномов прудовой лягушки выполняют триплоиды LLR, в чем-то играющие роль особей родительского вида [8]. Впрочем, в других регионах гибриды могут выходить за пределы ареала одного из родительских видов и не образовывать при этом триплоидов. Очередная загадка...

Еще одна необычная особенность гибридных лягушек в том, что их геномы выполняют различные функции. Малая жизнеспособность особей с двумя клональными геномами одного вида свидетельствует, что выживание особи в большей степени определяет рекомбинантный геном. Зато важная задача клонального генома — перейти в половые клетки самому и не пустить туда иной геном. У гибридов первого поколения, получившихся от скрещивания особей родительских видов, производство половых клеток сталкивается с большими проблемами. Многие из гибридов практически бесплодны. Передаются в следующие поколения лишь те клональные геномы, чьи обладатели смогли обеспечить формирование жизнеспособных половых клеток. В результате гибриды, клональные геномы которых прошли через целый ряд поколений, воспроизводятся намного надежнее. Это свидетельство особой формы эволюции геномов — эволюции, в которой происходит накопление приспособлений к клональной передаче.

Петербургские герпетологи Лев Яковлевич Боркин и Илья Сергеевич Даревский около 30 лет назад предположили, что триплоидные гибриды могут играть важную роль в возникновении новых гибридных ви-

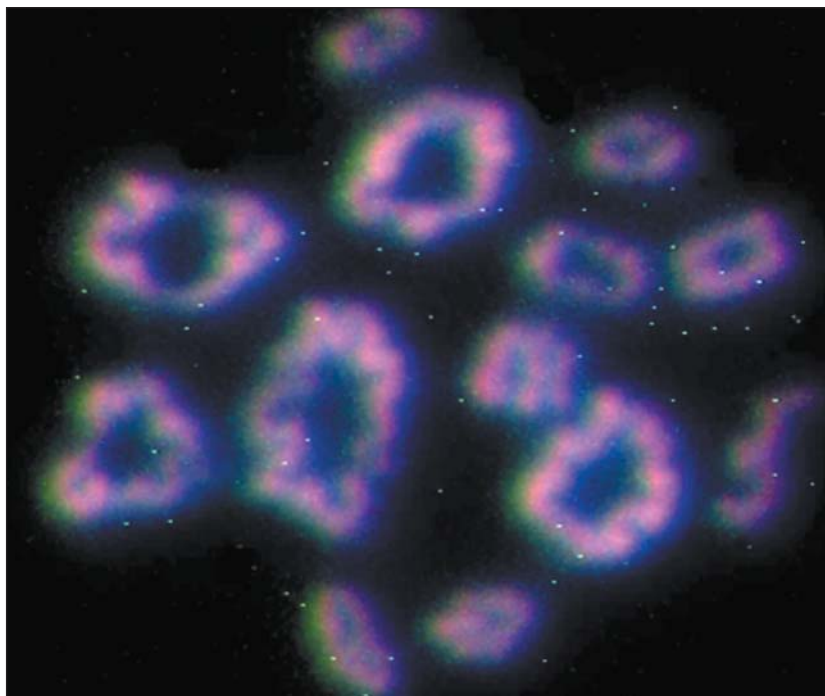


Рис.8. Так выглядят хромосомы, образовавшиеся во время мейоза в клетках семенников лягушек (флуоресцентное окрашивание). Обмен участками в хромосомах произошел, и они отходят друг от друга, но все еще соединены концами.

Фото Н.А.Агафоновой



Рис.9. Самцы триплоидных гибридов.

Фото С.Н.Литвинчука

дов. В общих чертах предложенная ими схема такова: при скрещивании диплоидных видов возникают клонально размножающиеся триплоидные гибриды. В результате размножения триплоидов и их скрещивания с другими формами возникают тетраплоиды, которые переходят к нормальному размножению с рекомбинацией геномов [9]. Может, в северско-донецком центре происходят именно такие процессы? Гемиклональные триплоиды налицо, единичные тетраплоиды — тоже. Но почему-то тетраплоиды не доживают до половозрелости... Эволюция клональных геномов должна привести к какому-то новому качеству? Или тетраплоидам для их развития нужны иные условия, чем лягушкам с меньшим количеством хромосомных наборов?

Еще один «пласт» эволюционных изменений зеленых лягушек связан с нарушением клональной передачи геномов у гибридов. Иногда в клональные геномы попадают фрагменты из рекомбинантных геномов другого вида и наоборот. Передаваясь от гибрида к гибриду в составе ГПС, такой частично рекомбинированный клональный геном может попасть к озерной лягушке. Так происходит перенос наследственной информации через видовые барьеры!

Такой перенос не ограничивается только ядерной ДНК, но затрагивает и митохондриальную (мтДНК). Как известно, она находится не в клеточном ядре, а в митохондриях и наследуется иначе — исключительно по материнской линии, с цитоплазмой яйцеклеток. Оказалось, что у большинства озерных лягушек в Западной Европе вообще нет собственной мтДНК [10]. Она у них полностью замещена на мтДНК прудовой лягушки, полученной от гибридов. И дело не только в том, что митохондрии прудовой лягушки оказались «лучше» митохондрий озерной. Чтобы их получить, западноевропейские озерные лягушки должны были иметь довольно странную генеалогию. Представьте себе: у каждой озерной лягушки одна из «бабушек» по материнской линии должна была быть прудовой лягушкой — представителем другого вида. А ядерные гены у нее только своего вида. Значит, эта «бабушка» из прудовых лягушек скрестилась с самцом озерной. В результате должен был появиться гибрид с митохондриями и материнским геномом прудовой лягушки и отцовским геномом — озерной. Пол у лягушек наследуется примерно так же, как у людей: у самок два женских генома, а у самцов — один женский, второй — мужской.

Значит «дочери» той самой «бабушки» прудовой лягушки должны были передать потомству женский геном озерной лягушки и скреститься с самцом озерной лягушки. Самки, получившиеся от такого скрещивания, были предками по материнской линии всех озерных лягушек Западной Европы.

Что же в «сухом остатке»? Группа животных с нетипично работающим наследственным аппаратом, который эволюционирует необычным способом. Эта группа образует не популяции, а особые биосистемы, ГПС, развивающиеся по своим законам. В пределах этой группы наследственная информация преодолевает видовые барьеры, и, весьма возможно, на наших глазах рождается новый тетраплоидный вид.

Как и зачем все это изучать?

Узлы такой сложности невозможно распутать с помощью какого-то одного инструмента. Простую деталь можно изобразить на чертеже с одной точки зрения, сложная требует нескольких проекций и сечений. Способ эволюции зеленых лягушек можно понять, лишь объединив усилия специалистов разных отраслей. Вот неполный пе-

речень методов, которые использовали мы с коллегами* для описания процессов, происходящих с зелеными лягушками: полевые сборы и учеты, описание динамики роста по срезам кости, сравнение формы тела и особенностей развития, математическое моделирование размножения разных форм лягушек в ГПС, определение форм лягушек по размеру их генома, изучение белковых маркеров, сравнение последовательностей ядерных и мтДНК, определение характерных особенностей хромосом (иммунофлюоресцентное окрашивание, анализ «ламповых щеток») и многое другое. В ходе работы приходилось сравнивать лягушек разных форм, из различных типов местообитаний, ГПС и регионов. Естественно, для понимания того, что же происходит у лягу-

* Мы искренне благодарны Л.Я.Боркину, Г.А.Ладе, Ю.М.Розанову, М.В.Владимировой, Д.В.Дедуху, А.И.Зиненко, В.В.Клименко, А.В.Коршунову, М.А.Кравченко, Г.А.Мазепе, Е.Е.Усовой, С.Ю.Морозову-Леонову, Й.Плетнеру и многим другим коллегам за помощь и поддержку при проведении наших исследований.

шек, важны результаты изучения других групп животных, у которых зарегистрированы подобные феномены: рыб, зеленых жаб, хвостатых земноводных, ящериц.

Для решения столь сложной проблемы не хватит сил ни одного автора, ни одного научного коллектива. Проблемы, подобные той, что мы рассматриваем, как раз и способны объединять научное сообщество, связывая ученых из разных стран.

А зачем изучать зеленых лягушек? Главный для авторов этой статьи ответ — потому, что это очень интересно. Любопытство, недоверие, исследовательский азарт, которые вызывают описанные в этой статье особенности лягушек, принадлежат к числу самых естественных двигателей науки. Но дело не только в интересе. Загадывать, какие «бонусы» можно будет получить от исследования той или иной проблемы — дело неблагодарное, но некоторые попытки мы все же сделаем.

Гемиклональное наследование — способ ускорения эволюции; изучение механизмов ге-

миклональности откроет новые возможности для селекции.

При гемиклональном наследовании все потомство от скрещивания двух особей (каждая из которых передает клональный геном) может быть генетически идентично. Возможность получения таких животных будет полезна для биотехнологии и сельского хозяйства.

Овладение механизмами, которые обеспечивают сохранение во многих поколениях жизнеспособности гибридов из районов, где невозможно скрещивание родительских видов, поможет поддерживать жизнеспособность пород и чистых линий сельскохозяйственных организмов.

При гемиклональном наследовании какой-то механизм вызывает избирательную элиминацию определенного генома. Понимание этого механизма может быть интересно для генной медицины уже сейчас: он позволит при необходимости выключать нежелательные гены.

А чем глубже мы поймем способ эволюции лягушек, тем интереснее будет — вот увидите! ■

Работа выполнена при совместной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-01184) и Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (проект 09-04-90475).

Литература

1. Berger L. // Acta Zoologica Cracoviensia. 1967. №12. P.123—160.
2. Tunner H.G. // Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung. 1974. №12. P.309—314.
3. Borkin L.J., Korsbunov A.V., Lada G.A. et al. // Russian J. of Herpetol. 2004. V.11. №3. P.194—213.
4. Боркин Л.Я., Зиненко А.И., Коршунов А.В. и др. Массовая полиплоидия в гибридогенном комплексе *Rana esculenta* (Ranidae, Anura, Amphibia) на востоке Украины // Материалы 1-й конференции Украинского герпетологического общества. Киев, 2005. С.23—26.
5. Шабанов Д.А., Зиненко А.И., Коршунов А.В. и др. // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Сер. біол. 2006. Вип.3. №729. С.208—220.
6. Borkin L.J., Lada G.A., Litvinchuk S.N. et al. // Russian J. of Herpetol. 2006. V.13. №1. P.77—82.
7. Шабанов Д.А., Коршунов О.В., Кравченко М.О. // Біологія та валеологія. Вип.11. Харків, 2009. С.125—164.
8. Plötner J. Die Westpaläarktischen Wasserfrösche. Bielefeld, 2005.
9. Боркин Л.Я., Даревский И.С. // Журнал общей биологии. 1980. Т.41. №4. С.485—506.
10. Plötner J., Uzzell T., Beerli P. et al. // J. of Evol. Biol. 2008. V.21. №3. P.668—681.