

УДК 597.851

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ДВУХ ФОРМ ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* COMPLEX (ANURA, RANIDAE) НА КАМЧАТКЕ ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ И ЯДЕРНОЙ ДНК

© 2017 г. С. М. Ляпков¹, *, О. А. Ермаков², **, С. В. Титов²

¹Биологический факультет Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова, Москва 119234, Россия

²Пензенский государственный университет, Пенза 440026, Россия

*e-mail: lyapkov@mail.ru

**e-mail: oaermakov@list.ru

Поступила в редакцию 17.01.2017 г.

Формирование первых популяций озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex) вблизи г. Петропавловск-Камчатский и в долине р. Паратунка произошло в результате интродукции человеком в конце 1980-х гг., и к настоящему времени на Камчатке известно уже более 20 мест находок этого вида. Для уточнения таксономического статуса *Pelophylax ridibundus* sensu lato молекулярно-генетическими методами были проанализированы выборки из 5 популяций (всего 30 особей) из юго-восточной и центральной частей Камчатки. У всех озерных лягушек выявлен тип митохондриальной ДНК, специфичный для “восточной” формы (= азиатская *P. cf. bedriagae*), и отсутствует тип мтДНК, характерный для “западной” (= центрально-европейская *P. ridibundus*) формы. Однако результаты анализа ядерной ДНК показали, что кроме аллелей, характерных для “восточной” формы, у озерных лягушек Камчатки встречаются аллели, специфичные для “западной” формы, при соотношении их частот, приблизительно равном 2 : 1. Результаты секвенирования гена *ND2* мтДНК и гена *SAI-1* яДНК позволяют предположить, что “особи-основатели” были интродуцированы на Камчатку из междуречья Волги и Дона, Черноморского побережья Кавказа или Крыма. Отсутствие как гаплотипического, так и нуклеотидного разнообразия исследованных выборок указывает на однократную успешную интродукцию небольшим числом особей, отловленных в одном локалитете.

Ключевые слова: озерная лягушка, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax cf. bedriagae*, NADP-дегидрогеназа, сывороточный альбумин, Камчатка

DOI: 10.7868/S0044513417110083

Озерная лягушка (*Pelophylax ridibundus* (Pallas 1771)) на Камчатке впервые была найдена в пригороде Петропавловска-Камчатского в конце 1980-х гг. Считается, что было несколько попыток интродукции, и в итоге местом успешного заселения стали водоем-охладитель ТЭЦ-2 и вытекающий из него канал, служащий для отвода тепловой воды, а также близлежащие мелководные участки Халактырского оз. (Шейко, Никаноров, 2000). Всего же к настоящему времени на Камчатке известно более 20 мест находок этого вида (подробнее – Ляпков, 2016). По сообщениям местных жителей одному из авторов, в районе сброса тепловой воды в долине р. Паратунка крики лягушек были впервые отмечены также в конце 1980-х гг. Первые долговременные наблюдения за особенностями активности в течение года, размножения и развития яиц и головастиков были проведены вблизи поселков Паратунка и Термальный в те-

чение 2006–2011 гг. (Бухалова, Велигура, 2007; Шнуркова, Писарева, 2007). Однако до сих пор нет никаких данных о том, из какого региона обширного естественного ареала вида были завезены интродуцированные особи. Остается также неясным, были ли заселены водоемы вблизи ТЭЦ-2 и в долине Паратунки независимо друг от друга или сначала только один из них, а затем второй – путем переноса из первого. Кроме того, существуют отрывочные данные (преимущественно неопубликованные) о начале формирования популяций вида в нескольких других районах Камчатки позднее конца 1980-х гг., в результате расселения человеком, в том числе и на большом удалении от ТЭЦ-2 и долины Паратунки (обзор см. Ляпков 2014а, 2016).

Ситуация осложняется тем, что в настоящее время, на основе молекулярно-генетических данных, озерная лягушка рассматривается как ком-

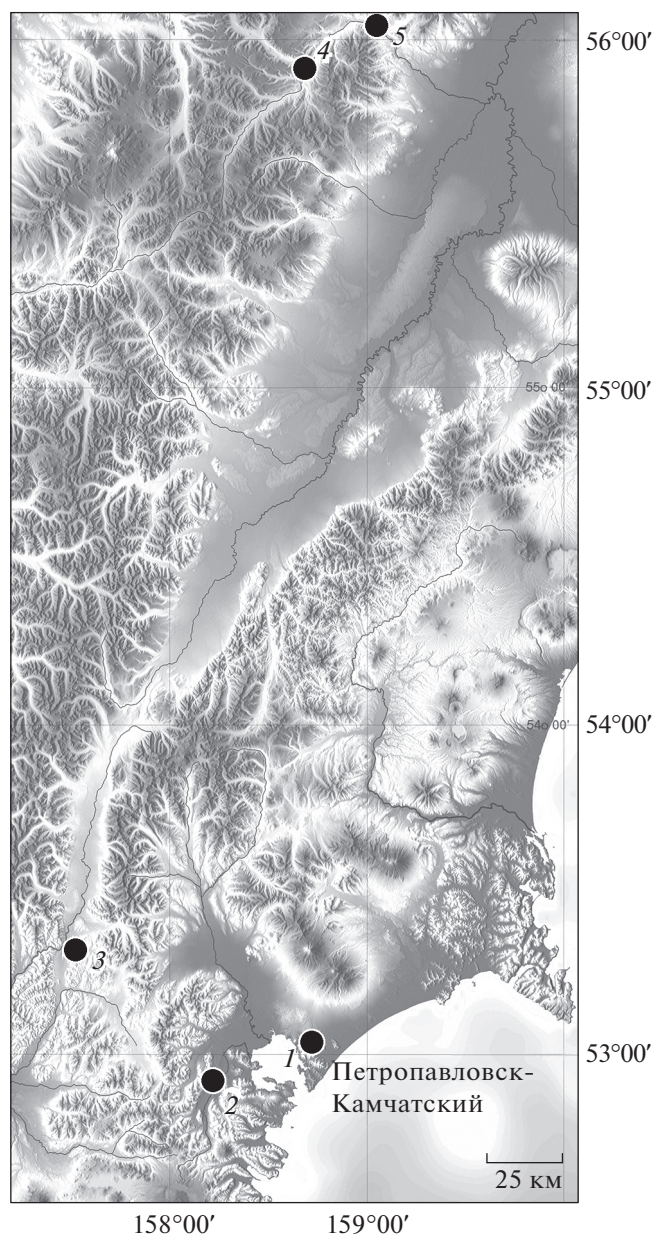


Рис. 1. Фрагмент карты Камчатки с точками сбора материала: 1 – “ТЭЦ-2” и “Халактырское”, 2 – “Гелиос”, 3 – “Малка”, 4 – “Эссо”, 5 – “Анавгай”.

плекс видов (Боркин и др., 2004; Plötner, 2005; Plötner et al., 2008, 2012). На территории России, в пределах своего обширного ареала, озерная лягушка представлена двумя морфологически сходными, но генетически дифференцированными формами – “западной” (= центрально-европейская *P. ridibundus*) и “восточной” (= азиатская *P. cf. bedriagae*) (Ермаков и др., 2013, 2014, 2016, 2016а; Закс и др., 2013; Замалетдинов и др., 2015; Иванов и др., 2015; Свинин и др., 2015; Akin et al., 2010). В связи с этим, задачами данной работы были: 1. сбор и молекулярно-генетическое типич-

рование особей в некоторых местах находок озерной лягушки на Камчатке, с целью определения принадлежности экземпляров к “западной” или “восточной” форме; 2. выявление возможного региона в пределах естественного ареала вида, из которого были интродуцированы особи, сформировавшие первые камчатские популяции вблизи ТЭЦ-2 и в долине Паратунки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал собирали в июне–начале июля 2014 г. в юго-восточной и центральной части Камчатки (рис. 1). Всего молекулярно-генетическим методом исследовано 30 особей из 5 пунктов, ниже приведены краткое описание местообитаний, координаты и объем выборки (*n*).

1. “ТЭЦ-2” и “Халактырское” – искусственный водоем ТЭЦ-2 г. Петропавловск-Камчатский и Халактырское оз. Водоем-охладитель ТЭЦ-2 – небольшой искусственный пруд (150 × 70 м и глубина до 3 м), в который круглогодично сбрасывается теплая вода. Вода из этого водоема отводится по узкому (около 5 м) и неглубокому (не более 1 м) каналу длиной около 1.5 км (53.015162° с.ш., 158.743691° в.д., *n* = 3). Лягушек отлавливали также в расположенных неподалеку мелководных заливах озера, лишенных притока теплой воды (53.012167° с.ш., 158.749247° в.д., *n* = 5).

2. “Гелиос” – небольшой пруд, в который круглогодично сбрасывается теплая вода базы отдыха, расположенной в долины р. Паратунка (53.002983° с.ш., 158.269953° в.д., *n* = 5).

3. “Малка” – теплые мелкие (но незамерзающие зимой) лужи, образующиеся в местах выхода термальных вод в зоне отдыха в 5 км от пос. Малка, расположены по обоим берегам р. Ключевка (53.324009° с.ш., 157.538454° в.д., *n* = 7).

4. “Эссо” – теплые мелкие лужи в месте выхода на поверхность термального источника в пос. Эссо (55.927075° с.ш., 158.679454° в.д., *n* = 5).

5. “Анавгай” – мелкий холодный ручей со слабо подогреваемыми участками в местах выхода естественных термальных источников и сбрасываемой теплой воды в пос. Анавгай (56.052489° с.ш., 158.986569° в.д., *n* = 5).

Молекулярно-генетический анализ, с использованием маркеров митохондриальной и ядерной ДНК (далее мт- и яДНК), проводили в два этапа. На первом этапе, по методикам, опубликованным ранее (Ермаков и др., 2013; Закс и др., 2013; Hauswaldt et al., 2012), проводилась скрининговая диагностика всей выборки (*n* = 30), позволяющая определить принадлежность гаплотипов мт- и яДНК озерных лягушек к “восточной” или “западной” форме, минуя стадию секвенирования. На втором этапе, для подтверждения результатов скрининга, с ис-

Таблица 1. Распределение типов мт- и яДНК у озерных лягушек Камчатки по результатам скринингового типирования

Популяция (в скобках – номер точки на карте, рис. 1)	<i>n</i>	COI мтДНК		
		В		
		SAI-1 яДНК		
		ВВ	ВR	RR
ТЭЦ-2 (1)	3	1	2	–
Халактырское (1)	5	2	1	2
Гелиос (2)	5	4	1	–
Малка (3)	7	–	5	2
Эссо (4)	5	2	1	2
Анавгай (5)	5	5	–	–
Итого	30 (100%)	14 (47%)	10 (33%)	6 (20%)

Примечание. R – аллели яДНК “западной” формы озерной лягушки, В – аллели яДНК и гаплотипы мтДНК “восточной” формы, *n* – объем выборки.

Таблица 2. Соотношение “западных” (R) и “восточных” (В) гаплотипов мтДНК и аллелей яДНК у озерных лягушек в изученных регионах

Регион	<i>n</i>	мтДНК		<i>n</i>	яДНК		Источник
		R, %	В, %		R, %	В, %	
Камчатка	30	–	100	60	37	63	Данная работа
Кавказ	93	–	100	186	22	78	Ермаков и др., 2016, 2016а
Среднее Поволжье	171	32	68	342	86	14	Ермаков и др., 2014; Закс и др., 2013
Верхнее Поволжье	90	83	17	180	94	6	Свинин и др., 2015; Замалетдинов и др., 2015
Верхнее Поочье	34	100	–	68	74	26	Иванов и др., 2015

пользованием праймеров из работ Плётнера и Акин (Plötner et al., 2008, 2009, 2012; Akin et al., 2010), проводилось секвенирование второй субъединицы гена NADH-дегидрогеназы мтДНК (*ND2*, длина 1038 п.н.) у всех экземпляров (*n* = 30) и фрагмента интрона 1 гена сывороточного альбумина яДНК (*SAI-1*, длина 638 п.н.) у гомозиготных особей (*n* = 20). Полученные последовательности, депонированы в GenBank (№ KX503311–KX503322). Филогенетический анализ выполнен с помощью программы MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013) с использованием оригинальных данных секвенирования, последовательностей, депонированных в базе данных GenBank NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov), и наших неопубликованных данных. Поиск наиболее сходных первичных последовательностей с таковыми камчатских озерных лягушек (менее 1% нуклеотидных замен) осуществлялся с помощью алгоритма BLAST (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov). Для реконструкции филогенетических отношений между выявленными гаплотипами использовались ме-

тоды присоединения соседей (NJ) и максимального правдоподобия (ML).

При расчете частот гаплотипов учитывалось, что мтДНК является гаплоидной и формально может рассматриваться как один аллель, поэтому количество аллелей и количество экземпляров равно. Ядерная ДНК диплоидна, содержит два аллеля одного гена, соответственно доли аллелей и экземпляров той или иной формы различны в зависимости от соотношения гомо- и гетерозиготных особей (см. табл. 2). Различия частот аллелей оценивались с помощью критерия χ^2 для таблиц 2×2 , в программе STATISTICA v.10 (StatSoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех озерных лягушек Камчатки обнаружен тип мтДНК, специфичный для “восточной” формы (табл. 1). Однако результаты анализа яДНК показали, что кроме аллелей гена *SAI*, характерных для “восточной” формы, у озерных лягушек Камчатки встречаются аллели, специфичные для

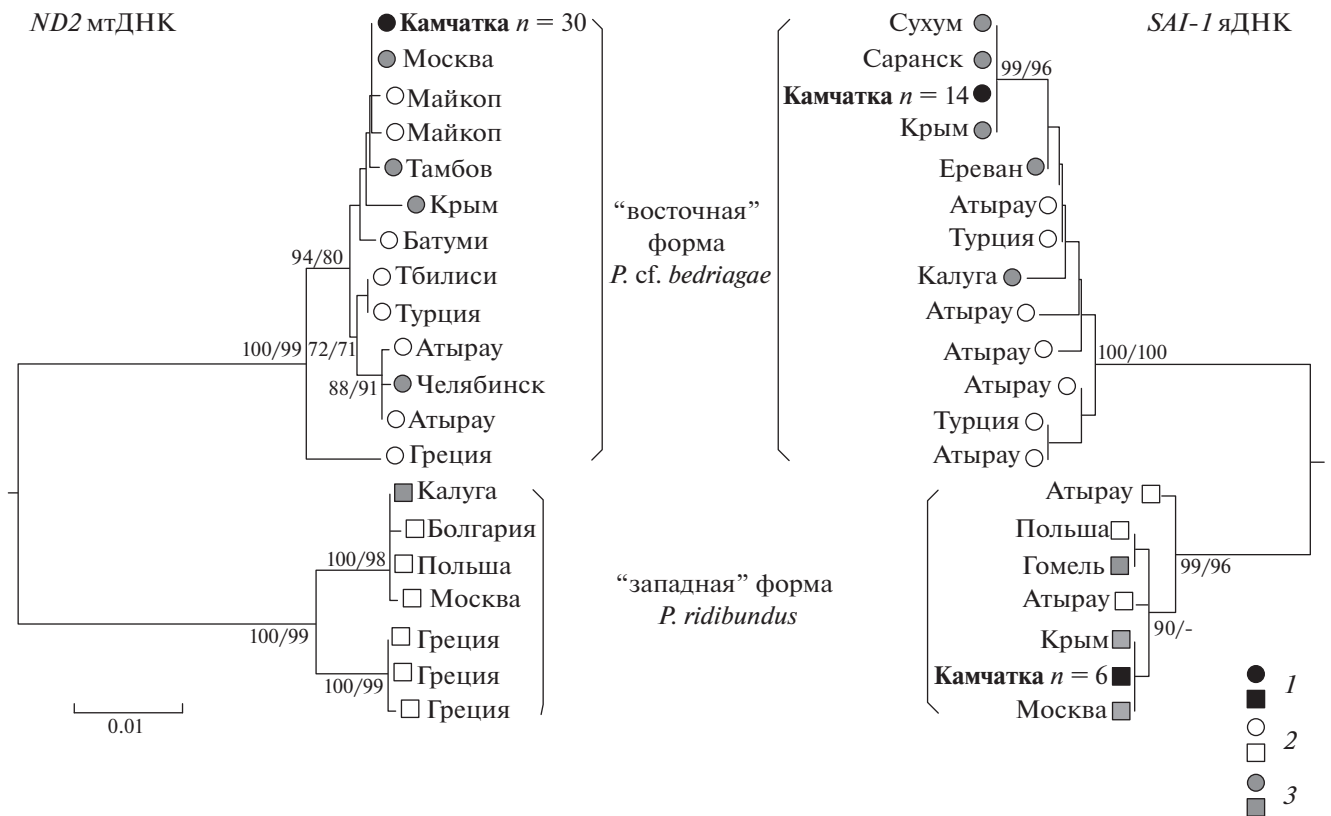


Рис. 2. Дендрограммы, показывающие связи гаплотипов мт- и яДНК изученных озерных лягушек Камчатки (1) и других регионов (2 – база данных GenBank, 3 – наши неопубликованные данные). Числа в основаниях кластеров – оценки устойчивости узлов ветвлений в процентах от 1000 реплик бутстрэпа (NJ/ML-методы). Шкала – генетическая дистанция (p-distance) между гаплотипами.

“западной” формы, при соотношении их частот, приблизительно равном 2 : 1. Около половины изученных особей (47%) были гомозиготами (BB) и диагностировались как “восточная” форма, 33% – гетерозиготами (BR) и 20% – гомозиготами (RR) “западной” формы (табл. 1). Наблюдаемое соотношение гомо- и гетерозигот не противоречит ожидаемому согласно закону Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 2.38$, $df = 1$, $p = 0.991$). При отсутствии “западного” типа мтДНК в общей выборке, особи несущие оба специфичных для “западной” формы аллеля ядерного гена, вероятно, являются результатом выщепления при скрещиваниях гетерозигот. С этим согласуется и тот факт, что все 6 гомозиготных особей RR-типа обнаружены в популяциях, где присутствуют гетерозиготные экземпляры.

Полученные результаты выявили несоответствие частот распределения маркеров мт- и яДНК у озерных лягушек Камчатки, а именно – отсутствие “западных” гаплотипов мтДНК при наличии “западных” аллелей в ядерном геноме. Если результаты анализа маркера мтДНК показали наличие в общей выборке только гаплотипов *P. cf. bedriagae*, то исследования маркера яДНК выявили присутствие в выборке аллелей

P. ridibundus на уровне 37%. Различия частот встречаемости аллелей мт- и яДНК двух форм достоверны ($\chi^2 = 12.64$, $p = 0.0004$).

Результаты секвенирования маркеров мт- и яДНК полностью соответствовали идентификации форм озерных лягушек по данным скринингового анализа. Все 30 последовательностей гена *ND2* мтДНК были специфичны “восточной” форме, из 20 последовательностей фрагмента гена *SAI-1* яДНК 14 также соответствовали *P. cf. bedriagae*, а остальные 6 – “западной” форме (рис. 2). Генетическая изменчивость по обоим исследованным маркерам не обнаружена: как митохондриальный, так и ядерный гены представлены одним гаплотипом для каждой из исследованных форм.

Филогенетические реконструкции, приведенные на рис. 2, позволили выявить наиболее близкие камчатским лягушкам гаплотипы мт- и яДНК.

По маркеру мтДНК идентичный гаплотип отмечен в окрестностях Москвы, последовательно, отличающиеся на 1-3 замены, известны из Тамбовской обл., черноморского побережья Кавказа (Майкоп, Батуми) и Крыма. Гаплотипы

озерных лягушек, обитающих к востоку от р. Волга (Атырау, Челябинск), в центральном Закавказье (Тбилиси) и Турции, объединены в отдельный кластер и имеют меньшее сходство с последовательностями лягушек Камчатки.

По маркеру яДНК, который менее изменчив по сравнению с маркером мтДНК, гаплотипы, одинаковые с камчатскими гаплотипами каждой из двух форм озерных лягушек, также найдены на севере и востоке Окско-Донской равнины (Москва, Саранск), побережье Черного моря (Сухум) и в Крыму.

ОБСУЖДЕНИЕ

Озерная лягушка — экологически пластичный полиморфный вид с огромным ареалом, который увеличивается, в том числе, в результате неоднократных интродукций (обзор см. Кузьмин, 2012, с. 223–228). Применение молекулярно-генетического анализа в нашем исследовании позволило уточнить видовую принадлежность лягушек, интродуцированных на Камчатке: ранее вид был определен Г.А. Ладой на основании только морфологических признаков у небольшого числа особей из популяции ТЭЦ-2 (Шейко, Никаноров, 2000). Изучение выборки озерных лягушек Камчатки выявило у них особенности, позволяющие подойти к решению вопроса о происхождении этих самых восточных популяций вида и очертить территорию в пределах нативного ареала, с которой была произведена интродукция.

Во-первых, у всех изученных экземпляров присутствует тип мтДНК, специфичный *P. cf. bedriagae*. Гаплотипы “восточной” формы на территории естественного ареала “*ridibundus*-комплекса” характерны для восточной Турции, Кавказа и Крыма (Akin et al., 2010; Akin Peksen et al., 2014; Ермаков и др., 2016, 2016а), доминируют в Среднем и присутствуют в Верхнем Поволжье (Ермаков и др., 2013, 2014; Закс и др., 2013; Замалетдинов и др., 2015; Свинин и др., 2015). МтДНК, специфичную только для *P. ridibundus*, имеют озерные лягушки, обитающие в центральной и восточной Европе (Plötner et al., 2008) и в Верхнем Поочье (Калужская обл. — табл. 2) (Иванов и др., 2015). Из этого следует, что вероятной западной границей распространения митохондриальных гаплотипов “восточной” формы на территории Восточно-Европейской равнины является р. Дон. Исключение — единственная находка гаплотипа *P. cf. bedriagae*. формы на юго-востоке Украины в окрестностях г. Харьков (Hoffmann et al., 2015).

Во-вторых, в исследованной выборке аллели яДНК “восточной” формы преобладают над “западной”. По имеющимся данным (табл. 2) большая доля аллелей *P. cf. bedriagae* характерна для популяций озерных лягушек, обитающих на Кав-

казе и сопредельных территориях (Абхазия, Адыгея, Армения, Грузия, Дагестан, Краснодарский край) (Ермаков и др., 2016, 2016а). К северу доля аллелей “восточной” формы уменьшается, а доля “западной” — увеличивается. Несмотря на географическую закономерность распределения мтДНК двух форм, по данным яДНК, на всей изученной нами территории от Кавказа до Верхней Волги, вероятно отсутствуют “чистые” поселения лягушек той или иной формы. Во всех точках отлова, где выборка составила более пяти особей, обнаружены аллели обеих форм, встречаются гомозиготные и гетерозиготные экземпляры, доля последних варьирует от 9 до 29%. Поэтому при малом числе интродуцированных на Камчатку особей-основателей и возможном “эффекте бутылочного горлышка”, донором могла быть популяция из любого изученного региона.

В-третьих, в изученной выборке отсутствовало как гаплотипическое, так и нуклеотидное разнообразие. Нулевые значения обоих параметров изменчивости генетических маркеров у камчатских озерных лягушек свидетельствуют о малом количестве завезенных на Камчатку особей, т.е. об “эффекте основателя”, и могут быть аргументом в пользу того, что экземпляры для интродукции были отловлены в одном локалитете, и, возможно, была только одна удачная интродукция.

В-четвертых, успеху интродукции озерных лягушек в определенной мере могло способствовать выявленное преобладание в выборке молекулярных маркеров, специфичных для “восточной” формы. Известно, что экземпляры *P. cf. bedriagae*, участвующие в активной инвазии зеленых лягушек в новые регионы, что может приводить к вытеснению автохтонных видов (Holsbeek et al., 2008; Dubey et al., 2014; Plötner et al., 2015). Кроме того, нами было показано, что в Среднем Поволжье (Пензенская, Самарская, Саратовская области, Республика Татарстан) частота аллелей «восточной» формы возрастает в антропогенных водоемах, по сравнению с этим показателем в естественных, а на севере Поволжского региона (Республика Марий Эл) все находки особей, имеющих мтДНК или яДНК «восточной» формы, относятся к антропогенным ландшафтам (Ермаков и др., 2013, 2014; Замалетдинов и др., 2015; Свинин и др., 2015).

Таким образом, имеющиеся данные о закономерностях географического распределения гаплотипов мтДНК двух форм озерных лягушек и выявленное сходство первичных нуклеотидных последовательностей генетических маркеров мт- и яДНК камчатских озерных лягушек с аналогичными последовательностями у экземпляров из других регионов позволяют ограничить территорию, из которой были интродуцированы особи на Камчатку, Волго-Донским междуречьем, Черно-

морским побережьем Кавказа и Крымом. Кроме того, наличие идентичных последовательностей генов у озерных лягушек Камчатки и экземпляров из окрестностей Москвы во всех трех возможных вариантах (*ND2* специфичный для “восточной” формы и *SAI* — для каждой из двух форм, см. рис. 2) не исключает, что популяция-донор могла располагаться в Московской обл.

Как уже отмечалось выше, точное время заселения подогреваемых водоемов ТЭЦ-2 и долины р. Паратунка остается неизвестным. Остается также неясным, были ли заселены водоемы вблизи ТЭЦ-2 и в долине Паратунки независимо друг от друга или сначала был заселен только один из этих двух участков, и позднее — второй, путем переноса лягушек из первого участка. Полученные данные по составу гаплотипов двух форм не вносят ясности в этот вопрос. Сообщение о первых встречах озерных лягушек в мелких термальных водоемах в зоне отдыха недалеко от пос. Малка появилось сравнительно недавно (первое упоминание — в интернете в мае 2012 года), причем наиболее вероятен завоз лягушек из одной из более южных популяций (см. рис. 1). Однако высокое сходство популяций ТЭЦ-2 и долины р. Паратунка не позволяют установить, из какой именно популяции было осуществлено это заселение. По данным сотрудников Быстринского природного парка (Сычевы, личное сообщение), несколько десятков взрослых особей были пойманы в популяции ТЭЦ-2 и выпущены в теплые стоки частной базы отдыха, расположенной в 40 км от пос. Эссо в середине 2000-х гг. После успешной интродукции, в 2008 г. всего около десятка особей было перенесено из этой популяции в пос. Эссо, где тоже сформировалась новая популяция, причем уже в 2010 г. озерные лягушки заселили термальные лужи и основные теплые стоки. В последнюю очередь было произведено заселение пос. Анавгай, причем, судя по генетической однородности (наличию маркеров только “восточной” формы — см. табл. 1), число особей-основателей популяции было небольшим. Отметим также, что известные случаи формирования новых, пространственно изолированных популяций в результате завоза человеком небольшого числа особей, косвенно подтверждают возможность возникновения первой камчатской популяции в результате интродукции немногочисленных особей.

Полученные результаты типирования не противоречат и другому возможному “сценарию” возникновения первой популяции вида на Камчатке. Известно, что в Халактырском оз. существует незамерзающий участок, из-за сброса в него холодной воды из ТЭЦ-2, благодаря чему в озере успешно интродуцирован и достигает здесь высокой численности сазан. Первые головастики озерной лягушки могли быть завезены вместе с

мальками рыб. В таком случае успешность интродукции лягушек объясняется высокой численностью завезенных головастиков. Аналогичная интродукция вида наблюдалась при зарыблении нескольких подогреваемых водоемах Свердловской обл. (Фоминых, Ляпков, 2011). Следующим этапом распространения вида на Камчатке могло быть намеренное заселение какого-либо термального водоема в долине р. Паратунка путем переноса туда взрослых лягушек. Поскольку в долине р. Паратунка термальные водоемы и места сброса теплой воды находятся сравнительно близко друг от друга (минимальное расстояние меньше 1 км), в дальнейшем мигрирующие лягушки смогли последовательно заселить все известные к настоящему времени местобитания.

Формирование на Камчатке популяций озерной лягушки с высокой изменчивостью характеристик жизненного цикла, наблюдаемой даже в пределах одной популяции в водоемах, расположенных неподалеку друг от друга (прежде всего, количество циклов размножения в течение года, в зависимости от объема поступающей теплой воды и длительности сезона активности — подробнее см. Ляпков, 2014, 2014а), представляет собой уникальный случай успешной интродукции и последующего широкого расселения вида на основе его высокой пластичности. Также выявлен высокий уровень изменчивости по размерному составу и темпам постметаморфозного роста лягушек — как принадлежащих к разным популяциям, так и в одной популяции (Ляпков, 2016а). Можно предполагать, что наличие в каждой из исследованных популяций (кроме Анавгая) ядерных гаплотипов обеих форм озерной лягушки и разнообразие генотипов также способствуют такой высокой пластичности.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность сотрудникам природного парка «Быстринский» П.П. и Н.П. Сычевым за предоставленную информацию об истории заселения и местах находок озерных лягушек.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (16-04-01771) и в рамках базовой части государственного задания ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» в сфере научной деятельности на 2017–2019 год (проект 6.7197.2017/БЧ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Скоринков Д.В., 2004. О криптических видах (на примере амфибий) // Зоологический журнал. Т. 83. № 8. С. 936–960.

- Бухалова Р.В., Велигура Р.М., 2007. Лягушка озерная *Rana ridibunda* (Pallas, 1771) в Паратунской долине (юго-восточная Камчатка) // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: Доклады VII междунауч. конф. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. С. 51–58.
- Ермаков О.А., Закс М.М., Титов С.В., 2013. Диагностика и распространение “западной” и “восточной” форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. l. в Пензенской области (по данным анализа гена COI мтДНК) // Вестник Тамбовского университета. Т. 18. № 6. С. 2999–3002.
- Ермаков О.А., Симонов Е.П., Иванов А.Ю., Замалетдинов Р.И., Файзулин А.И., 2016. Генетические формы озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex) Западного Кавказа по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК // Труды института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. Вып. 73(76). С. 70–76.
- Ермаков О.А., Файзулин А.И., Аскендеров А.Д., Иванов А.Ю., 2016. Молекулярно-генетическая характеристика озерных лягушек *Pelophylax ridibundus* Республики Дагестан (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 18. № 5. С. 94–97.
- Ермаков О.А., Файзулин А.И., Закс М.М., Кайбелева Э.И., Заринова Ф.Ф., 2014. Распространение “западной” и “восточной” форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. l. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 16. № 5(1). С. 409–412.
- Закс М.М., Бытракова Н.В., Ермаков О.А., Титов С.В., 2013. Молекулярно-генетическая и морфологическая характеристика озерных лягушек (*Pelophylax ridibundus*) из Пензенской области // Современная герпетология: проблемы и пути их решения. Статьи по материалам докладов Первой международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран (Санкт-Петербург, Россия, 25–27 ноября 2013 г.). Зоол. институт РАН. СПб. С. 86–89.
- Замалетдинов Р.И., Павлов А.В., Закс М.М., Иванов А.С., Ермаков О.А., 2015. Молекулярно-генетическая характеристика лягушек *Pelophylax esculentus* комплекса на восточной периферии ареала (Поволжье, Республика Татарстан) // Вестник Томского государственного университета. Биология. № 3(31). С. 54–66.
- Иванов А.Ю., Корзиков В.А., Алексеев С.К., Ермаков О.А., 2015. Молекулярно-генетическая характеристика озерных лягушек *Pelophylax ridibundus* s. l. из Верхнего Поочья // Материалы чтений и науч. конф., посвящ. памяти проф. Андрея Григорьевича Банникова и 100-летию со дня рождения. М.: Сельскохозяйственные технологии. С. 228–232.
- Кузьмин С.Л., 2012. Земноводные бывшего СССР. М.: Товарищество научных изданий КМК. 370 с.
- Ляпков С.М., 2014. Озерная лягушка (*Pelophylax ridibundus*) в термальных водоемах Камчатки // Зоологический журнал. Т. 93. № 12. С. 1427–1432.
- Ляпков С.М., 2014а. Озерная лягушка (*Pelophylax ridibundus*) на Камчатке: распространение, местообитания и особенности структуры популяций // Биоразнообразие Камчатки. Петропавловск-Камчатский. С. 62–66.
- Ляпков С.М., 2016. Места находок и состояние популяций озерной лягушки на Камчатке // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. Т. 21. № 5. С. 1821–1824.
- Ляпков С.М., 2016а. Озерная лягушка (*Pelophylax ridibundus*) на Камчатке: особенности местообитаний, размерного и возрастного состава популяций // “Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей”. Тезисы XVII международной научной конференции. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. С. 94–98.
- Свинин А.О., Иванов А.Ю., Закс М.М., Литвинчук С.Н., Боркин Л.Я. и др., 2015. Распространение “западной” и “восточной” форм озерной лягушки, *Pelophylax ridibundus*, и их участие в образовании полуклональных гибридов *P. esculentus* в Республике Марий Эл // Современная герпетология. Т. 15. № 3/4. С. 120–129.
- Фоминых А.С., Ляпков С.М., 2011. Формирование новых особенностей жизненного цикла озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в условиях подогреваемого водоема // Журнал общей биологии. Т. 72. № 6. С. 403–421.
- Шейко Б.А., Никаноров А.П., 2000. Класс Amphibia – Земноводные; Класс Reptilia – Пресмыкающиеся // Каталог позвоночных Камчатки и сопредельных морских акваторий. Петропавловск-Камчатский: Камчатский печатный двор. С. 70–72.
- Шнуркова Н.В., Писарева М.В., 2007. Результаты наблюдений за внедрением вида *Rana ridibunda* в водоемы окрестностей поселка Термального Камчатской области [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://ecocoop.ru/hydro/messages/1840.html>. Дата обновления: 25.09.2013.
- Akin C., Bilgin C.C., Beerli P., Westaway R., Ohst T. et al., 2010. Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs have been determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic // Journal of Biogeography. V. 37. P. 2111–2124.
- Akin Peksen C., Bilgin C., Beerli P., Westaway R., Schreiber R., et al., 2014. Do discordant mitochondrial and nuclear distribution patterns indicate introgression following secondary contact between Anatolian water frog lineages (*Pelophylax* cf. *bedriagae*) and European water frog lineage (*Pelophylax ridibundus*) in Anatolia? // Abstr. Ecology and Evolutionary Biology Symposium, Turkey. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.eebst2014.boun.edu.tr/EEBST-2014/Home_files/BookofAbstracts_EEBST2014.pdf. Дата обновления: 22.10.2015.
- Dubey S., Leuenberger J., Perrin N., 2014. Multiple origins of invasive and ‘native’ water frogs (*Pelophylax* spp.) in Switzerland // Biological Journal of the Linnean Society. V. 112. № 3. P. 442–449.
- Hauswaldt J. S., Höer M., Ogielska M., Christiansen D.G., Dziejewska-Szwajkowska D., et al., 2012. A simplified molecular method for distinguishing among species and

- ploidy levels in European water frogs (*Pelophylax*) // Molecular Ecology Resources. V. 12. № 5. P. 797–805.
- Hoffmann A., Plötner J., Pruvost N.B., Christiansen D.G., Rothlisberger S., et al., 2015. Genetic diversity and distribution patterns of diploid and polyploid hybrid water frog populations (*Pelophylax esculentus* complex) across Europe // Molecular Ecology. V. 24. № 17. P. 4371–4391.
- Holsbeek G., Mergeay J., Hotz H., Plötner J., Volckaert A.M., et al., 2008. A cryptic invasion within an invasion and widespread introgression in the European water frog complex: consequences of uncontrolled commercial trade and weak international legislation // Molecular Ecology. V. 17. P. 5023–5035.
- Plötner J., 2005. Die westpaläarktischen Wasserfrösche – Von Märtyrern der Wissenschaft zur biologischen Sensation. Bielefeld: Laurenti Verlag. 160 S.
- Plötner J., Akin C., Baier F., Uzzell T., Bilgin C.C., 2015. Genetic evidence for human-mediated introduction of Anatolian water frogs (*Pelophylax cf. bedriagae*) to Cyprus (Amphibia: Ranidae) // Zoology in the Middle East. V. 61. № 2. P. 125–132.
- Plötner J., Baier F., Akin C., Mazepa G., Schreiber R., et al., 2012. Genetic data reveal that water frogs of Cyprus (genus *Pelophylax*) are an endemic species of Messinian origin // Journal of Zoosystematics and Evolution. V. 88. № 2. P. 261–283.
- Plötner J., Köhler F., Uzzell T., Beerli P., Schreiber R., et al., 2009. Evolution of serum albumin intron-1 is shaped by a 5' truncated non-long terminal repeat retrotransposon in western Palearctic water frogs (Neobatrachia) // Molecular Phylogenetics and Evolution. V. 53. P. 784–791.
- Plötner J., Uzzell T., Beerli P., Spolsky C., Ohst T., et al., 2008. Widespread unidirectional transfer of mitochondrial DNA: a case in western Palearctic water frogs // Journal of Evolutionary Biology. V. 21. P. 668–681.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. V. 30. P. 2725–2729.

DISTRIBUTION AND ORIGIN OF TWO FORMS OF THE MARSH FROG *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* COMPLEX (ANURA, RANIDAE) FROM KAMCHATKA, BASED ON MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR DNA DATA

S. M. Lyapkov^{a, #}, O. A. Ermakov^{b, ##}, and S. V. Titov^b

^aFaculty of Biology, Lomonosov State University, Moscow 119234, Russia

^bPenza State University, Penza 440026, Russia

[#]e-mail: lyapkov@mail.ru

^{##}e-mail: oaermakov@list.ru

The formation of the first populations of the marsh frog (the *Pelophylax ridibundus* complex) near Petropavlovsk-Kamchatski and in the Paratunka river valley must have been the result of human introduction in the late 1980's. At present, more than 20 localities of this species are recorded in Kamchatka. For a more precise definition of the taxonomic status of *P. ridibundus* sensu lato, samples from 5 populations (altogether, 30 individuals) from southeastern and central Kamchatka are analyzed using molecular methods. In all frogs, the mitochondrial DNA type specific for the “eastern” form (= the Anatolian *P. cf. bedriagae*), but not for the “western” form (= the Central European *P. ridibundus*), is revealed. However, the results of nuclear DNA analysis of marsh frogs from Kamchatka reveal alleles specific for both of the forms, “eastern” and “western”, with a frequency ratio of about 2 : 1. The results of sequencing the mitochondrial *ND2* gene and nuclear *SAI-1* gene suggest that “ancestor” individuals might have been introduced to Kamchatka from the Volga-Don interfluvium or Ciscaucasia. The absence of both haplotype and nucleotide diversity in the samples studied suggests a single successful introduction that involved a low number of frogs stemming from a single locality.

Keywords: marsh frog, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax cf. bedriagae*, NADP-dehydrogenase, serum albumin, Kamchatka Peninsula