

Морфогенетическая структура популяций озёрной лягушки *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) в условиях городской среды

© 2019. Э. А. Снегин, д. б. н., директор центра геномной селекции,
А. С. Бархатов, аспирант,
Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85,
e-mail: snegin@bsu.edu.ru, barkhatov@bsu.edu.ru

На основе морфометрических, фенетических и молекулярно-генетических методов изучена популяционная структура озёрной лягушки (*Pelophylax ridibundus*), обитающей в условиях урбанизированной среды г. Белгорода и его окрестностей (Россия). Полученные результаты подтвердили ранее высказанные предположения, согласно которым в условиях антропогенной нагрузки доминирует цветовая морфа «striata» (доля особей на импактных территориях составила от 70 до 93%). В относительно чистых биотопах преобладала морфа «maculata» (58–67%). По морфометрическим признакам был выявлен высокий уровень дифференциации популяций. По большинству морфометрических индексов дисперсионный анализ показал достоверные различия между группами ($p < 0,05$), что, вероятно, является следствием неоднородности городской среды, особенно по степени загрязнения и кормообеспеченности. При этом индекс генетической дифференциации F_{st} по аллозимным локусам составил в среднем 0,264, а уровень потока генов между популяциями (Nm) колебался от 0,107 до 32 особей за поколение. Это свидетельствует о явной панмиксии среди популяций *P. ridibundus* в районе исследования. В ряде случаев отмечены неспецифические аллозимные локусы, указывающие на гибридное происхождение особей (гибриды между *P. ridibundus* и *P. lessonae*). Высокие показатели генетического разнообразия ($H_e = 0,394 \pm 0,061$, $I = 0,629 \pm 0,100$) и низкие значения инбридинга в популяциях ($I_F = -0,112 \pm 0,075$) свидетельствуют о повышенной жизнеспособности исследуемых групп амфибий в районе исследования, что является следствием адаптаций популяций *P. ridibundus* к обитанию в городских условиях.

Ключевые слова: озёрная лягушка, популяция, урбанизированная среда.

Morphogenetic structure of marsh frog populations of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) under conditions of urban environment

© 2019. E. A. Snegin ORCID: 0000-0002-7574-6910
A. S. Barkhatov ORCID: 0000-0001-9996-7251,
Belgorod National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, Russia, 308015,
e-mail: snegin@bsu.edu.ru, barkhatov@bsu.edu.ru

On the basis of morphometric, phenetic and molecular genetic methods, the population structure of the *Pelophylax ridibundus* inhabiting the urbanized environment of Belgorod and its environs (Russia) was studied. The obtained results confirmed the previously stated assumptions, according to which under the conditions of anthropogenic load the color morph “striata” dominates (the proportion of individuals on impact territories was 70 to 93%). In relatively pure biotopes, the color morph “maculate” prevailed (58–67%). The morphometric characteristics revealed a significant differentiation of populations, caused by heterogeneity in the urban environment. For most morphometric indices, ANOVA showed significant differences between groups ($p < 0.05$), which is probably a consequence of the heterogeneity of the urban environment, especially in terms of contamination and food supply. But the index of genetic differentiation (F_{st}) at allozyme loci averaged 0.264, and the level of gene flow between populations (Nm) ranged from 0.107 to 32 individuals per generation. This indicates an obvious panmixia among the populations of *P. ridibundus* in the study area. Occasionally nonspecific allozyme loci were noted, indicating the hybrid origin of the individuals (hybrids between *P. ridibundus* and *P. lessonae*). The high of genetic diversity indices ($H_e = 0.394 \pm 0.061$, $I = 0.629 \pm 0.100$) and the low inbreeding values in populations ($I_F = -0.112 \pm 0.075$) indicate an increased viability of the amphibian groups studied in the study area, which is a consequence of the adaptations of populations of *P. ridibundus* to inhabitation in urban conditions.

Keywords: marsh frog, population, urban environment.

Известно, что антропогенное влияние на окружающую среду вызывает самые разнообразные реакции у животных. При этом наиболее сильно от воздействия человека страдают представители гидросферы, как наиболее мобильной части биосферы. Сельскохозяйственные и бытовые стоки, а также отходы промышленных производств, поступающих в водоёмы, приводят к глубоким изменениям условий обитания отдельных животных и биоты в целом.

Земноводные являются важным компонентом экосистем. Они являются ключевыми звеньями пищевых цепей, регулируют численность насекомых и других беспозвоночных, а также являются промежуточными хозяевами различных паразитов. Кроме того, амфибии очень чувствительны к изменениям факторов среды, что делает их удобными биоиндикаторами [1–4].

Для более объективной оценки ответной реакции популяции на изменения в окружающей среде (ОС), рекомендуется использование комплекса признаков, который включает в себя экологические и морфогенетические показатели, чувствительные к изменению ОС.

Цель данной работы заключалась в анализе морфогенетической структуры популяции озёрной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771) для оценки её уровня жизнеспособности в условиях урбанизированного ландшафта г. Белгорода и его окрестностей.

Материалы и методы исследования

Сбор животных проводили в летний полевой сезон 2016 г. Всего было исследовано 78 особей из 6 пунктов (рис. 1). Пункты отличались по градиенту антропогенного пресса, в частности по степени загрязнения воды органическими отходами: 1) «Северский Донец», центральный пляж города Белгорода, р. Северский Донец, наблюдается сильное загрязнение воды бытовыми отходами (50°35'34,5"N, 36°36'35,6"E); 2) «Разумная-1», Белгородский район, пос. Разумное, р. Разумная, местность болотистая, местами отмечаются элементы органического загрязнения стоками, расположенного вблизи свинокомплекса (50°32'48,8"N, 36°41'26,6"E); 3) «Разумная-2» – Белгородский район, р. Разумная, сильное загрязнение воды твёрдыми бытовыми отходами. Вода имеет характерный неприятный запах (50°31'48,0"N, 36°38'59,5"E); 4) «Севрюково», Белгородский район, окрестность с. Севрюково, р. Разумная, чистый биотоп, те-

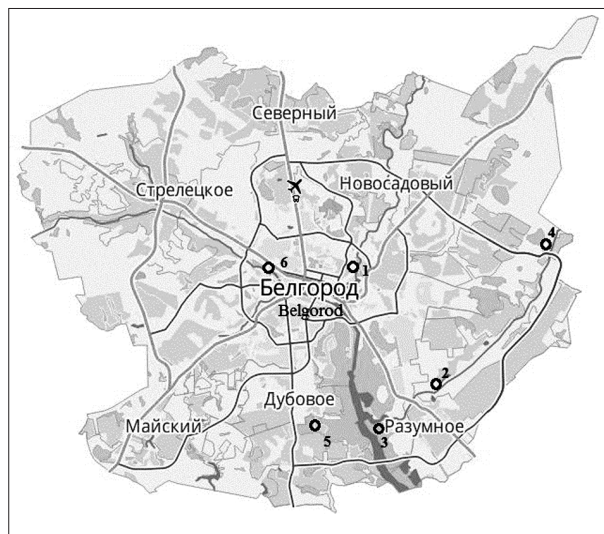


Рис. 1. Пункты сбора *Pelophylax ridibundus* (описание даётся в таблице 1)
 Fig. 1. Points of collection of *Pelophylax ridibundus* (the description is given in Table 1)

чение быстрое, вода прозрачная (50°36'55,3"N, 36°46'24,9"E); 5) «Дубовое», Белгородский район, пос. Дубовое, лесопарковая зона отдыха, чистый биотоп, на территории расположена церковная купель с прозрачной родниковой водой (50°32'00,3"N, 36°34'59,8"E); 6) «Везёлка», г. Белгород, р. Везёлка, течение среднее, вода сильно загрязнена, на месте сбора были встречены трупы рыб и уток (50°35'52,8"N, 36°33'37,1"E).

Для оценки окраски и рисунка тела животных фотографировали. У озёрной лягушки известны две цветовой морфы «striata» с дорсомедиальной полосой и «maculata» – без полосы (рис. 2).

Далее осуществляли морфометрический анализ, где каждое животное измеряли по общепринятой для бесхвостых земноводных схеме [5]: L. – расстояние от кончика морды до центра клоакального отверстия, Lt. с. – максимальная ширина головы у основания нижних челюстей, F. – длина бедра от клоакального отверстия до наружного края сочленения, T. – длина голени, D. p. – длина первого пальца задней ноги от дистального основания внутреннего пяточного бугра до конца пальца, C. int. – наибольшая длина внутреннего пяточного бугра в его основании. Кроме того, у животного определяли вес тела (m_b) и внутренних органов: сердца (m_c), почек (m_n) печени (m_l). Далее вычисляли отношения этих показателей (индексы), которые являются хорошими морфофизиологическими индикаторами, позволяющими судить о состоянии как

Результаты и обсуждение

отдельно взятых организмов, так и популяции в целом [6].

Анализ генетической структуры популяций проводили с использованием локусов неспецифических эстераз. Ферменты экстрагировали из мышечной ткани путём заморозки и механическим измельчением тefлоновым гомогенизатором в 40% растворе сахарозы.

Электрофорез осуществляли в камере VE-20 (Helicon, Россия) в вертикальных пластинках 10% полиакриламидного геля (ПААГ) [7]. В качестве электродного буфера использовали трис-глициновый буфер (рН 8,3).

Продолжительность электрофореза составляла 3–4 ч при напряжении 200 В и температуре +4 °С. Для окрашивания на неспецифические эстеразы гель выдерживали в растворе борной кислоты в течение 15 мин, затем в растворе 0,1 М буфера Tris-HCl рН 7,8 с добавлением α-нафтилацетата и красителя прочного красного (Fast Red TR). Полученные результаты обрабатывали стандартными методами вариационной статистики [8], при этом рассчитывали среднюю арифметическую величину метрических показателей (M) и её ошибку (m), осуществляли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и кластерный анализ выборок. Статистическую обработку проводили при помощи программ MS Excel, и Staistica 6.0. Для анализа генетических данных использовали программу GenAlEx [9].

У *P. ridibundus* нами были диагностированы два локуса неспецифических эстераз *EST1* и *EST2* с тремя аллелями каждый, наследуемых по кодоминантному типу (рис. 3). Границы локусов определяли путём сопоставления эмпирических частот полученных комбинаций с теоретически ожидаемыми частотами, рассчитанными по закону Харди-Вайнберга.

При этом у ряда особей были выявлены лёгкие фракции эстераз, отсутствующие у большинства изученных лягушек. Примечательно, что по некоторым таксономическим признакам этих особей нельзя было отнести не к *P. ridibundus*, не к родственному виду *Pelophylax lessonae* Cramerano, 1882 (прудовая лягушка), также обитающего в районе исследования. Вероятно, данные особи являются межвидовыми гибридами, которые традиционно присутствуют в местах контакта популяций этих двух видов. В анализе их не учитывали. Возможно, что по наличию указанных лёгких фракций эстераз в будущем можно будет диагностировать случаи гибридизации между указанными видами.

На первом этапе исследований нами был осуществлён анализ частот встречаемости в популяциях озёрной лягушки цветочных вариантов, обозначаемых как морфа «striata» и «maculata»: 1) N = 15, «striata»/ «maculata» типе 86,6%/13,4%; 2) N = 15, 80%/20%; 3) N = 14, 92,8%/7,2%; 4) N = 12, 41,6%/58,4%; 5) N = 5, 33,3%/66,7%; 6) N = 10; 70%/30%.

Наибольшее число особей, имеющих дорсомедиальную полосу и обозначаемых как морфа «striata», отмечено в пунктах «Разумная-2», «Северский Донец» и «Разумная-1». Из литературных источников известно, что морфа «striata» доминирует в популяциях озёрной лягушки, обитающих в более загрязнённых биотопах урбанизированных территорий [10, 11], к категории которых, вероятно, относятся указанные пункты. Максимальное количество особей, у которых дорсомедиальная полоса отсутствует (морфа «maculata») отмечено в более чистых районах «Северюково» и «Дубовое».

Результаты морфометрического анализа приведены в таблице 1. Ввиду того, что для морфометрического анализа использовались половозрелые, но разновозрастные особи, мы сочли необходимым провести сравнение популяций не по абсолютным показателям, а по вычисленным индексам тела. Результаты однофакторного дисперсионного анализа выявили достоверное отличие изученных популяций по следующим пропорциям (табл. 2): L./Lt.c., L./F., L./T., L./D.p., L./C.int., F./T, что свидетельствует о морфологической дифференциации изученных популяций по указанным признакам, вызванной, вероятно, неоднородностью городской среды.

Известно, что достоверные отличия по индексам внутренних органов, по которым можно оценить физиологическое состояние организма земноводных, позволяют косвенно судить о степени загрязнённости биотопов и кормообеспеченности [6]. Так, по индексу печени (m_l/m_b) выделяется группа «Северский Донец», что свидетельствует о её хорошей кормовой базе, так как запасные питательные вещества депонируются у лягушек в этом органе. По индексу сердца (m_c/m_b) наименьшие показатели отмечены в пункте «Везёлка», что говорит о пониженном уровне метаболизма в данной группе. По индексу почек (m_n/m_b), который также свидетельствует об уровне метаболизма, достоверных отличий между группами не отмечено.

Таблица 1 / Table 1

Индексы метрических показателей и внутренних органов *P. ridibundus* (M±m)*
Indices of metric indices and internal organs *P. ridibundus* (M ± m)*

Признак/ Sign	Пункты / Points					
	«Северский Донец» “Seversky Donets”	«Разумная-1» “Razumnaya-1”	«Разумная-2» “Razumnaya-2”	«Дубовое» “Dubovoe”	«Севрюково» “Sevryukovo”	«Везёлка» “Vezelka”
L./Lt.c.	2,87±0,23	3,25±0,63	3,17±0,41	3,11±0,2	2,99±0,26	2,52±0,66
L./F.	2,1±0,36	2,23±0,22	2,32±0,28	2,24±0,21	2,23±0,17	1,86±0,61
L./T.	2,01±0,34	2,07±0,28	1,91±0,21	2,02±0,18	1,89±0,13	1,67±0,46
L./D.p.	7,34±2,05	7,85±1,79	8,06±1,51	8,45±1,69	7,25±1,27	5,95±1,69
L./C.int.	21,47±3,14	21,61±3,32	20,89±3,31	21,64±2,93	20,04±2,8	21,12±3,10
F./T.	0,96±0,14	0,94±0,15	0,83±0,06	0,91±0,05	0,85±0,06	0,92±0,11
T./C.int	10,97±2,33	10,59±2,11	11,03±2,04	10,71±1,43	10,65±2,0	10,80±1,98
D.p./C.int	3,12±0,94	2,88±0,79	2,65±0,52	2,65±0,6	2,87±0,79	2,81±0,71
m _l /m _b	0,040±0,002	0,025±3·10 ⁻⁴	0,021±3·10 ⁻⁴	0,022±0,003	0,023±0,004	0,017±0,001
m _c /m _b	0,004±2·10 ⁻⁴	0,004±3·10 ⁻⁴	0,004±3·10 ⁻⁴	0,004±2·10 ⁻⁴	0,004±3·10 ⁻⁴	0,003±2·10 ⁻⁴
m _n /m _b	0,004±3·10 ⁻⁴	0,004±4·10 ⁻⁴	0,004±6·10 ⁻⁴	0,003±2·10 ⁻⁴	0,003±2·10 ⁻⁴	0,004±3·10 ⁻⁴

Примечание: M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего.
Note: M is the average value; m is the standard error of the average.

Таблица 2 / Table 2

Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)
морфометрических индексов *P. ridibundus* / The results of a single-factor analysis
of variance (ANOVA) of morphometric indices of *P. ridibundus*

Индекс / Index	L./ Lt.c.*	L./ F.*	L./ T.*	L./ D.p.*	L./ C.int.	F./ T.*	T./ C.int	D.p./ C.int	m _l /m _b *	m _c /m _b *	m _n /m _b
F	4,21	2,68	2,84	2,87	0,59	3,08	0,13	0,92	5,92	18,9	0,35
P	0,002	0,028	0,021	0,02	0,67	0,014	0,97	0,45	0,0001	6,65×10 ⁻¹²	0,88

Примечание: F – фактические значения критерия Фишера, P – вероятность критерия Фишера, * p < 0,05.
Note: F is the value of the Fisher criterion, P is the probability of the Fisher test, * p < 0.05.

Полученные данные по локусам эстраз демонстрируют повышенное генетическое разнообразие в популяциях озёрной лягушки, обитающих в относительно чистых биотопах (пункты «Дубовое» и «Севрюково») (табл. 3, 4). В остальных группах отмечается тенден-

ция к снижению аллельного разнообразия и переход ряда локусов в мономорфное (гомозиготное) состояние (например, пункты 1 и 2). А это, в свою очередь, может снизить жизнеспособность этих групп, так как определённый уровень генетической изменчивости, будучи

Таблица 3 / Table 3

Частоты аллелей в популяциях *P. ridibundus* / The frequencies of alleles in populations of *P. ridibundus*

Номер пункта / Number of point	1		2		3		4		5		6		
	EST1	EST2	EST1	EST2	EST1	EST2	EST1	EST2	EST1	EST2	EST1	EST2	
Аллели Allele	1	0,429	1	0,133	0	0,214	0,143	0,25	0,417	0,083	0,542	0,25	0,5
	2	0,571	0	0,767	1	0,607	0,857	0,542	0,542	0,667	0,375	0,75	0,5
	3	0	0	0,1	0	0,179	0	0,208	0,042	0,25	0,083	0	0

Таблица 4 / Table 4

Показатели генетического разнообразия популяций *P. ridibundus*
Indicators of the genetic diversity of populations of *P. ridibundus*

Пункты / Point	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>I</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>I_F</i>
1. «Северский Донец» / “Seversky Donets”	14	1,5	1,480	0,341	0,286	0,245	-0,167
2. «Разумная-1» / “Razumnaya-1”	15	2,0	1,312	0,351	0,167	0,192	0,133
3. «Разумная-2» / “Razumnaya-2”	14	2,5	1,782	0,675	0,321	0,399	0,094
4. «Севрюково» / “Sevryukovo”	12	3,0	2,319	0,917	0,750	0,566	-0,330
5. «Дубовое» / “Dubovoe”	12	3,0	2,107	0,865	0,625	0,523	-0,207
6. «Везёлка» / “Vezelka”	10	2,0	1,800	0,628	0,550	0,438	-0,200
Среднее / The average		2,33 ±0,25	1,80 ±0,15	0,629 ±0,100	0,450 ±0,092	0,394 ±0,061	-0,112 ±0,075

Примечание: *N* – число особей в выборке; *N_a* – среднее число аллелей; *N_e* – эффективное число аллелей; *I* – индекс Шеннона; *H_o* – наблюдаемая гетерозиготность; *H_e* – ожидаемая гетерозиготность; *I_F* – индекс фиксации (коэффициент инбридинга).

Note: *N* – the number of individuals in the sample; *N_a* – the average number of alleles; *N_e* – the effective number of alleles; *I* – the Shannon index; *H_o* – observed heterozygosity; *H_e* – the expected heterozygosity; *I_F* – fixation index (coefficient of inbreeding).

Таблица 5 / Table 5

Результаты анализа молекулярной дисперсии для популяций *P. ridibundus*
The results of the analysis of molecular dispersion for the populations of *P. ridibundus*

Источник изменчивости / Source of variation	df	SS	MS	Est. Var.	%	<i>F_{st}</i>	<i>F_{is}</i>	<i>F_{it}</i>
Между популяциями / Among Population	5	19,9	3,98	0,142	25	0,264	-0,085	0,202
Между особями / Among Individuals	77	33,0	0,42	0,429	75			
Общая / Total	82	52,9		0,570	100			

Примечание: *F_{it}* – коэффициент инбридинга особи относительно большой популяции ($p = 0,004$), *F_{is}* – коэффициент инбридинга особи относительно субпопуляции ($p = 0,870$), *F_{st}* – коэффициент инбридинга субпопуляции относительно большой популяции ($p = 0,001$).

Note: *F_{it}* – the inbreeding coefficient of a relatively large population ($p = 0.004$), *F_{is}* – the inbreeding coefficient of the individual relative to the subpopulation ($p = 0.870$), *F_{st}* – the inbreeding coefficient of the subpopulation relative to the large population ($p = 0.001$).

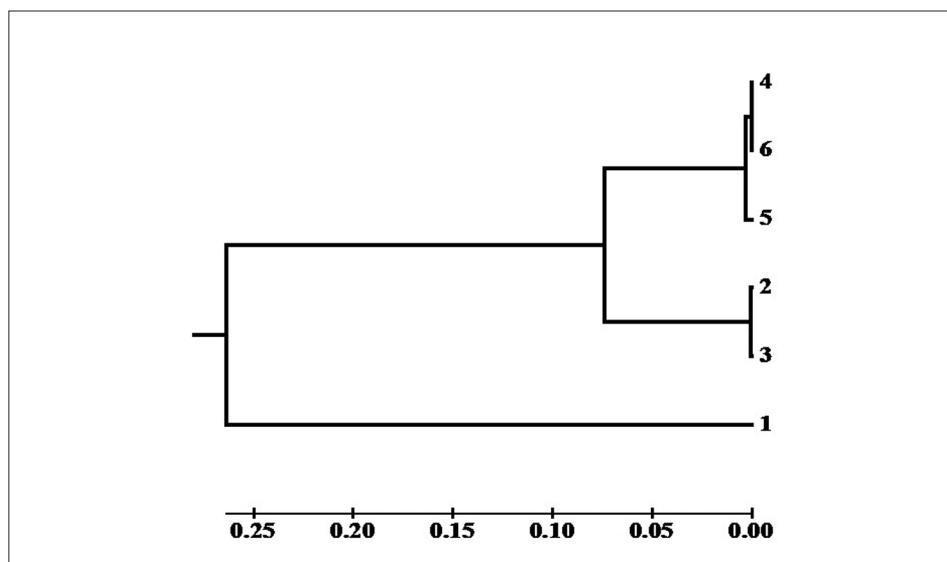


Рис. 4. Дендрограмма генетических расстояний, построенная методом UPGMA, между популяциями *P. ridibundus* по локусам изоферментов

Fig. 4. Dendrogram of genetic distances by Nei, constructed by UPGMA, between populations of *P. ridibundus* at loci of isoenzymes

«мобилизационным резервом», обеспечивает устойчивость популяции как системы [12]. Экспериментально доказано, например, что увеличение гомозиготности в популяциях некоторых видов на 10% приводит к снижению их репродуктивной способности не менее, чем на 25% [13]. Тем не менее, низкие значения коэффициента инбридинга, отмеченные во всех изученных популяциях *P. ridibundus* свидетельствуют о стабильном состоянии их генофондов.

Анализ молекулярной дисперсии (табл. 5) показал, что в изученных группах преобладает внутривидовая генетическая дифференциация над межвидовой. При этом в среднем индекс дифференциации *Fst* составил 0,264, а уровень потока генов между популяциями (*Nm*) колебался от 0,107 до 32 особей за поколение. Согласно «теории эволюции со смещающимся равновесием» [14], для поддержания панмиксии в метапопуляции требуется поток генов 1–2 особи за поколение. Полученные значения *Nm* свидетельствуют о том, что, несмотря на условия урбанизации, способствующей изоляции колоний, большинство исследуемых групп *P. ridibundus* являются, вероятно, членами одной панмиктической популяции. Большую генетическую близость между большинством изучаемых групп лягушек подтвердил кластерный анализ выборок на основе вычисленных генетических дистанций по Ней методом ближайшего связывания (UPGMA) (рис. 4). Только группа «Северский Донец» (№ 1) дистанцировалась от остальных групп.

Заключение

Таким образом, анализ популяционной структуры *P. ridibundus* в районе исследования продемонстрировал определённые тренды морфогенетической составляющей в зависимости от степени загрязнения биотопов и кормообеспеченности. Тем не менее, относительно высокие значения генетической изменчивости, низкие показатели инбридинга и высокая доля панмиксии указывают на сбалансированное состояние генофонда и повышенный уровень жизнеспособности анализируемых групп озёрной лягушки в районе исследования. Данный факт, вероятно, свидетельствует о микроэволюционных процессах, протекающих в популяциях изучаемого вида, направленных на их адаптацию к условиям урбанизированной среды. Вместе с тем, стоит отметить, что продолжающееся загрязнение

водоёмов региона может превысить диапазон толерантности озёрной лягушки, следствием чего может быть сокращение численности или полное исчезновение этого ключевого вида в водных и прибрежных биоценозах.

Литература

1. Krizmanić I.I., Ivanović A.T. Population systems of the *Pelophylax esculentus* complex in the southern part of its range // *Folia Zoologica*. 2010. V. 59. No. 3. P. 215–222.
2. Zhelev Zh.M., Arnaudov A.D., Boyadzhiev P.S. Colour polymorphism, sex ratio and age structure in the populations of *Pelophylax ridibundus* and *Pseudepidalea viridis* (Amphibia: Anura) from anthropogenically polluted biotopes in southern Bulgaria and their usage as bioindicators // *Trakia Journal of Sciences*. 2014. No. 1. P. 1–12.
3. Quilodr C.S., Montoya-Burgos J.I., Currat M. Modelling interspecific hybridization with genome exclusion to identify conservation actions: the case of native and invasive *Pelophylax* waterfrogs // *Evolutionary Applications*. 2015. No. 8. P. 199–210.
4. Леонтьева О.А., Семенов Д.В. Земноводные как биоиндикаторы антропогенных изменений среды // *Успехи современной биологии*. 1997. Т. 117. № 6. С. 726–737.
5. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия лягушки: практическое пособие для биологических, медицинских с сельскохозяйственных специальностей вузов. М.: Высшая школа, 1994. 320 с.
6. Шварц С.С., Смирнов В.С., Добринский Л.Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // *Труды Института экологии растений и животных АН СССР*. Вып. 58. Свердловск: 1968. 386 с.
7. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование: Практическое пособие. М.: Наука, 1981. 288 с.
8. Плохинский Н.А. Биометрия: Учеб. Пособие. М.: Изд-во МГУ, 1970. 367 с.
9. Peakall R., Smouse P.E., GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. 2001. [Электронный ресурс] <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx> (Дата обращения: 11.05.2016).
10. Вершинин В.Л. Морфа *striata* у представителей рода *Rana* (Amphibia, Anura) – причины адаптивности к изменениям // *Журнал общей биологии*. 2008. Т. 69. № 1. С. 65–71.
11. Zhelev Zh.M., Arnaudov A.D., Boyadzhiev P.S. Ecological status of the Szazliyka River and its tributaries (Blatnitsa and Sokolitsa) as indicated by the color polymorphism and sexual composition of the populations *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) // *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2015. V. 21. No. 6. P. 1148–1156.

12. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. М.: Наука, 1968. 451 с.

13. Frankel O.H., Soule M.E. Conservation and Evolution. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.

14. Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution // Mathematical Topics in Population Genetics. Berlin: Springer Verlag, 1970. P. 1–31.

References

1. Krizmanić I.I., Ivanović A.T. Population systems of the *Pelophylax esculentus* complex in the southern part of its range // Folia Zoologica. 2010. V. 59. No. 3. P. 215–222. <https://doi.org/10.25225/fozo.v59.i3.a7.2010>.

2. Zhelev Zh.M., Arnaudov A.D., Boyadzhiev P.S. Colour polymorphism, sex ratio and age structure in the populations of *Pelophylax ridibundus* and *Pseudepipalea viridis* (Amphibia: Anura) from anthropogenically polluted biotopes in southern Bulgaria and their usage as bioindicators // Trakia Journal of Sciences. 2014. No. 1. P. 1–12.

3. Quilodr C.S., Montoya-Burgos J.I., Currat M. Modelling interspecific hybridization with genome exclusion to identify conservation actions: the case of native and invasive *Pelophylax* waterfrogs // Evolutionary Applications. 2015. No. 8. P. 199–210. doi: 10.1111/eva.12245.

4. Leonteva O.A., Semenov D.V. Amphibians as bioindicators of anthropogenic changes in the environment // Uspekhi sovremennoy biologii. 1997. V. 117. No. 6. P. 726–737 (in Russian).

5. Nozdrachev A.D., Polyakov E.L. Anatomy of the frog: a practical guide for biological, medical and agricultural specialties of universities. Moskva: Vysshaya shkola. 1994. 320 p. (in Russian).

6. Shvarts S.S., Smirnov V.S., Dobrinsky L.N. The method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates // The Proceedings of the Institute of Plant and Animal Ecology, USSR Academy of Sciences. Iss. 58. Sverdlovsk: 1968. 386 p. (in Russian).

7. Osterman L.A. Methods of studying proteins and nucleic acids: Electrophoresis and ultracentrifugation: A practical guide. Moskva: Nauka, 1981. 288 p. (in Russian).

8. Plohinsky N.A. Biometrics: Proc. Manual. Moskva: Izdatelstvo MGU, 1970. 367 p. (in Russian).

9. Peakall R., Smouse P.E., GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. 2001 [Internet resource] <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx> (Accessed: 11.05.2016).

10. Vershinin V.L. Morpha striata in representatives of the genus Rana (Amphibia, Anura) – the reasons for adaptability to environmental changes // Zhurnal obshchey biologii. 2008. V. 69. No. 1. P. 65–71 (in Russian).

11. Zhelev Zh. M., Arnaudov A.D., Boyadzhiev P.S. Ecological status of the Sazliyka River and its tributaries (Blatnitsa and Sokolitsa) as indicated by the color polymorphism and sexual composition of the populations *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2015. V. 21. No. 6. P. 1148–1156.

12. Shmalhausen I.I. Factors of evolution. The theory of stabilizing selection. Moskva: Nauka, 1968. 451 p. (in Russian).

13. Frankel O.H., Soule M.E. Conservation and evolution. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.

14. Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution // Mathematical Topics in Population Genetics. Berlin: Springer Verlag, 1970. P. 1–31.

Э. А. СНЕГИН, А. С. БАРХАТОВ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ
ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* (AMPHIBIA, ANURA)
В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ, С. 47

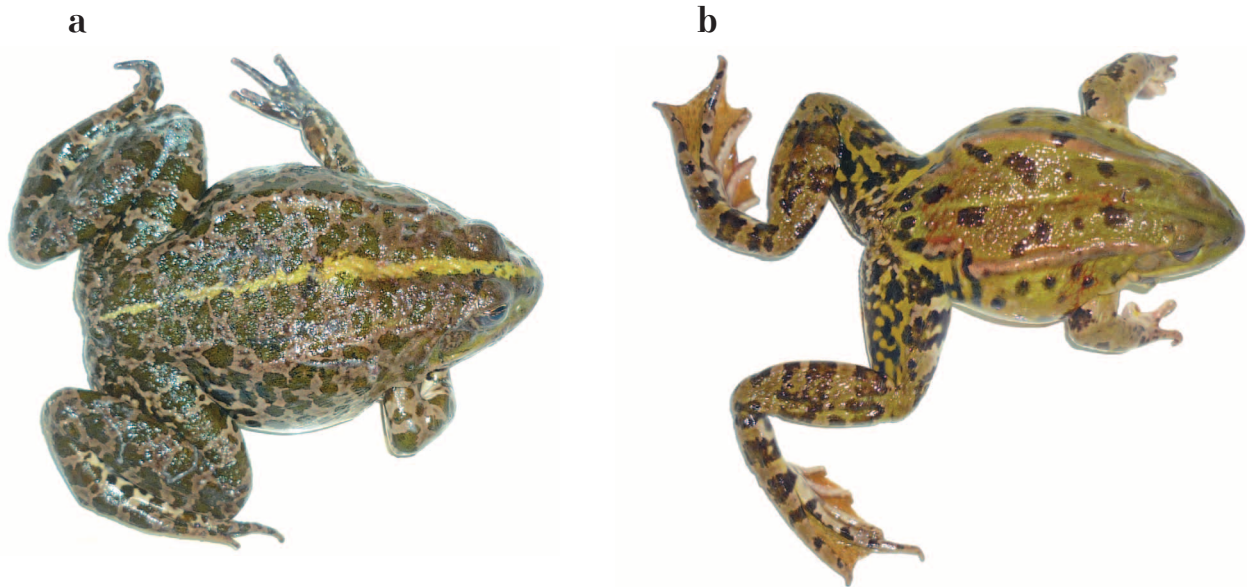


Рис. 2. Морфы *Pelophylax ridibundus*: а – морфа «striata»; б – морфа «maculata»
Fig. 2. Morphs of *Pelophylax ridibundus*: а – morpha “striata”; б – morpha “maculata”

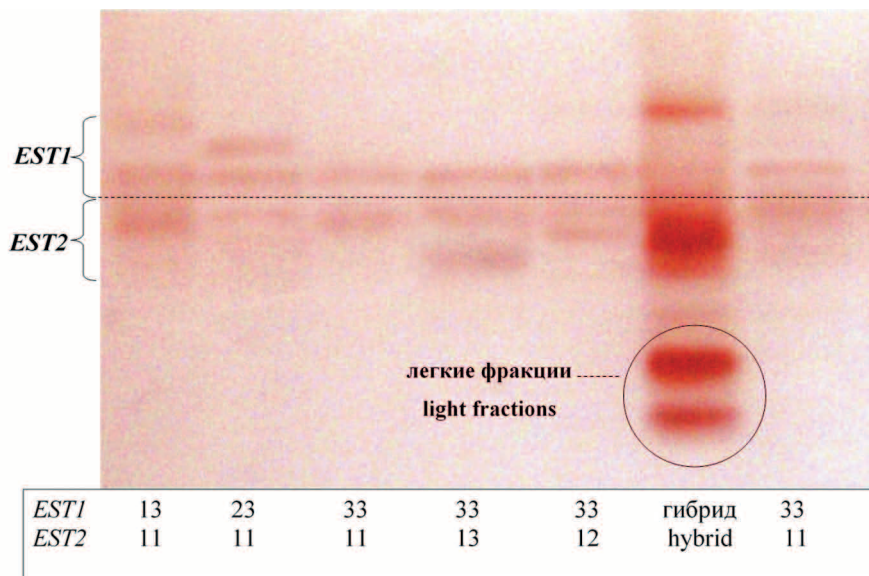


Рис. 3. Фрагмент электрофореграммы неспецифических эстераз
Pelophylax ridibundus с указанием генотипов (описание в тексте)
Fig. 3. Fragment of electrophoregram of nonspecific esterases
Pelophylax ridibundus with the indication of genotypes (description in the text)