

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК
КАФЕДРА БИОЛОГИИ

**МОРФОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ОЗЕРНОЙ ЛЯ-
ГУШКИ *PELORHYLAX RIDIBUNDUS* БЕЛГОРОДСКОГО РАЙОНА**

Магистерская диссертация

обучающегося по направлению подготовки

06.04.01 Биология

очной формы обучения

группы 070015339

Бархатова Анатолия Сергеевича

Научный руководитель
д. б. н., профессор
Э. А. Снегин

Рецензент
директор ФГБУ
«Государственный
заповедник «Белогорье»
Шаповалов А.С.

БЕЛГОРОД 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
Глава 1. Обзор литературы.....	5
1.1. Популяционный уровень организации живой материи.....	5
1.2. Полиморфизм бесхвостых земноводных.....	6
1.3. Биология лягушки озерной (<i>Pelophylax ridibundus</i>).....	7
Глава 2. Физико-географическая характеристика Белгородской области.....	10
2.1. Географическое положение Белгородской области.....	10
2.2. Геологическое строение и рельеф.....	11
2.3. Климат и воды.....	13
2.4. Почвы и растительный покров.....	16
Глава 3. Материалы и методы исследования.....	18
3.1. Морфометрический анализ.....	19
3.2. Электрофорез ферментов в полиакриамидном геле (ПААГ).....	21
3.3. Метод щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (Метод ДНК-комет).....	26
3.4. Статистическая обработка полученных данных.....	28
Глава 4. Результаты и их обсуждение.....	31
4.1. Фенетическая структура популяций.....	31
4.2. Морфометрические показатели.....	32
4.2.1. Однофакторный дисперсионный анализ.....	32
4.2.2. Корреляционный анализ морфометрических признаков.....	38
4.3. Генетическая структура популяции лягушки озерной.....	52
4.4. Оценка цитогенетической стабильности популяции с помощью метода ДНК-комет.....	56
Выводы.....	59
Список используемой литературы.....	60

ВВЕДЕНИЕ

Антропогенное влияние на окружающую среду вызывает самые разнообразные реакции у обитателей в этих условиях животных. Для оценки состояния окружающей среды особое внимание следует уделить изменениям гидросферы, как наиболее мобильной части биосферы (Шиян, 2011). Сельскохозяйственные и бытовые стоки, отходы с промышленных производств поступающих в водоемы, приводят к изменению условий обитания отдельных животных и биоты в целом (Пескова, 2007).

Амфибии играют важную роль в экосистемах и жизни человека. Эти животные участвуют в регуляции численности насекомых, являются промежуточными хозяевами гельминтов и сами служат пищей для других животных. Таким образом, амфибии обитающие на границе двух сред – водной и наземной, являются связующим элементом в трофических цепях водоемов и суши. Состояние их организма отражает состояние окружающей среды, что делает их удобными биоиндикаторами (Рыжков, 2007).

Цель данной работы заключалась: в анализе морфогенетической структуры популяции озерной лягушки для оценки их уровня жизнеспособности в условиях урбанизированного ландшафта Белгородского района.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести анализ изменчивости морфометрических признаков в популяциях озерной лягушки.
2. Изучить структуру популяционных генофондов с помощью алозимных локусов.
3. Оценить уровень разрушения ДНК в двух модельных популяциях озерной лягушки.

В качестве объекта исследования была выбрана лягушка озерная (*Pelophylax ridibundus*). Выбор данного вида в качестве объекта исследования не случаен. Этот вид многочислен пластичен и обитает в разнообразных

ландшафтах.

Предмет исследования – морфогенетическая структура популяций лягушки озерной обитающих на урбанизированных территориях.

Практическая значимость работы заключается изучении состояния популяций лягушки озерной, как биоиндикатора.

Магистерская диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка использованных источников литературы. В работе использовались материалы отечественных и зарубежных статей, учебников и пособий.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Популяционный уровень организации живой материи

Уровень, означаемый словом «популяция» имеет очень важное значение для эволюциониста. Однако часто термин используется в нескольких совершенно различных значениях. Экологи могут говорить о популяции планктона данного водоёма, подразумевая под популяцией совокупность особей разных видов (Майр, 1968).

Для понимания основных механизмов эволюционного процесса исключительно важно точное, непротиворечивое и достаточно полное определение популяции.

Впервые термин «популяция» был введен в биологию, а точнее в генетику, Иогансеном в 1903 г. Он назвал популяцией (лат. Population - население) группу гетерозиготных особей для того, чтобы можно было отличить данные группы от чистых линий, а именно гомозиготных особей. Экологи рассматривают популяцию, как функциональную единицу существования вида (Северцов, 2013).

По А. В. Яблокову, популяция — это достаточно многочисленная совокупность особей определенного вида, в течение длительного времени (большого числа поколений) населяющих определенный участок географического пространства, внутри которого практически осуществляется та или иная степень случайного свободного скрещивания и нет заметных изоляционных барьеров. Она отделена от соседних таких же совокупностей особей данного вида той или иной преградой, препятствующей свободному скрещиванию (Яблоков, 1980).

Наиболее полно требованиям синтетической теории эволюции соответствует определение Тимофеева-Ресовского: «Под популяцией понимается совокупность особей определенного вида, в течение достаточно длительного времени (большого числа поколений) населяющих определенное

пространство, внутри которого практически осуществляется та или иная степень панмиксии и нет заметных изоляционных барьеров, которая отделена от соседних таких же совокупностей особей данного вида той или иной степенью давления тех или иных форм изоляции» (Тимофеев-Ресовский, 1973)

Значение популяционного уровня для существования и развития жизни состоит в том, что именно через него осуществляется как генетическая преемственность поколений, так и регуляция их биологически важных свойств (Алтухов, 1989).

На Земле ни молекулы, ни отдельные особи не могут быть элементарными единицами эволюционного процесса. Отдельная особь не может считаться единицей эволюции потому, что она не обладает собственной «эволюционной судьбой». Это означает, что отдельная особь не может существовать достаточно долго в масштабе эволюционного процесса, который продолжается тысячи и миллионы лет. По той же самой причине не могут быть элементарными эволюционными единицами такие кратковременные объединения особей, как например, стая, семья и т.п. Но вид, как правило, состоит из популяций, каждая, из которой обладает собственной «эволюционной судьбой». В качестве элементарной единицы эволюционного процесса может выступать только лишь популяция. Именно существующая популяция временно олицетворяет генофонд в видимой форме. Только лишь в популяции гены взаимодействуют в многочисленных комбинациях. Кроме того, именно в популяции проходят испытания новые комбинации генов. Длительное взаимодействие генов в генофонде обеспечивает достаточную степень интеграции, позволяющую популяции выступить в качестве основной единицы эволюции (Тимофеев-Ресовский и др., 1973; Яблоков, 1980).

1.2. Полиморфизм бесхвостых амфибий

В популяции особи максимально сходны между собой, благодаря чему вызывается высокая вероятность конкретных отношений. Снижение уровня конкуренции достигается путем дифференциации, разобщения особей в

составе популяции, что в свою очередь ведет к полиморфизму.

Впервые определение «полиморфизм» ввел в науку английский эколог и генетик Э. Б. Форд в 1940 г., понимая одновременное существование в одном и том же местообитании двух или более форм одного вида (Ford, 1940). По Майру (1974), полиморфизм – это «наличие нескольких четко различных дискретных фенотипов внутри единой скрещивающейся популяции». Однако полиморфизм касается не только морфологии организма («морфизм» предполагает структурные признаки), а представляет собой сложную систему признаков, при условии, что признак контролируется генами. Некоторые полиморфные варианты или «морфы» настолько отличаются от «нормального» типа популяции, что их часто ошибочно принимали за отдельные виды (Федорук, 2010).

Земноводные – являются важным компонентом экосистем и очень чувствительны к факторам среды. Благодаря амфибиям происходит регуляция численности насекомых, кроме того, включаясь в пищевые цепи они становятся промежуточными и дополнительными хозяевами паразитов. Для оценки реакции популяции на изменение в окружающей среде, рекомендуется использование комплекса признаков, который включает в себя экологические и морфологические показатели, чувствительные к изменению окружающей среды. Одним из таких признаков у земноводных является полиморфизм (Яковлева, 2015). Полиморфизм по признакам окраски широко распространён у бесхвостых амфибий. Так, например, в популяциях лягушек рода *Rana* встречаются особи с дорсомедиальной полосой (морфа «striata») (Hoffman, 2000). Данный признак определяет доминантный аллель диаллельного аутосомного гена, который был установлен для *R. ridibunda* и *R. arvalis* (Щупак 1977, Berger, 1982).

1.3. Биология лягушки озерной (*Pelophylax ridibundus*)

Лягушка озерная (*Pelophylax (Rana) ridibundus*), рода зеленая лягушка (водная) – *Pelophylax*, семейства лягушки — *Ranidae* (Rafinesque, 1814),

отряда бесхвостые — Anura (FischervonWaldheim, 1813), класс Земноводные — Amphibia — самый большой крупный вид среди земноводных нашей фауны. Максимальная длина тела 1500 мм (вне пределов бывшего СССР 170 мм). Самки всегда крупнее самцов. Барабанная перепонка крупная. Задние конечности удлинённые.

Этот вид распространён по всей Европе, в Северной Африке, Передней и Средней Азии. На территории бывшего СССР данный вид встречается в европейской части до 60° с. ш., в Крыму, на Кавказе, в Казахстане и Средней Азии. Размеры животных уменьшаются по мере продвижения от центра к границам ареала (Терентьев 1950, Ушаков 2000).

Данный вид экологически очень пластичен и обитает в разнообразных ландшафтах. Всю жизнь проводит в воде или недалеко от неё, населяя разнообразные водоемы смешанных и широколиственных лесов, степей и пустынь, в том числе и быстротекущих рек. Чаще всего населяет крупные, открытые водоемы. Легко заселяет водоемы искусственного происхождения. Поднимается в горы на высоту до 2500 м на уровне моря (Кавказ).

Животные активны круглые сутки. Время от времени совершает миграции с водоема на берег, главным образом для кормёжки. Рацион *Pelophylax ridibundus* очень разнообразен. Прежде всего это беспозвоночные животные, в основном жуки. Однако, в зависимости от места обитания животного в рацион входят двукрылые, перепончатокрылые и прямокрылые. Кроме того, в некоторых случаях её добычей могут стать и мелкие млекопитающие (землеройки, молодые полевки), некрупные земноводные (квакши, остромордые лягушки), мальки рыб. Нередко наблюдается каннибализм, лягушка поедает головастиков и лягушат. Значение наземных организмов в питании озёрной лягушки значительно больше, чем водных, наземные корма составляют от 68 до 95 % от общего числа всех кормов, среди них летающие формы — 27% (Ноздрачев, 1994; Писанец, 2007; Файзулин и др., 2010).

Своеобразна активность самок. Весной они начинают кормиться позже молодых и самцов, но наибольшая степень наполнения желудков у них отме-

чена во второй половине мая. С этого времени активность их начинает снижаться и к концу августа мало отличается от активности самцов. В среднем наибольшей активностью добывания корма в течение лета отмечаются молодые неполовозрелые лягушки, у самцов активность питания почти в два раза меньше чем у самок (Белова, 2009).

По мере понижения температуры окружающей среды снижается активность животных, и они уходят в зимнюю спячку. Зимняя спячка – сложная последовательность взаимосвязанных изменений в организме лягушки, которое выработалось как приспособительная реакция на снижение организма на понижение температуры или влажности. Процессы жизнедеятельности во время зимнего сна не прекращаются, но резко замедляются. Потребление O_2 снижается в 2 раза, а выделение углекислого газа при $0^\circ C$ – 20 раз. На севере на зимовку уходят на дно водоемов в сентябре-октябре, в южных районах – в ноябре-декабре. В незамерзающих водоемах на юге могут быть частично активны всю зиму. Как правило активность прекращается при температуре воды $6-9^\circ C$. Популяции, которые обитают в более северных районах впадают в спячку раньше. Время выхода лягушек с зимовки тоже различно – от конца февраля до начала июня (Банников 1956; Кузьмин, 1999).

ГЛАВА 2. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

1.1. Географическое положение Белгородской области

Белгородская область – регион Российской Федерации, расположен в Центральной России на 500-700 км к югу от Москвы, на границе с Украиной. Белгородская область входит в состав Центрально-Чернозёмного экономического района и Центрального федерального округа Российской Федерации. На юге и западе она граничит с Луганской, Харьковской и Сумской областями Украины, на севере и северо-западе – с Курской областью, на востоке – с Воронежской областью. Общая протяжённость её границ составляет около 1150 км, из них с Украиной – 540 км. Крайние точки Белгородской области ограничиваются следующими координатами: на севере (в Старооскольском районе) – $51^{\circ} 46'$ с. ш., на юге (в Ровеньском районе) – $49^{\circ} 41'$ с. ш., на западе (в Краснояружском районе) – $35^{\circ} 20'$ в. д., и на востоке (в Ровеньском районе) – $39^{\circ} 16'$ в. д. (География Белгородской области, 1996).

Поверхность территории представляет собой несколько приподнятую равнину, по которой проходят юго-западные отроги Орловско-Курского плато Среднерусской возвышенности, расчлененного многочисленными речными долинами и густой овражно-балочной сетью. Это плато – главная водораздельная возвышенность, определяющая речную систему притоков Днепра (реки: Сейм, Псел, Ворскла) от речной системы притоков Дона. Вся территория области изрезана сетью рек бассейнов Северского Донца, Дона и Днепра.

Площадь области составляет 27,1 тыс. км², протяжённость с севера на юг – около 190 км, с запада на восток – около 270 км. Территория области вытянута с северо-запада на юго-восток более чем на 300 км (География Белгородской области, 1996).

Область расположена на юго-западных и южных склонах Среднерусской возвышенности в бассейнах рек Днепра и Дона, в лесостепной зоне на при-

поднятой всхолмлённой равнине. Вся территория изрезана балками (логами), оврагами, по которым разбросаны дубравы, показанные на рис. 2.1.

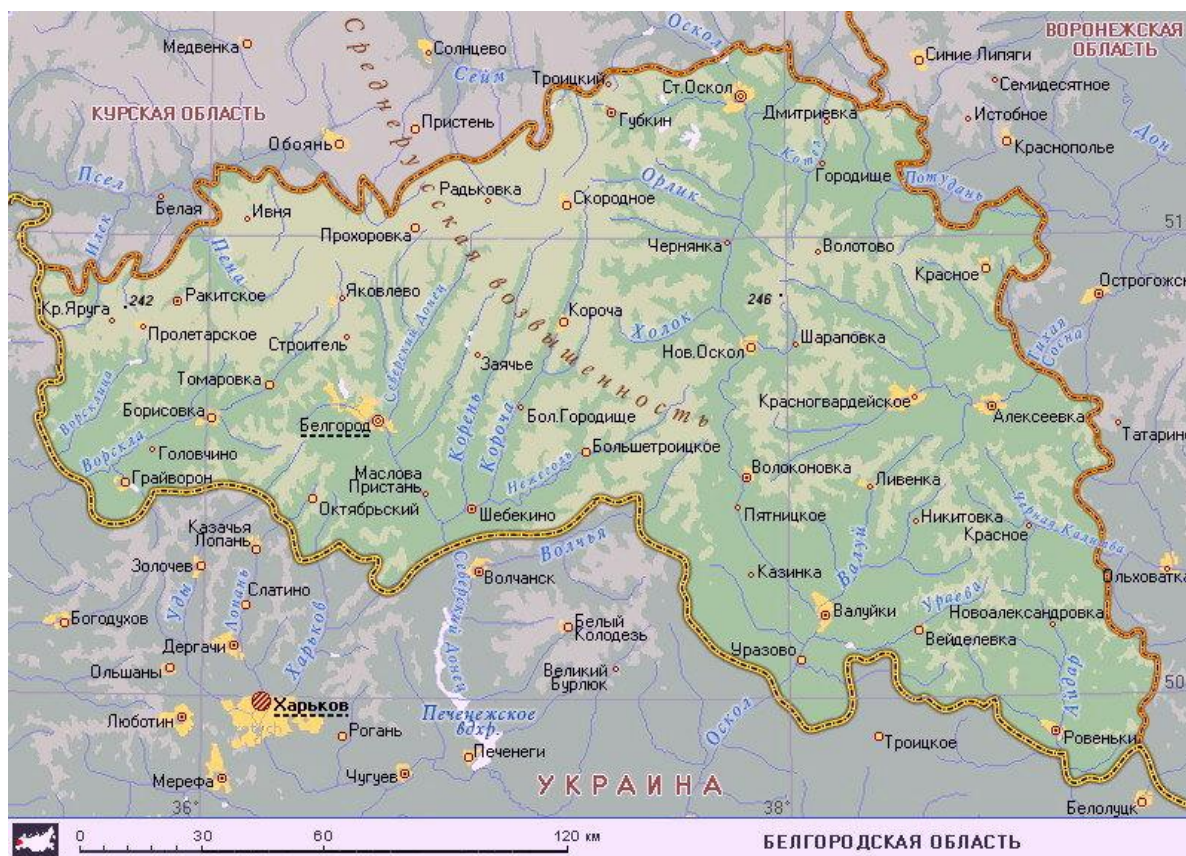


Рис.2.1. Физическая карта Белгородской области

1.2. Геологическое строение и рельеф

Белгородская область расположена в Центральной части Русской равнины в пределах Центрально Чернозёмной зоны. Поверхность территории пологоволнистая и находится на высоте 100-300 метров над уровнем моря. Она расчленена сетью речных долин, оврагов и балок. Превышение водоразделов над днищами крупных речных долин достигают 140-160 м. Большая разница между высотами устьев рек и ручьёв, а так же высокое распространение на территории легко поддающихся размыву горных пород обусловили наличие густой сети оврагов, балок, речных долин.

Оврагами называют отрицательные линейно вытянутые формы рельефа с крутыми обнажёнными склонами и узким дном, по которому протекают временные водотоки.

Балками называют длинные и широкие понижения с пологими задернованными склонами. Они являются конечной стадией развития оврагов.

Рельеф Белгородской области начал формироваться после отступления моря. Это произошло в конце мезозойской эры. В настоящее время на водоразделах залегают пески и супеси, в бортах оврагов и речных долин выходит на дневную поверхность мел.

Территория Белгородской области является водоразделом между водосборными бассейнами Дона и Днепра. Поэтому-то ледник, двигавшийся по Русской равнине в четвертичный период по долинам рек, обошёл территорию области (Лебедева и др., 2008).

Геологическая история области очень сложная. Это объясняется тем, что слагающие её горные породы формировались длительное время. Территория области располагается на Русской равнине, которая размещена на древнейшей геологической структуре – Восточно-Европейской платформе.

Платформа имеет фундамент и чехол. Фундамент сложен прочными горными породами (гранитом, базальтом, диабазом), которые с трудом разрушаются при сильных ударах молотком – они образовались при застывании магматического расплава. В фундаменте платформы вместе с магматическими горными породами залегают также кварциты, гнейсы, мигматиты.

На фундаменте лежит чехол из осадочных пород: песка, мела, мергеля, глины, суглинков. Эти породы легко разрушаются. Самые прочные из них, мел и мергель рассыпаются при лёгком ударе молотком. Осадочные горные породы образовались из частиц минералов, которые сносились водами в море, морские заливы лагуны и здесь осаждались, а мел образовывался из мельчайших ракушек микроорганизмов, которые обитали в морских водоёмах. Частицы этих ракушек содержатся и в мергеле, которые представляют собой смесь

мела с глиной. Суглинки также представляют собой смесь глины с песком, а супеси – песка с глиной.

1.2. Климат и воды

Удалённость области от экватора в среднем на 50° и её географическое положение обуславливают значительную величину солнечной радиации, поступающей на 1 кв. метр горизонтальной поверхности при средних условиях облачности – около 4000 МДж (мегаджоулей).

В зимний период на характер перемещения воздушных масс над территорией области оказывают влияние два фактора: 1) возрастание давления атмосферы с северо-запада на юго-восток на всей территории Центрально-Чернозёмной области; 2) прохождение полосы высокого давления в её юго-восточной части. Первая причина связана с установлением наибольших температурных различий между морем и сушей в результате резкого выхолаживания земной поверхности и образованием горизонтальных потоков воздушных масс на значительной по площади территории, включая и Центрально-Чернозёмную область (Лебедева и др., 2008).

Полоса высокого давления, получившая название «ось Воейкова» в честь её первооткрывателя, русского климатолога А.И. Воейкова, представляет собой отрог сибирского антициклона, возникающего над Восточной Сибирью из-за сильного выхолаживания земной поверхности. В восточных районах она проходит чуть севернее 50-й параллели, по линии Оренбург-Саратов-Борисоглебск, по территории нашей области – в направлении Алексеевка-Валуйки и далее на Харьков-Кишинёв.

Благодаря этим факторам зимой на территории области преобладают восточные ветра, особенно на юго-восточной части, приносящие континентальный воздух умеренных широт.

В летний период над территорией Белгородской области преобладает континентальный воздух умеренных широт, поступающий с западными и се-

веро-западными ветрами. Такой характер атмосферной циркуляции обусловлен тем, что территория оказывается под влиянием восточной части азорского антициклона, смещающегося в летние месяцы на более северные широты вплоть до 50° с. ш.

В переходные сезоны года над территорией области преобладают воздушные массы умеренных широт. В весенние месяцы сохраняется господство ветров восточного происхождения, осенью – западного. Средняя годовая скорость ветра по области составляет $3,8 - 4,8$ м/сек. Туманы наиболее часты в холодное время года, летом они редки и непродолжительны. Наиболее часто туманы отмечаются в утренние часы. Грозы наблюдаются с апреля по сентябрь, в 91% случае – в мае-августе.

Важным климатическим фактором является подстилающая поверхность. В нашем случае она проявляется через характер залегания снежного покрова, рельеф и растительность.

Температурный режим на территории области формируется в результате сложного совместного влияния поступающей солнечной радиации и господствующих воздушных масс. Средняя годовая температура воздуха изменяется от $+5,4^{\circ}$ на севере (Богородицкое Фенино) до $+6,7^{\circ}$ на юго-востоке (Валуйки). Самый холодный месяц у нас – январь. Средняя температура воздуха колеблется от $-9,2^{\circ}$ на севере (Богородицкое Фенино), до $-8,5^{\circ}$ в центральных районах (Белгород) и $-8,1^{\circ}$ на юго-востоке (Валуйки). Безморозный период продолжается в среднем от 154 до 163 дней и зависит от местоположения пункта и наблюдений на местности.

Атмосферные осадки являются важной характеристикой климата. Наибольшее количество осадков выпадает в западных и северных районах области и в среднем составляет 540-550 мм. По мере движения с запада на восток и юго-восток количество осадков постепенно уменьшается. Характерной особенностью для Белгородской области является большое колебание количества выпавших осадков не только в разные годы, но и по сезонам года. За апрель-октябрь на всей территории области выпадает 65 % годового количества.

Первый снег выпадает в октябре-ноябре. Средняя дата выпадения снега на севере области (Богодицкое Фенино) – 9 ноября, а на юго-востоке (Валуйки) – 13 ноября. Продолжительность периода со снежным покровом составляет 120 дней.

Воды: реки, озёра, болота, водохранилища, пруды и подземные воды составляют важную часть природных ресурсов области. Они имеют большое значение для жизни и хозяйственной деятельности населения. Климатические условия, рельеф и другие природные особенности области способствуют широкому распространению поверхностных вод – ручьёв, рек, временных балочных потоков, озёр и болот. Кроме того в области насчитывается свыше 1100 прудов и 4 водохранилища.

Белгородская область имеет сравнительно густую разветвлённую речную сеть. По её территории протекает 480 рек и ручьёв длиной более 3 км, из них 35 имеют длину более 25 км, 70 – от 10 до 25, остальные – менее 10 км. Большинство относится к малым рекам протяжённостью от 10 до 100 км. Длину более км имеют 4 реки: Оскол (220), Северский Донец (110), Ворскла (115), Тихая Сосна (105). Притоками Дона являются 92 реки, притоками Днепра – 39. Общая протяжённость речной сети составляет около 5000 км. Все реки области относятся к равнинному типу. Главная роль в питании рек принадлежит талым водам. К наиболее полноводным рекам относятся Северский Донец, Оскол, Ворскла, Тихая Сосна (Лебедева и др., 2008).

Озёр в области сравнительно немного. В основном они находятся в поймах рек и по своему происхождению являются старицами. В долинах Ворсклы, Северского Донца, Тихой Сосны, Оскола и других рек насчитывается несколько сотен преимущественно малых озёр-стариц. Они имеют вид узких и вытянутых полос длиной от нескольких десятков метров до нескольких км (Петин и др., 2006).

Гораздо больше, чем озёр, в области искусственных водоёмов – прудов (свыше 1100). Водный режим озёр и прудов во многом сходен с речным. Вес-

ной и осенью уровень воды в них повышается. Пруды в основном используются для водоснабжения и в сельском хозяйстве.

Заболоченность территории Белгородской области невелика. Болота распространены главным образом по пониженным днищам речных долин (приречные), в местах выхода ключей у подножия склонов (присклоновые), по краям прудов и пойменных озёр.

Недра Белгородской области хранят в себе значительные запасы подземных вод. Они заключены как в четвертичных, так и дочетвертичных отложениях и залегают на разных глубинах несколькими горизонтами.

1.4. Почвы и растительный покров

Земельные угодья Белгородской области составляют 2713,4 тыс. га. Неоднородность условий почвообразования на территории области привела к формированию различных типов почв, среди которых господствуют чернозёмные – они занимают около 77 % площади. Почти 15% территории занято серыми лесными почвами. На долю других – лугово-чернозёмных, чернозёмно-луговых, солонцов, солодей, пойменных, песчаных, дерново-намытых – приходится лишь около 8 % площади Белгородской области (Шаповалов, 2002).

Белгородская область занимает возвышенную равнину, приподнятую в северной части. По этой причине на водораздельных пространствах грунтовые воды залегают глубоко и не влияют на формирование почв, что так же способствует формированию чернозёмных почв.

Всю территорию области по характеру почвенного покрова делят на три части: 1 – западную лесостепную; 2 – центральную и восточную лесостепную; 3 – юго-восточную степную.

Растительный покров области отражает черты северной лесостепи, для которой характерно чередование лесов с луговой степью, представленных зональной и экстразональной типами растительности. По характеру раститель-

ности область может быть разделена на две части – большую северо-западную (лесостепная зона) и меньшую – юго-западную (степная).

Зональная растительность представлена плакорными дубравами (221 вид – 17,2 % от всей флоры) и степями (211 видов – 16,4%), экстрозональная – лугами (232 вида – 18 %), кустарниками и опушками (161 вид 12,5%), водно-болотными и прибрежными сообществами (184 вида – 14,5 %), фитоценозами меловых обнажений (93 вида – 7,2 %) и синатропными видами (192 вида – 15,0%). В целом флора области насчитывает 1284 вида (Присный, 2004).

Из лесных формаций для области наиболее характерны дубравы. Главными лесообразующими породами являются дуб черешчатый, сосна обыкновенная, липа, клён остролистный, ольха чёрная, осина, берёза. Остальные породы являются сопутствующими. Сосновые боры естественного происхождения изредка встречаются на песках надпойменных террас. Наиболее крупные участки сосновых боров расположены по рекам Оскол, Ворскла, Северский Донец и Нежеголь.

Луговая растительность распространена по поймам рек – главным образом вдоль левых низменных берегов. Основу лугового разнотравья составляют злаковые и бобовые растения с богатой примесью лугово-степного разнотравья и осок. Для водной флоры характерно расположение её в водоёмах отдельными поясами.

Растительность песков также разнообразна. К песколюбам, или псаммофитам, можно отнести: лапчатку гусиную, бурачек Гмелина, проломник северный, крупку сибирскую, гулявник изменчивый, веронику колосистую, дубровник и др.

Близость мела по всей территории Белгородской области играет особую роль в распространении ксерофитной травянисто-кустарниковой флоры области. Это – темьянники, иссопники и «Сниженные Альпы».

ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сбор материала проводился с апреля по август 2016 года. Для решения поставленных задач было собранно 78 особей из 6 выборок (три выборки с р. Разумная, по одной выборке с рек С. Донец и Везёлка и одна выборка с искусственного водоёма пос. Дубовое) Белгородского района. Подробное описание мест сбора представлены в таблице 3.1 и на рисунке 3.1. Животных отлавливали гигроскопическим сочком.

Таблица 3.1

Пункты сбора

Пункт	Описание пункта	Координаты	Количество особей
1. «Центральный пляж»	г. Белгород. Центральный пляж города. Примыкает к Ж/д вокзалу. Р. Северский Донец.	50°35'31.5"N 36°36'35.6"E	15
2. «Разумная – 1»	Белгородский район, пос.Разумное. Вблизи свинокомплекс. Местность болотистая. р. Разумная.	50°32'48.8"N 36°41'26.6"E	15
3. «Разумная – 2»	Белгородский район. Сильное загрязнение воды ТБО. Вода имеет характерный запах. Р. Разумная	50°31'48.0"N 36°38'59.5"E	14
4. «Севрюково»	Белгородский район. Окрестность с. Севрюково. Проходит трасса. Течение быстрое. Вода прозрачная. р. Разумная	50°36'55.3"N 36°46'21.9"E	12
5. «Дубовое»	Белгородский район. Пос. Дубовое. Лесопарковая зона отдыха. Купель.	50°32'00.3"N 36°34'59.8"E	12
6. «Везёлка»	г. Белгород. р. Везёлка. Течение среднее. Вода сильно загрязнена. На месте сбора были встречены трупы рыбы и птицы (утка).	50°35'52.8"N 36°33'37.1"E	10

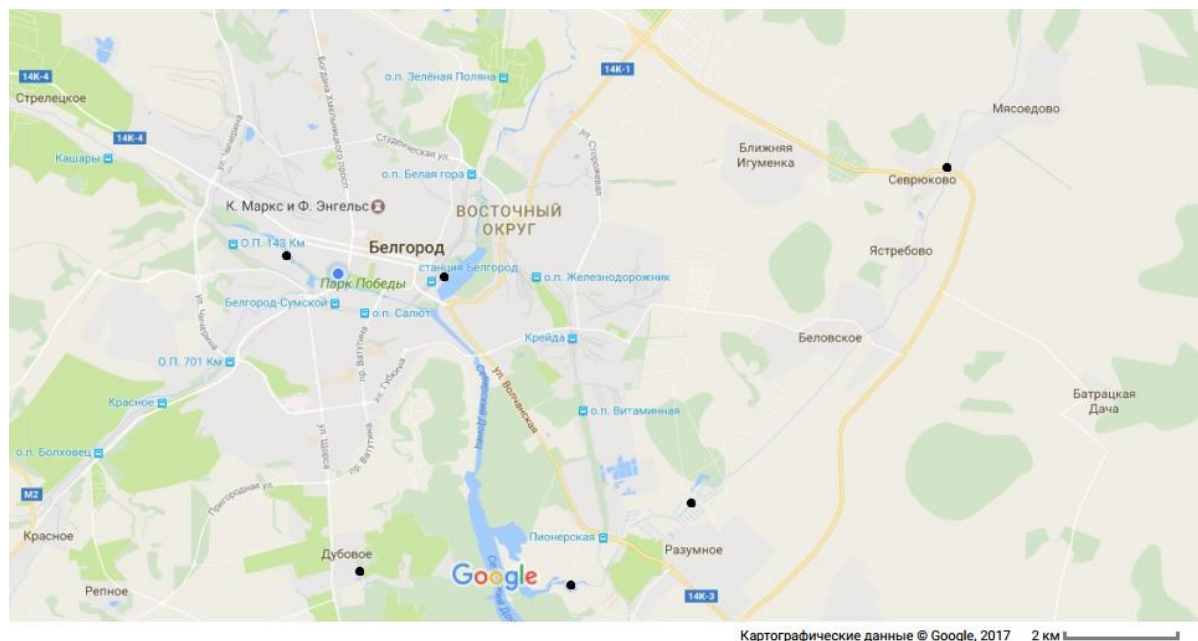


Рис. 3.1. Пункты сбора

Собранные лягушки, как правило, обрабатывались в день сбора. Наиболее распространенным способом фиксации является разрушение спинного мозга. Спинной и головной мозг разрушают, не производя удаления головы, для чего вводят зонд в позвоночный канал в области сочленения I позвонка с костями черепа. Были сняты промеры и проведено вскрытие животных. Во избежание денатурации белка вскрытие проводилось на холоде (для этого использовали холодильные элементы). Для электрофоретического метода разделения белков была отобрана мышечная ткань. Пробы хранили в при температуре $-10, -20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, в таких условиях ферменты сохраняют свою активность в течении нескольких месяцев. Для метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток были отобраны по 5 особей с 2 точек с. Севрюково ($50^{\circ}36'55.3''\text{N } 36^{\circ}46'21.9''\text{E}$) и р. Разумная ($50^{\circ}31'48.0''\text{N } 36^{\circ}38'59.5''\text{E}$).

3.1. Морфометрический анализ

Для объективной и количественной характеристики бесхвостых земноводных принята следующая систем промеров, которая включает в себя 15 показателей (рис. 3.2):

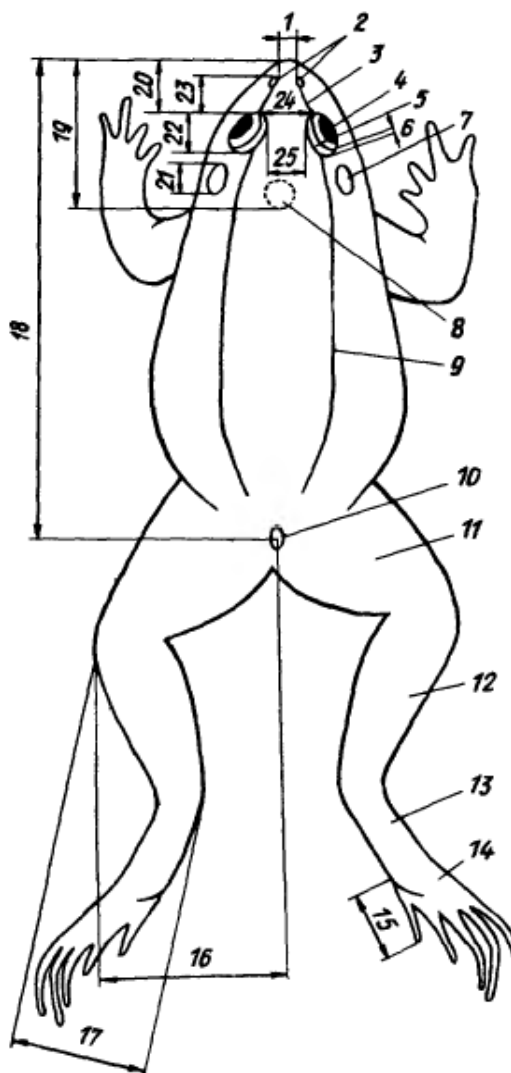


Рис. 3.2. Тело лягушки с основными промерами (авт. Ноздрачев А. Д.):
 1 – spatium naris, 2 – nares, 3 – canthus rostralis, 4 – oculus, 5 – palpebral sup.,
 6 – latitudo palpebrae, 7 – membrana tympani, 8 – for occipitale magnum, 9 – gl.
 dorsolat., 10 – anus, 11 – femur, 12 – crus, 13 – tarsus, 14 – pes, 15 – digitus pri-
 mus, 16 – longitudofemoris, 17 – longitudo tibiae, 18 – longitudocorporis, 19 – lon-
 gitudocapitis, 20 – distantiarostri oculi, 21 – longitudo tympani, 22 – longitudo oculi,
 23 – distantia naris oculi, 24 – spatium canthi rostralis, 25 – spatium palpebralis.

1. L. (Longitudocorporis) — расстояние от кончика морды до центра кло-
 акального отверстия (животное положить брюхом на ровную поверхность,
 придавливая пальцем в области крестца);

2. L. c. (Longitudocapitis) — расстояние от кончика морды до края затылоч-
 ного отверстия (прощупать через кожу);

3. Lt. c. (Latitudocapitis) — максимальная ширина головы у основания ниж-
 них челюстей;

4. D. г. о. (*Distantiarostrioculi*) — расстояние от кончика морды до переднего края глаз;
5. Sp. с. г. (*Spatiumcantirostrales*) — расстояние между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза;
6. D. н. о. (*Distantianasaleoculi*) — расстояние от ноздри до переднего края глаза;
7. L. о. (*Longitudooculi*) — наибольшая длина глазной щели;
8. Lt. p. (*Latitudopalpebrae*) — наибольшая ширина верхнего века;
9. Sp. p. (*Spatiumpalpebralis*) — наименьшее расстояние между внутренними краями верхних век;
10. Sp. н. (*Spatiumnasale*) — расстояние между ноздрями;
11. L. tym. (*Longitudotympani*) — наибольшая длина барабанной перепонки;
12. F. (*Longitudofemoris*) — длина бедра от клоакального отверстия до наружного края сочленения (измерять на согнутой конечности);
13. T. (*Longitudotibiae*) — длина голени (измерять на согнутой конечности);
14. D. p. (*Primusdigitus*) — длина первого пальца задней ноги от дистального основания внутреннего пяточного бугра до конца пальца;
15. C. int. (*Callusintemus*) — наибольшая длина внутреннего пяточного бугра в его основании.

3.2. Электрофорез ферментов в полиакриламидном геле (ПААГ)

Электрофорез проводили в камере VE-20 (Helicon, Россия) в вертикальных пластинках полиакриламидного геля (ПААГ) по методике Мауера (1974) и Остермана (1981).

От замороженных проб отщипывали кусочек массой около 20 мг. Ткань гомогенизировали ступкой в 40% растворе сахарозы с добавлением бромфенолового синего (краситель используется в качестве метки, благодаря которой можно следить за окончанием фореа).

Полученную суспензию замораживали в течении суток, затем центрифугировали в течении 40 минут при 8000 об/мин. и температуре 5 °С.

Электрофорез проводили в 10%-ном полиакриламидном разделяющем геле. ПААГ состоит из 2 слоев: верхний крупнопоровый (концентрирующий) гель, предназначен для концентрации водорастворимых белков на одном исходном уровне, перед началом разгонки; нижний мелкопоровый (разделяющий) гель, в котором непосредственно происходит разгонка белков.

В обе кюветы камеры заполняли 10%-ном полиакриламидном разделяющем гелем (табл. 3.2), затем осторожно сверху пипеткой наслаивали дистиллированную воду. Полимеризация нижнего геля происходит в течение 30-40 минут. Для инициации полимеризации использовали персульфат аммония и тетраметилэтилендиамин (ТЕМЭД). Появление четкой границы между гелем и дистиллированной водой свидетельствует об окончании реакции полимеризации. По завершении реакции отобрали воду фильтровальной бумагой. Затем в кювету долили раствор для крупнопорового геля, погрузили гребёнки для формирования лунок в геле. Верхний концентрирующий гель полимеризовался в ходе фотохимической реакции в присутствии рибофлавина. Время полимеризации на свету составляет 10-20 минут.

Для дальнейшего проведения электрофореза использовали электродный Трис-глициновый буфер $pH=8,3$. Схемы приготовления растворов для электрофореза приведены в таблицах 3.2, 3.3.

В готовые в геле лунки, под буферный раствор вносили 15 мкл гомогената. Затем подключали источник питания. Продолжительность электрофореза составляло 3-4 часа при напряжении 200 В и температуре среды $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Электрофорез считается законченным только после того, как метка выходила в буфер и проходило ещё 10-15 минут для разгонки белков. Иначе аллели могли оказаться сближенными, что затрудняло прочитывание блоков.

По окончании электрофореза блоки вынимали. Проводили окраску на ферменты.

Таблица 3.2

Исходные компоненты для электрофореза изоферментов

Раствор	Составляющие компоненты	Количество вещества
А рН = 8,9	НСI (1 н раствор)	48 мл
	Трис	36,6 г
	Вода	до 100 мл
В рН = 6,7	НСI (1 н раствор)	48 мл
	Трис	5,98 г
	Темед	0,46 мл
	Вода	до 100 мл
С	Акриламид	28 г
	Бисакриламид	0,735 г
	Вода	до 100 мл
Д	Акриламид	10 г
	Бисакриламид	2,5 г
	Вода	до 100 мл
Е	Рибофлавин	4 мг
	Вода	до 100 мл
F	Сахароза	40 мг
	Вода	до 100 мл
Электродный буфер рН = 8,3	Трис	2,9 г
	Глицин	13,8 г
	Вода	до 1,2

Окрашивание на эстеразы проводили по следующей схеме (Корочкин и др. 1977; Лойда и др. 1982). Гель инкубировали в 3% растворе борной кислоты в течении 15 минут. Далее гель выдерживали в растворе 0,1 М буфера Tris-НСI рН 7,8 с добавлением α -нафтилацетата и красителя прочного красного (FastRed) (Корочкин и др., 1977).

Для проявления малатдегидрогеназы гель выдерживали в темноте в растворе Tris-HCl буфера (pH=8,4) с присутствием связывающего исследуемый субстрат НАД, нитросинеготетразолия (НСТ), катализатора феназинметасульфата (ФМС) и малата натрия в течении 1-2 часов.

Для выявления супероксиддисмутазы производили последовательное чередование инкубации в темноте в растворе калий-фосфатного буфера (pH=7,8), НСТ, ФМС и MgCl₂ и воздействие световых лучей.

Окрашивание лактатдегидрогеназы проводили методом предложенным Серовым, Нечаевым, 1972 г. гелиевые пластинки инкубировали в растворе 0,1 М фосфатном буфере (pH=7,4), НАД, НСТ, ФМС и 1 М лактат натрия.

Таблица 3.3

Объёмы исходных растворов для получения гелей различных концентраций

Концентрация геля (%)	Исходные растворы (мл)			
Мелкопоровый (разделяющий) гель				
Раствор	А	С	Н ₂ О	ПФ
7,5	4,8	8,5	20,8	55 мкл
8,0		9,6		
9,0		10,7		
10,0		11,9		
Крупнопоровый (концентрирующий) гель				
Раствор	В	Д	Е	Ф
	1	3	1	3

Таблица 3.4

Исходные компоненты для ферментативных реакций

Фермент	Составляющие компоненты	Количество вещества
Эстеразы	α -нафтилацетат (растворенный в ацетоне)	10 мг
	Прочный красный TR	3 мг
	0,1 М буфер Tris-HCl pH 7,8	100мл
Супероксиддисмутаза	НТС (тетразольнитросиний)	15 мг
	ФМС (феназинметасульфат)	15 мг
	MgCl ₂	20 мг
	0,1 М буфер калий-фосфатный pH=7,8	100 мл
Малатдегидрогеназа	НТС	15 мг
	ФМС	15 мг
	NAD	20 мг
	Малат натрия	40 мг
	0,1 МБуферTris-HCl (pH=8,4)	100 мл
Лактатдегидрогеназа	NAD	15 мг
	НТС	15 мг
	ФМС	20 мг
	1 М лактат натрия	20 мл
	0,1 М фосфатный буфер (pH=7,4)	100 мл

3.3. Метод щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (метод ДНК-комет)

Метод ДНК-комет, позволяющий определять уровень повреждений и репарации ДНК в отдельных неделящихся ядросодержащих клетках, впервые был разработан шведскими исследователями Остлингами Йохансоном в 1984 г. Главными достоинствами метода являются чувствительность, низкая стоимость, невысокие требования к количеству материала и относительная простота метода (Henderson 1998).

Данный метод основывается на различной подвижности ДНК и возможных фрагментов ДНК лизированных клеток, находящихся в агарозном геле при действии постоянного электрического поля. Находящаяся в геле ДНК начинает миграцию от катода к аноду, формируя при этом электрофоретический след, который напоминает «хвост кометы».

Для проведения эксперимента в каждую группу взяли по 5 особей. В качестве материала использовали печень, так, как печень является основным органом биотрансформации ксенобиотиков и обладает высокой чувствительностью к действию генотоксикантов.

Печень (150-200 мг ткани) измельчали на льду, после чего перенесли в стеклянные пробирки с 3 мл охлажденного до 4 ± 0.5 °C фосфатно-солевого буфера [pH 7.5], содержащего 20 mM EDTA-Na₂ и 10% ДМСО (ФСБ+), дважды отмывали от клеток крови и раздавливали стеклянной палочкой в свежем буфере. Для осаждения крупных фрагментов ткани пробирки выдержали 5 минут при комнатной, после чего перенесли 1,5 мл верхнего слоя в микроцентрифужные пробирки и центрифугировали при 1000 g в течение 10 минут. Супернатант удалили, осадок клеток развели в 1 мл охлажденного буфера.

Далее готовили предметные стёкла. В стеклянный флакон с 10 мл бидистиллированной воды вносили 100 мг универсальной агарозы ($T_{пл} < 65 \pm 0.5$ °C). Флакон с агарозой ставили в химический стакан на 50 мл, в котором налита дистиллированная вода, так, чтобы она наполовину закрыла агарозный раствор. Взвесь поместили в микроволновую печь на 2 минуты 30 секунд при

мощности 150 W. Прозрачность геля проверяли на свету. На поверхности плитки нагретой до температуры 65 °С распределили стёкла. Так же на плиту поставили флакон с агарозным гелем. Дозатором наносили 150 мкл агарозного геля, наконечником дозатора плашмя растягивали гель по всей поверхности. Обязательно контролировали полное заполнение всей поверхности агарозой. На каждое стекло использовали новый наконечник. Стёкла переносили на плоский планшет. По истечении 2 часов агароза затвердевала.

Для получения микропрепаратов готовили 1-% раствор легкоплавкой агарозы ($T_{пл} < 42 \text{ } ^\circ\text{C}$) в ФСБ. Полученный гель перенесли по 240 мкл в микроцентрифужные пробирки помещенные в твердотельный термостат при $T = 42 \text{ } ^\circ\text{C}$. Стёкла разложили на разогретую до 42 °С поверхность плиты. В микроцентрифужные пробирки вносили 60 мкл клеточной суспензии и прокачали два раза дозатором. Затем в центральную часть предметного стекла нанесли 60 мкл полученного агарозного геля с клеточной суспензией и накрыли покровным стеклом, не допуская образования пузырей. Предметные стёкла перенесли на элемент холода на 10 минут, после аккуратно сняли покровные стёкла.

Все последующие манипуляции проводились в затемнённом помещении при свете желтой лампы.

Стёкла залили охлаждённым до 4 °С лизирующим раствором и поместили в холодильник. Лизис проводили не менее 1 часа. По окончании лизиса, стёкла вынули.

Для проведения электрофореза использовали камеру для горизонтального электрофореза. Предметные стёкла расположили на поверхности камеры. В камеру залили раствор для электрофореза, с начала в углубление емкости около минуса, потом около плюса, пока раствор полностью не покроет стёкла на 2-3 мм. Электрофорез проводили в течении 20 минут, напряжение подбирали из расчета 1В/ 1 см. По окончании электрофореза препараты фиксировали 70-% этанолом в течении 15 минут.

Для окрашивания препаратов использовали водный раствор красителя SYBR Green (в соотношении 1:10000). Окрашенные препараты анализировали

на люминесцентном тринокулярном микроскопе МИКМЕД-2. Сфотографированные ядра подразделяли на 5 типов в зависимости от степени разрушения ДНК. На каждом препарате исследовали не менее 100 ядер. Степень разрушения ДНК определяли по индексу «ДНК-комет».

3.4. Методы статистической обработки

Результаты, полученные при проведении исследования были обработаны стандартными методами вариационной статистики с использованием специальных программ на персональном компьютере (Животовский, 1991; Плотинский, 1970; Снегин, 2016).

Средняя арифметическая – величина, которая вычисляется как сумма всех чисел делённое на их количество:

(3.4.1)

$$M = \frac{\sum V}{n}$$

где, М – средняя арифметическая; \sum - знак суммирования; V – дата, результат первичного измерения признака у каждого объекта в исследуемой группе; n – число объектов в группе.

Ошибка средней арифметической вычисляется по следующие формуле:

(3.4.2)

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

где, σ – среднее квадратическое отклонение; n – объём выборки.

Среднее квадратическое отклонение – это показатель, который отражает степень разнообразия по изучаемому признаку:

(3.4.3)

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (V - M)^2}{n - 1}}$$

где, σ – среднее квадратическое отклонение, V – дисперсия, M – средняя арифметическая, $n-1$ – число степеней свободы, равное числу объектов в группе без одного.

Зависимость между признаками оценивали с помощью коэффициента корреляции:

$$r = \frac{\sum a_x * a_y}{\sqrt{\sum a_x^2 * \sum a_y^2}} \quad (3.4.4)$$

где, $a_x = V_x - M_x$ и $a_y = V_y - M_y$

Ошибка коэффициента корреляции:

$$m_r = \sqrt{\frac{1 - r^2}{n - 2}} \quad (3.4.5)$$

где, r^2 – коэффициент корреляции в квадрате; n – число пар значений для вычисления коэффициента корреляции.

Ожидаемая гетерозиготность:

$$H_e = 1 - \sum p_i^2 \quad (3.4.6)$$

где, p_i – частота i -аллеля.

Коэффициент инбридинга:

$$F = 1 - \frac{H_0}{H_e} \quad (3.4.7)$$

Информационная мера разнообразия (индекс Шеннона-Уивера):

$$I_{sh} = -\sum p_i \ln p_i \quad (3.4.8)$$

где, p_i – частота i -аллеля

Эффективное число аллелей:

$$N_e = \frac{1}{1 - H_e} \quad (3.4.9)$$

Достоверность полученных данных оценивалось по критерию Фишера для малочисленных выборок:

$$F = \frac{(M_1 - M_2)^2 \times (n_1 + n_2 - 2)}{C_1 + C_2} \times \frac{n_1 \times n_2}{n_1 + n_2} \quad (3.4.10)$$

где, F – критерий достоверности по Фишеру; $M_1 - M_2$ – разность средних арифметических; n_1 и n_2 – объемы выборок; C_1 и C_2 – дисперсия центральных отклонений первой и второй выборок.

Достоверность выборочного коэффициента корреляции и различия ИДК между пунктами определяли критерием Стьюдента:

$$t_d = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \geq t_{st} \quad (3.4.11)$$

Для обработки данных метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (Метод ДНК-комет) используется индекс «ДНК-комет», который рассчитывается по формуле:

$$\text{ИДК} = \frac{(0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4)}{\Sigma} \quad (3.4.12)$$

где, $n_0 - n_4$ – число «ДНК-комет» каждого типа, Σ – сумма подсчитанных «ДНК-комет».

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Фенетическая структура популяций

По литературным данным известно, что морфа «striata» статистически достоверно доминирует в популяциях озерной лягушки обитающих на урбанизированных территориях (Вершинин, Ковылина, Лада) городов Урала, Предкавказья (Пескова), Самарской (Файзулин) и Ульяновской (Спирина) областей. За пределами России, в Болгарии, увеличение доли полосатых особей озерной лягушки отмечается для популяций г. Пловдива (Желев). В тоже время в популяциях, обитающих в чистых водоемах преобладают бесполосые особи (Уоллес).

Наше исследование подтверждает литературные данные (табл. 4.1). Наибольшее число особей с наличием дорсомедиальной полосой, обозначаемой как морфа «striata» (рис. 4.1) отмечено в пунктах «Разумная – 2», «Центральный пляж», «Разумная – 1». Максимальное количество особей с отсутствующей дорсометральной полосой (морфа «maculata», рис. 4.2) отмечено в пунктах «Севрюково» и «Дубовое».

Таблица 4.1

Соотношение морф популяций лягушки озерной

Пункты	Фенотипы (Морфы)	
	Striata,%	Maculata,%
«Центральный пляж»	86,6	13,4
«Разумная – 1»	80	20
«Разумная – 2»	92,8	7,2
«Севрюково»	41,6	58,4
«Дубовое»	33,3	66,7
«Везёлка»	70	30



Рис. 4.1. Морфа Striata



Рис. 4.2. Морфа Maculata

4.2. Морфометрические показатели

4.2.1. Однофакторный дисперсионный анализ

По результатам проведенного однофакторного дисперсионного анализа морфометрических признаков можно сделать вывод о том, что по большинству показателей наблюдается достоверная дифференциация популяций, что свидетельствует о неоднородности, условий обитания и отчасти о генетической изоляции между изучаемыми группами (рис. 4.3).

Таблица 4.2

Результаты однофакторного дисперсионного анализа
метрических признаков

Признак	Источник изменчивости	SS	df	MS	F	P
L.	Между группами	3128,39	5	625,68	3,17	0,012
	Внутри групп	14023,55	71	197,51		
L.c.	Между группами	315,3905	5	63,08	2,54	0,036
	Внутри групп	1763,46	71	24,84		
Lt.C.	Между группами	464,49	5	92,9	4,47	0,0013
	Внутри групп	1476,18	71	20,8		
D.r.o.	Между группами	61,58	5	12,31	2,72	0,026
	Внутри групп	321,09	71	4,52		
Sp.c.r.	Между группами	104,7	5	20,94	5,21	0,0004
	Внутри групп	285,1	71	4,015		
D.n.o.	Между группами	16,0	5	3,2	2,06	0,08
	Внутри групп	109,99	71	1,55		
L.o.	Между группами	27,25	5	5,45	2,05	0,082
	Внутри групп	188,82	71	2,66		
Lt.p.	Между группами	13,4	5	2,68	1,52	0,192
	Внутри групп	124,67	71	1,75		

Продолжение таблицы 4.2

Признак	Источник изменчивости	SS	df	MS	F	P
Sp.p.	Между группами	5,84	5	1,17	1,31	0,267
	Внутри групп	63,14	71	0,89		
Sp.n.	Между группами	3,34	5	0,67	1,39	0,236
	Внутри групп	34,01	71	0,47		
L.tym.	Между группами	12,4	5	2,48	1,68	0,151
	Внутри групп	104,8808	71	1,48		
F.	Между группами	838,02	5	167,6	4,15	0,002
	Внутри групп	2869,77	71	40,42		
T.	Между группами	680,94	5	136,19	2,64	0,03
	Внутри групп	3659,05641	71	51,53601		
D.p.	Между группами	68,63	5	13,73	3,26	0,01
	Внутри групп	298,35	71	4,2		
C.int.	Между группами	4,64	4	1,16	1,58	0,19
	Внутри групп	45,47	62	0,73		
Масса тела	Между группами	5865,61	5	1173,13	2,27	0,056
	Внутри групп	36665,92	71	516,42		
Индекс печени	Между группами	0,003414	5	0,0007	5,92	0,0001
	Внутри групп	0,008185	71	0,0001		

Продолжение таблицы 4.2

Признак	Источник изменчивости	SS	df	MS	F	P
Индекс сердца	Между группами	0,003725	5	0,000745	18,9	$6,65 \times 10^{-12}$
	Внутри групп	0,002798	71	$3,94 \times 10^{-5}$		
Индекс почек	Между группами	$3,46 \times 10^{-6}$	5	$6,91 \times 10^{-7}$	0,35	0,88
	Внутри групп	0,000139	71	$1,96 \times 10^{-6}$		

Примечание: SS – сумма квадратов, df – степень свободы, MS – средний квадрат, F – значения критерия Фишера, P – вероятность критерия Фишера. Здесь и в таблицах 4.3-4.15 L. — расстояние от кончика морды до центра клоакального отверстия, L. с. — расстояние от кончика морды до края затылочного отверстия, Lt. с. — максимальная ширина головы у основания нижних челюстей, D. г. о. — расстояние от кончика морды до переднего края глаз, Sp. с. г. — расстояние между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, D. п. о. — расстояние от ноздри до переднего края глаза, L. о. — наибольшая длина глазной щели, Lt. p. — наибольшая ширина верхнего века, Sp. p. — наименьшее расстояние между внутренними краями верхних век, Sp. п. — расстояние между ноздрями, L. tum. — наибольшая длина барабанной перепонки, 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.

Известно, что по индексам внутренних органов можно оценить состояние организма. На рисунке 4.2 представлены индексы внутренних органов. Так по индексу печени выделяется группа «Центральный пляж», это свидетельствует о ее хорошей кормовой базе, так как запасные питательные вещества депонируются в данном органе. По индексу сердца наименьшие показатели отмечены в пункте «Везелка», а по индексу почек – в пункте «Севрюково». Это говорит о снижении уровня метаболизма у особей в данных группах.

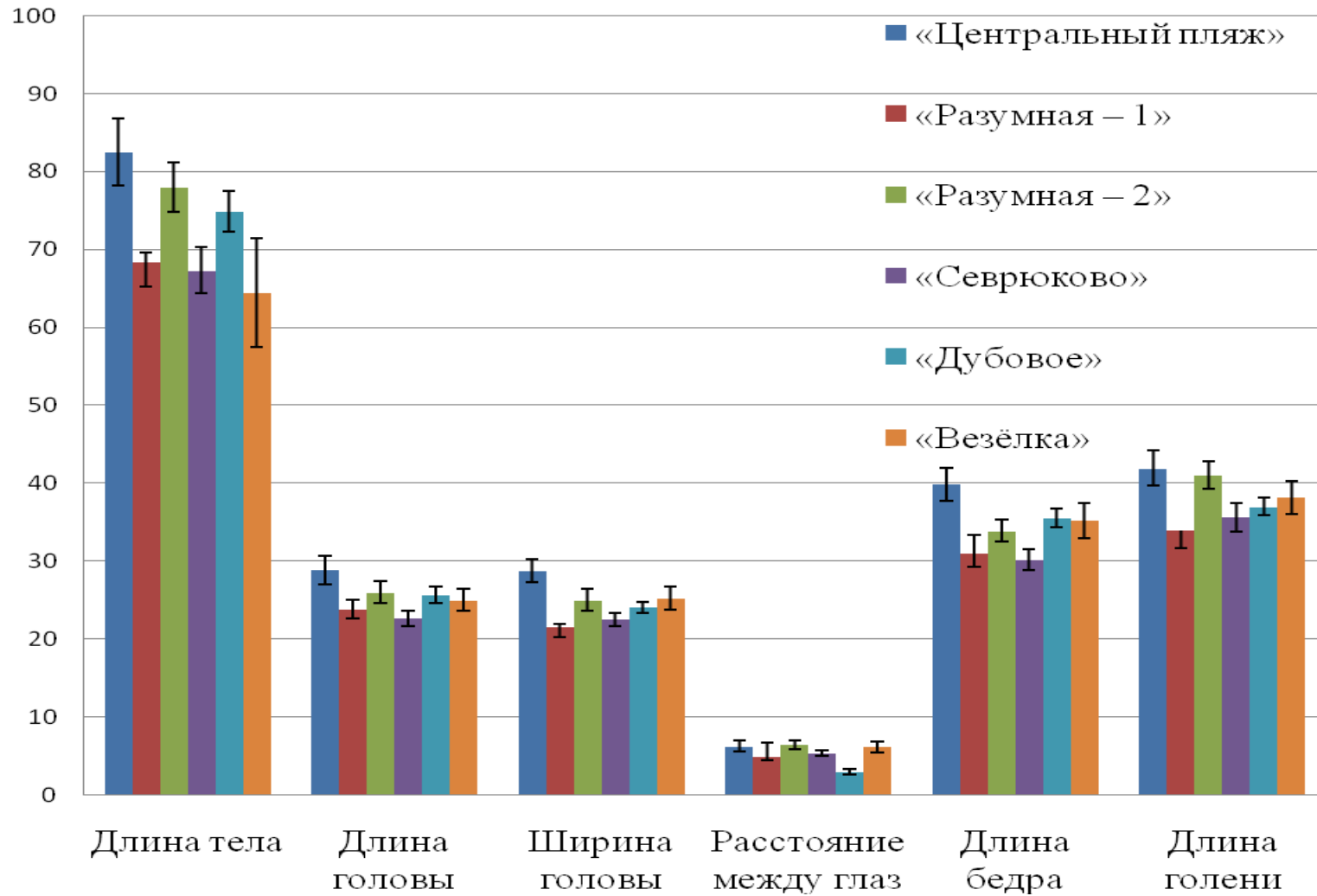


Рис. 4.3 Средние значения основных промеров

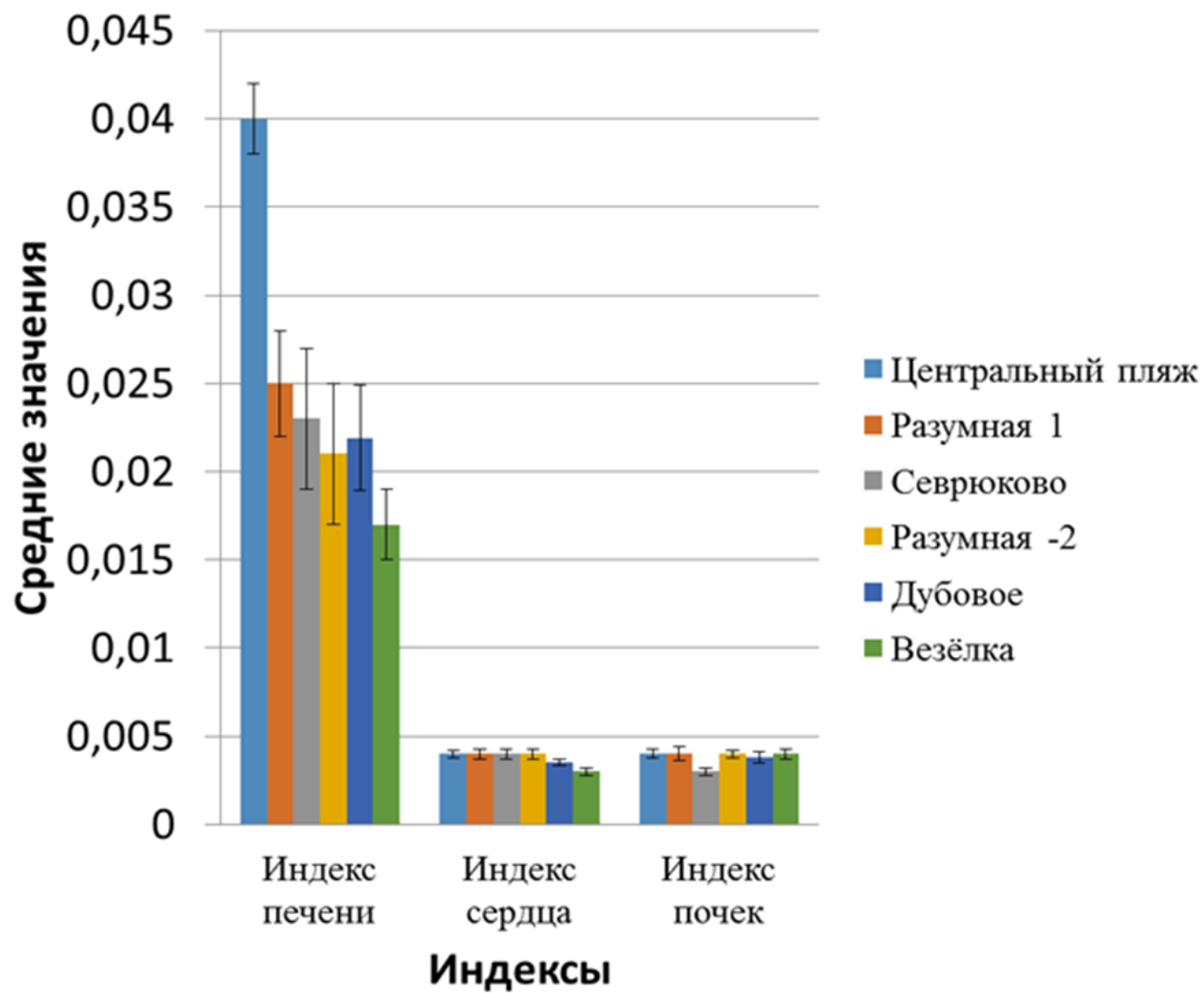


Рис. 4.4. Индексы внутренних органов

Кластерный анализ выборок по морфометрическим данным (рис. 4.5) показал, что изучаемые популяции разбиваются на три группы. В одной оказались выборки «Везёлка», «Севрюково» и «Разумная 1», а в другом – «Дубовое» и «Разумная 2». Обособленный кластер образовала популяция, обитающая в точке сбора «Северский Донец».

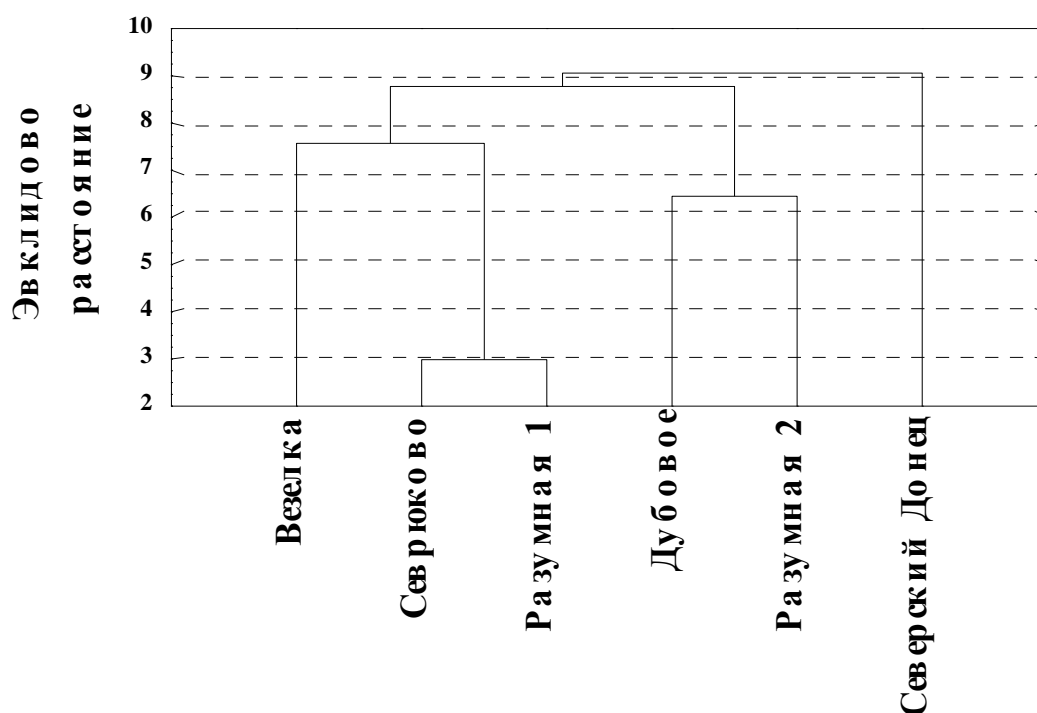


Рис 4.5. Кластерный анализ морфометрических показателей

4.2.2. Корреляционный анализ морфометрических признаков

Анализ полученных данных показал, что по большинству морфометрических признаков наблюдается достоверная корреляция. Однако в некоторых популяциях наблюдаются исключения.

Так, между длиной тела и остальными исследуемыми признаками (табл. 4.3) отсутствует корреляция в пункте «Северский Донец» по длине первого пальца задней ноги; а в пункте «Севрюково» – по расстоянию между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза $Sp.c.r$, а также по расстоянию между ноздрями.

Таблица 4.3

Корреляционный анализ между длиной тела и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
L. С.	0,85±0,14*	0,91±0,12*	0,71±0,2*	0,84±0,16 *	0,9±0,12*	0,67±0,26*
Lt. с.	0,92±0,1*	0,85±0,16*	0,68±0,2*	0,81±0,17*	0,84±0,16*	0,75±0,23*
D.r.o.	0,76±0,18*	0,86±0,15*	0,81±0,16*	0,81±0,17*	0,78±0,19*	0,47±0,31
Sp.c.r.	0,41±0,24	-0,11±0,3	0,71±0,19	0,4±0,27	-0,14±0,19	0,06±0,31
D.n.o.	0,62±0,25*	0,56±0,24*	0,87±0,13*	0,4±0,28	0,64±0,3*	0,34±0,33
L.o.	0,85±0,21*	0,72±0,21*	0,71±0,2*	0,84±0,16*	0,84±0,16*	0,59±0,28
Lt.p.	0,5±0,14	0,5±0,26	0,83±0,15	0,37±0,27	0,31±0,29	0,56±0,29
Sp.p.	0,42±0,24	0,52±0,25	0,85±0,14	0,24±0,29	0,45±0,27	0,49±0,3
Sp.n.	0,53±0,25*	0,31±0,28	0,74±0,18	0,44±0,27	0,6±0,24*	-0,27±0,33
L.tym.	0,66±0,23*	0,8±0,18*	0,76±0,18*	48±0,26	0,66±0,22*	0,46±0,31
F.	0,56±0,2*	0,87±0,14*	0,9±0,12*	0,67±0,22*	0,64±0,23*	0,4±0,32
T.	0,7±0,23*	0,91±0,12*	0,93±0,09*	0,76±0,19*	0,71±0,21*	0,69±0,25*
D.p.	0,24±0,26	0,45±0,26	0,73±0,18	0,52±0,26	-0,23±0,29	0,59±0,28
C.int.	0,81±0,16*	0,77±0,2*	0,87±0,13*	0,78±0,18*	0,57±0,25*	-

Примечание: здесь и в таблицах 4.4 – 4.16. * - достоверные значения по критерию Стьюдента, при $p < 0,05$.

В пункте «Разумная 2» отсутствует корреляция по наибольшей ширине верхнего века и наименьшему расстоянию между внутренними краями верхних век. В пункте «Дубовое» по расстоянию между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, по наибольшей ширине верхнего века и по длине первого пальца задней ноги. В пункте «Везёлка» - по расстоянию между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края

глаза, расстоянию от ноздри до переднего края глаза, а также расстоянию между ноздрями.

Между длиной головы и исследуемыми признаками отсутствует корреляция в следующих пунктах (табл. 4.4): Пункт «Северский Донец»: расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, наибольшей длиной глазной щели, длиной первого пальца задней ноги; пункт «Севрюково»: расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, наибольшей шириной верхнего века, расстоянием между внутренними краями верхних век, расстоянием между ноздрями. «Разумная – 1»: наибольшей шириной верхнего века. «Разумная – 2»: наибольшей длиной глазной щели, наибольшая ширина верхнего века и наименьшее расстояние между внутренними краями верхних век. Дубовое: расстояние между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, расстояние от ноздри до переднего края глаза, наибольшая ширина верхнего века, наименьшее расстояние между внутренними краями верхних век, наибольшей длине барабанной перепонки и по длине первого пальца задней ноги. «Везёлка»: расстояние между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, расстояние между ноздрями.

Между шириной головы и исследуемыми признаками отсутствует корреляция в пунктах (табл. 4.5): пункт «Северский Донец» - наибольшая ширина верхнего века. «Севрюково»: расстояние между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, расстоянием между внутренними краями верхних век, расстоянием между ноздрями и длиной первого пальца задней ноги. «Разумная – 1» - наибольшей шириной верхнего века. «Разумная – 2» - расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, расстоянием от ноздри до переднего края глаза, наибольшей ширине верхнего века. «Дубовое»: расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, наибольшей ширине верхнего века, наименьшее расстояние между внутренними краями верхних век, расстоянием между ноздрями и по длине первого пальца задней ноги.

Таблица 4.4

Корреляционный анализ между длиной головы и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
Lt. c.	0,94±0,1*	0,79±0,18*	0,83±0,15*	0,78±0,19*	0,81±0,17*	0,88±0,16*
D.r.o.	0,85±0,14*	0,87±0,15*	0,76±0,18*	0,43±0,27*	0,85±0,15*	0,73±0,24*
Sp.c.r.	0,46±0,25	-0,05±0,3	0,8±0,17*	0,51±0,26*	0,04±0,3	0,26±0,34
D.n.o.	0,84±0,15*	0,55±0,25*	0,65±0,21*	0,57±0,25*	0,46±0,26	0,61±0,28*
L.o.	0,48±0,24	0,57±0,25*	0,72±0,19*	0,44±0,27	0,91±0,12*	0,64±0,27*
Lt.p.	0,55±0,23*	0,53±0,26	0,5±0,24	0,45±0,27	0,26±0,29	0,77±0,22*
Sp.p.	0,64±0,21*	0,53±0,25	0,79±0,17*	0,46±0,27	0,45±0,27	0,72±0,24*
Sp.n.	0,66±0,21*	0,34±0,28	0,52±0,24*	0,57±0,25*	0,65±0,23*	0,27±0,34
L.tym.	0,8±0,16*	0,85±0,16*	0,73±0,19*	0,6±0,24*	0,52±0,26	0,62±0,28*
F.	0,76±0,18*	0,81±0,18*	0,74±0,19*	0,61±0,24*	0,7±0,21*	0,8±0,21*
T.	0,75±0,18*	0,88±0,14*	0,74±0,19*	0,73±0,2*	0,75±0,2*	0,93±0,13*
D.p.	0,25±0,26	0,65±0,23*	0,56±0,23*	0,64±0,23*	-0,01±0,3	0,76±0,23*
C.int.	0,91±0,12*	0,5±0,26	0,64±0,21*	0,82±0,17*	0,42±0,27	-

Таблица 4.5

Корреляционный анализ между шириной головы и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
D.r.o.	0,78±0,17*	0,76±0,19*	0,7±0,2*	0,78±0,18*	0,81±0,18*	0,69±0,25*
Sp.c.r.	0,52±0,23*	-0,09±0,3	0,84±0,15*	0,43±0,27	-0,17±0,29	0,23±0,34
D.n.o.	0,72±0,19*	0,85±0,19*	0,54±0,23*	0,51±0,26	0,74±0,2*	0,62±0,27*
L.o.	0,61±0,22*	0,77±0,19*	0,67±0,21*	0,57±0,25*	0,89±0,13*	0,67±0,26*
Lt.p.	0,46±0,24	0,68±0,21*	0,41±0,25	0,44±0,27	-0,03±0,3	0,56±0,29
Sp.p.	0,61±0,22*	0,51±0,26	0,63±0,22*	0,46±0,27	0,45±0,27	0,55±0,29
Sp.n.	0,6±0,22*	0,27±0,29	0,69±0,19*	0,57±0,25*	0,3±0,29	0,13±0,35
L.tym.	0,76±0,18*	0,63±0,23*	0,71±0,19*	0,6±0,24*	0,57±0,25*	0,76±0,23*
F.	0,66±0,18*	0,8±0,17*	0,78±0,17*	0,61±0,24*	0,83±0,17*	0,77±0,22*
T.	0,75±0,18*	0,83±0,16*	0,78±0,17*	0,73±0,2*	0,89±0,14*	0,92±0,13*
D.p.	0,33±0,26*	0,5±0,26	0,75±0,18*	0,64±0,23*	-0,11±0,29	0,71±0,25*
C.int.	0,88±0,13*	0,58±0,25*	0,7±0,19*	0,82±0,17*	0,54±0,25*	-

Между расстоянием от кончика морды до переднего края глаз и исследуемыми признаками (табл. 4.6) отсутствует корреляция: пункт «Северский Донец» - расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, наибольшей длиной глазной щели; наименьшим рассто-

яние между внутренними краями верхних век и длиной первого пальца задней ноги. «Севрюково» - расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, наименьшим расстоянием между внутренними краями верхних век и расстоянием между ноздрями. «Разумная – 2» - наибольшей длиной глазной щели, наименьшим расстоянием между внутренними краями верхних век и по длине первого пальца задней ноги. «Дубовое» - расстоянием между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, наибольшей ширине верхнего века, наименьшим расстоянием между внутренними краями верхних век, расстоянием между ноздрями наибольшей длине барабанной перепонки и по длине первого пальца задней ноги. «Везёлка» - расстояние между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза, расстояние между ноздрями, наибольшей ширине верхнего века, наименьшим расстоянием между внутренними краями верхних век; и по длине первого пальца задней ноги.

По расстоянию между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза и исследуемыми признаками (табл. 4.7) корреляция отсутствует: пункт «Северский Донец» - расстоянием от ноздри до переднего края глаза, наибольшей ширине верхнего века, расстоянию между ноздрями, наибольшей длине барабанной перепонки, длине бедра, голени и первого пальца задней ноги. «Севрюково» по всем признакам. «Разумная – 2» - по всем признакам кроме наибольшей длины барабанной перепонки, длины первого пальца задней ноги и наибольшей длины внутреннего пяточного бугра. В пунктах Дубовое и Везёлка по всем признакам.

По расстоянию между расстоянием от ноздри до переднего края глаза и исследуемыми признаками (табл. 4.8) корреляция отсутствует в следующих пунктах.

Таблица 4.6

Корреляционный анализ между расстоянием от кончика морды до переднего края глаз и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
Sp.c.r.	0,33±0,28	0,004±0,3	0,6±0,22*	0,48±0,26	0,14±0,29	0,37±0,33
D.n.o.	0,81±0,16*	0,69±0,22*	0,83±0,15*	0,51±0,26	0,51±0,26	0,49±0,31
L.o.	0,3±0,26	0,55±0,25	0,66±0,21*	0,24±0,29	0,87±0,15*	0,66±0,26*
Lt.p.	0,68±0,2*	0,61±0,24*	0,69±0,19*	0,7±0,21*	0,05±0,3	0,46±0,31
Sp.p.	0,42±0,25	0,44±0,27	0,64±0,21*	0,17±0,29	0,4±0,27	0,4±0,32
Sp.n.	0,7±0,19*	0,35±0,28	0,67±0,2*	0,64±0,23*	0,43±0,27	0,07±0,35
L.tym.	0,59±0,22*	0,67±0,22*	0,64±0,21*	0,53±0,25*	0,34±0,28	0,53±0,29
F.	0,69±0,2*	0,7±0,21*	0,77±0,17*	0,62±0,23*	0,66±0,23*	0,62±0,27*
T.	0,65±0,21*	0,81±0,17*	0,71±0,19*	0,73±0,2*	0,76±0,19	0,87±0,17*
D.p.	-0,29±0,27	0,74±0,2	0,58±0,22*	0,43±0,27	0,17±0,29	0,44±0,31
C.int.	0,75±0,18*	0,53±0,25	0,83±0,15*	0,76±0,19*	0,46±0,26	-

Пункт «Северский Донец» - наибольшей длине глазной щели и длине первого пальца задней ноги. Пункт «Севрюково» - наименьшему расстоянию между внутренними краями верхних век, расстоянию между ноздрями, длине

барабанной перепонки и длине внутреннего пяточного бугра. «Разумная – 2» - наибольшей ширине верхнего века и наименьшему расстоянию между внутренними краями верхних век. «Дубовое» – наибольшей ширине верхнего века, расстоянию между ноздрями и длине бедра первого пальца задней ноги и длине пяточного бугра. «Везёлка» – наибольшей ширине верхнего века и расстояние между ноздрями.

Таблица 4.7

Корреляционный анализ по расстоянию между внутренними краями темных носовых полосок у переднего края глаза и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
D.n.o.	0,13±0,27	0,03±0,3	0,62±0,21*	0,35±0,28	0,09±0,3	-0,1±0,35
L.o.	0,62±0,22*	-0,53±0,25	0,81±0,16*	-0,03±0,3	0±0,3	-0,28±0,33
Lt.p.	-0,23±0,27	0,3±0,29	0,48±0,24	0,42±0,27	0,32±0,28	0,14±0,34
Sp.p.	0,53±0,23*	0,31±0,28	0,71±0,19*	0,08±0,3	0,27±0,29	-0,17±0,34
Sp.n.	0,17±0,27	-0,16±0,29	0,5±0,23	0,35±0,28	0±0,3	-0,41±0,32
L.tym.	0,46±0,24	0,13±0,3	0,87±0,13*	0,55±0,25*	0,08±0,3	0,35±0,33
F.	0,11±0,27	-0,39±0,28	0,88±0,13*	0,19±0,29	-0,37±0,28	-0,13±0,35
T.	0,21±0,27	-0,19±0,29	0,84±0,15*	0,29±0,28	-0,27±0,29	0,28±0,34
D.p.	0,66±0,21*	0,25±0,29	0,77±0,18*	0,59±0,24*	0,45±0,26	0,07±0,35
C.int.	0,42±0,25	-0,12±0,29	0,59±0,22*	0,57±0,24*	-0,41±0,27	-

Таблица 4.8

Корреляционный анализ между расстоянием от ноздри до переднего края глаза и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
L.o.	0,11±0,27	0,58±0,24*	0,64±0,21*	0,59±0,24*	0,52±0,26	0,76±0,22*
Lt.p.	0,68±0,2*	0,81±0,17*	0,91±0,11*	0,43±0,27	0,06±0,3	0,25±0,34
Sp.p.	0,48±0,24	0,29±0,28	0,71±0,19*	0,29±0,28	0,69±0,22*	0,61±0,28*
Sp.n.	0,74±0,18*	0,42±0,27	0,66±0,2*	0,93±0,28*	0±0,3	0,29±0,33
L.tym.	0,76±0,18*	0,36±0,28	0,73±0,18*	0,75±0,19*	0,65±0,23*	0,65±0,26*
F.	0,79±0,16*	0,54±0,25*	0,78±0,17*	0,68±0,22*	0,32±0,28	0,71±0,25*
T.	0,75±0,18*	0,58±0,24*	0,75±0,18	0,71±0,21*	0,54±0,25*	0,64±0,27*
D.p.	0,09±0,27	0,57±0,24*	0,58±0,22*	0,54±0,25*	-0,22±0,29	0,51±0,3
C.int.	0,73±0,19*	0,32±0,28	0,81±0,16*	0,57±0,25*	0,22±0,29	-

По расстоянию между расстоянием от ноздри до переднего края глаза и исследуемыми признаками (табл. 4.9) корреляция отсутствует: пункт «Северский Донец» - по всем признакам кроме длины первого пальца задней ноги и длине внутреннего пяточного бугра в его основании. «Севрюково» - наиболь-

шей ширине верхнего века, наименьшему расстоянию между внутренними краями верхних век, расстоянием между ноздрями, длине первого пальца задней ноги. «Разумная – 2» - наибольшей ширине верхнего века, длине первого пальца задней ноги и длине внутреннего пяточного бугра.

«Дубовое»: наибольшей ширине верхнего века, наименьшему расстоянию между внутренними краями верхних век, длине первого пальца задней ноги.

«Везёлка» – наибольшей ширине верхнего века, расстоянию между ноздрями, длине барабанной перепонки и длине первого пальца задней ноги.

Таблица 4.9

Корреляционный анализ между наибольшей длиной глазной щели и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
Lt.p.	-0,14±0,27	0,25±0,29	0,56±0,23*	0,06±0,3	0,18±0,89	0,48±0,31
Sp.p.	0,37±0,25	0,11±0,03	0,68±0,02*	0,66±0,22*	0,44±0,27	0,76±0,23*
Sp.n.	0,32±0,26	0,33±0,28	0,69±0,22*	0,59±0,24*	0,55±0,25*	0,24±0,34
L.tym.	0,45±0,24	0,53±0,26*	0,85±0,14*	0,68±0,22*	0,61±0,24*	0,46±0,3
F.	0,36±0,26	0,73±0,21*	0,72±0,19*	0,54±0,25*	0,81±0,17*	0,81±0,21*
T.	0,47±0,24	0,59±0,24*	0,65±0,21*	0,57±0,25*	0,87±0,14*	0,75±0,23*
D.p.	0,56±0,22*	0,03±0,3	0,55±0,23*	0,27±0,29	0,01±0,3	0,42±0,23
C.int.	0,57±0,23*	0,59±0,24*	0,64±0,21*	0,42±0,27	0,51±0,26	-

По расстоянию между наибольшей шириной верхнего века и исследуемыми признаками (табл. 4.10): Пункт «Северский Донец» по всем признакам кроме длины внутреннего пяточного бугра в его основании. В пункте «Севрюково» - по всем признакам кроме длины голени и длины первого пальца задней ноги. «Разумная – 1» по длине первого пальца задней ноги. «Разумная – 2» по всем признакам кроме расстояния между ноздрями. Пункт «Дубовое» по всем признакам. «Везёлка» по всем признакам кроме длины голени.

Таблица 4.10

Корреляционный анализ между наибольшей шириной верхнего века и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
Sp.p.	0,02±0,28	0,29±0,28	0,72±0,19*	-0,03±0,3	0,18±0,29	0,83±0,19
Sp.n.	0,36±0,26	0,29±0,28	0,59±0,22*	0,59±0,24*	0,5±0,26	0,27±0,34
L.tym.	0,36±0,25	0,46±0,26	0,61±0,22*	0,37±0,28	0,46±0,26	0,08±0,35
F.	0,18±0,27	0,46±0,27	0,68±0,2*	0,22±0,29	-0,01±0,3	0,55±0,29
T.	0,31±0,26	0,52±0,25*	0,68±0,2*	0,36±0,28	0±0,3	0,62±0,27*
D.p.	-0,27±0,26	0,63±0,23*	0,48±0,24	0,38±0,28	0,23±0,29	0,3±0,33
C.int.	0,55±0,23*	0,37±0,28	0,76±0,18*	0,44±0,27	0,13±0,29	-

По расстоянию между наименьшим расстоянием между внутренними краями верхних век и исследуемыми признаками корреляция отсутствует (табл. 4.11): пункт «Северский Донец» - по всем признакам кроме длины бара-

банной перепонки и длины бедра. В пункте «Севрюково» - по всем признакам кроме длины голени. «Разумная – 1» по длине первого пальца задней ноги. «Разумная – 2» по всем признакам. Пункт «Дубовое» - по всем признакам кроме длины барабанной перепонки. «Везёлка» - по всем признакам кроме длины голени и бедра.

Таблица 4.11

Корреляционный анализ между наименьшим расстоянием между внутренними краями верхних век и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
Sp.n.	0,26±0,27	0,03±0,3	0,51±0,23*	0,17±0,29	0,08±0,3	0,39±0,32
L.tym.	0,68±0,2*	0,41±0,27	0,78±0,17*	0,64±0,23*	0,57±0,24*	0,25±0,34
F.	0,63±0,21*	0,42±0,27	0,76±0,18*	0,47±0,26	0,08±0,3	0,76±0,23*
T.	0,42±0,24	0,59±0,24*	0,83±0,15*	0,47±0,26	0,41±0,27	0,63±0,27*
D.p.	0,38±0,25	0,36±0,28	0,5±0,24	0,49±0,26	-0,28±0,29	0,35±0,33
C.int.	0,44±0,25	0,29±0,28	0,64±0,21*	0,26±0,29	-0,11±0,29	-

По расстоянию между ноздрями и исследуемыми признаками (табл. 4.12) корреляция отсутствует: пункт «Центральный пляж» по длине первого пальца задней ноги. «Севрюково» по всем признакам. «Разумная – 2» по длине первого пальца задней ноги. Пункт «Дубовое» по всем признакам кроме длине внутреннего пяточного бугра. «Везёлка» по всем признакам.

По расстоянию между наибольшей длиной барабанной перепонки и исследуемыми признаками (табл. 4.13). Пункт «Центральный пляж» - по длине первого пальца задней ноги. «Севрюково» - по длине первого пальца задней ноги. Пункт «Дубовое» - по всем признакам.

По расстоянию между наибольшей длиной бедра и исследуемыми признаками (табл. 4.14). Пункт «Центральный пляж» по длине первого пальца задней ноги. «Севрюково» по длине первого пальца задней ноги. Пункт «Дубовое» по длине первого пальца задней ноги.

Таблица 4.12

Корреляционный анализ по расстоянию между ноздрями и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
L.tym.	0,73±0,19*	0,3±0,28	0,66±0,21*	0,73±0,21*	0,32±0,28	-0,15±0,35
F.	0,66±0,21*	0,43±0,27	0,59±0,22*	0,63±0,23*	0,27±0,29	0,51±0,3
T.	0,64±0,21*	0,29±0,28	0,67±0,2*	0,69±0,22*	0,38±0,27	0,16±0,35
D.p.	-0,27± 0,27	-0,01±0,3	0,64±0,21*	0,44±0,27	-0,04±0,3	0,15±0,35
C.int.	0,62±0,21*	0,24±0,29	0,86±0,14*	0,66±0,22*	0,51±0,26	-

По расстоянию между длиной голени и исследуемыми признаками (табл. 4.15). Пункт «Центральный пляж» по длине первого пальца задней ноги. «Дубовое» по всем признакам.

По расстоянию между длиной первого пальца задней ноги и исследуемыми признаками (табл. 4.16) корреляция отсутствует: пункт «Центральный

пляж» - по наибольшей длине внутреннего пяточного бугра. «Севрюково» - по наибольшей длине внутреннего пяточного бугра. «Дубовое» - по наибольшей длине внутреннего пяточного бугра.

Таблица 4.13

Корреляционный анализ между наибольшей длиной барабанной перепонки и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
F.	0,83±0,15*	0,62±0,23*	0,81±0,16*	0,74±0,2*	0,31±0,28	0,61±0,28*
T.	0,88±0,13*	0,59±0,24*	0,79±0,17*	0,76±0,19*	0,42±0,27	0,72±0,24*
D.p.	0,38±0,25	0,34±0,28	0,62±0,22*	0,67±0,22*	-0,41±0,27	0,73±0,24*
C.int.	0,71±0,19*	0,59±0,24*	0,65±0,21*	0,66±0,23*	0,21±0,29	-

Таблица 4.14

Корреляционный анализ между длиной бедра и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
T.	0,86±0,14*	0,91±0,12*	0,92±0,1*	0,91±0,12*	0,85±0,15*	0,81±0,2*
D.p.	0,22±0,27	0,32±0,28	0,82±0,16*	0,53±0,25*	0,15±0,29	0,62±0,27*
C.int.	0,64±0,21*	0,66±0,22*	0,75±0,18*	0,53±0,25*	0,56±0,25*	-

Таблица 4.15

Корреляционный анализ между длиной голени и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
D.p.	0,41±0,25	0,58±0,24*	0,82±0,16*	0,57±0,25*	0,03±0,3	0,72±0,24*
C.int.	0,7±0,20*	0,54±0,25*	0,76±0,18*	0,64±0,23*	0,49±0,26	-

Таблица 4.16

Корреляционный анализ между длиной первого пальца задней ноги и исследуемыми признаками

Признак	Пункты					
	Сев. Донец	Севрюково	Разумная-1	Разумная-2	Дубовое	Везёлка
C.int.	0,22±0,27	-0,01±0,3	0,66±0,21*	0,66±0,22*	-0,06±0,3	-

4.3. Генетическая структура популяции лягушки озерной

Ведущую роль в поддержании гомеостаза организма играют ферменты. Белковая часть фермента может иметь различные варианты аминокислотных последовательности, благодаря этому они могут варьировать по своим физико-химическим свойствам. Называют такие ферменты изоферментами или аллозимами (Market, 1968).

Как правило, изоферменты одного локуса контролируется аллельными вариантами генов, наследуемых по законам Г. Менделя. Открытие в 60-х гг. XX века белкового полиморфизма, позволило получить новую информацию о генотипах. Поэтому следующей стадией нашего исследования была оценка ге-

нетической структуры популяций озерной лягушки. Для этого мы проводили электрофорез ферментов в полиакриламидном геле.

Нами выявлен полиморфизм только по локусу эстераз (рис. 4.7), по остальным исследуемым аллозимам наблюдалась мономорфность.

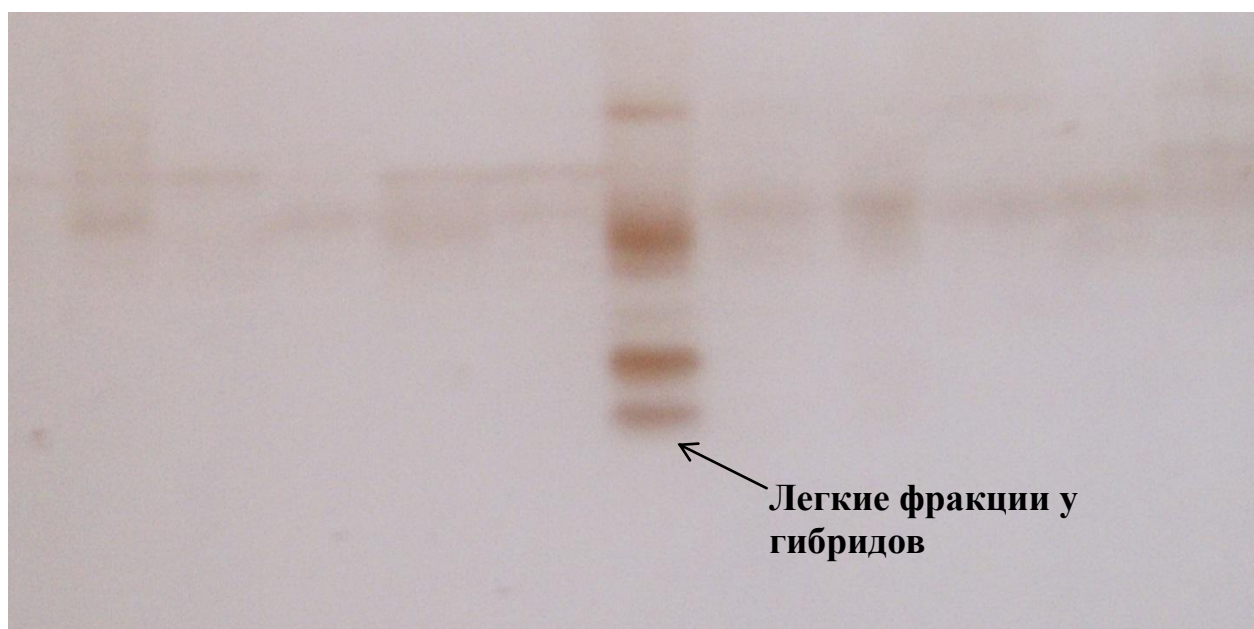


Рис. 4.6. Генотипы гибридных особей

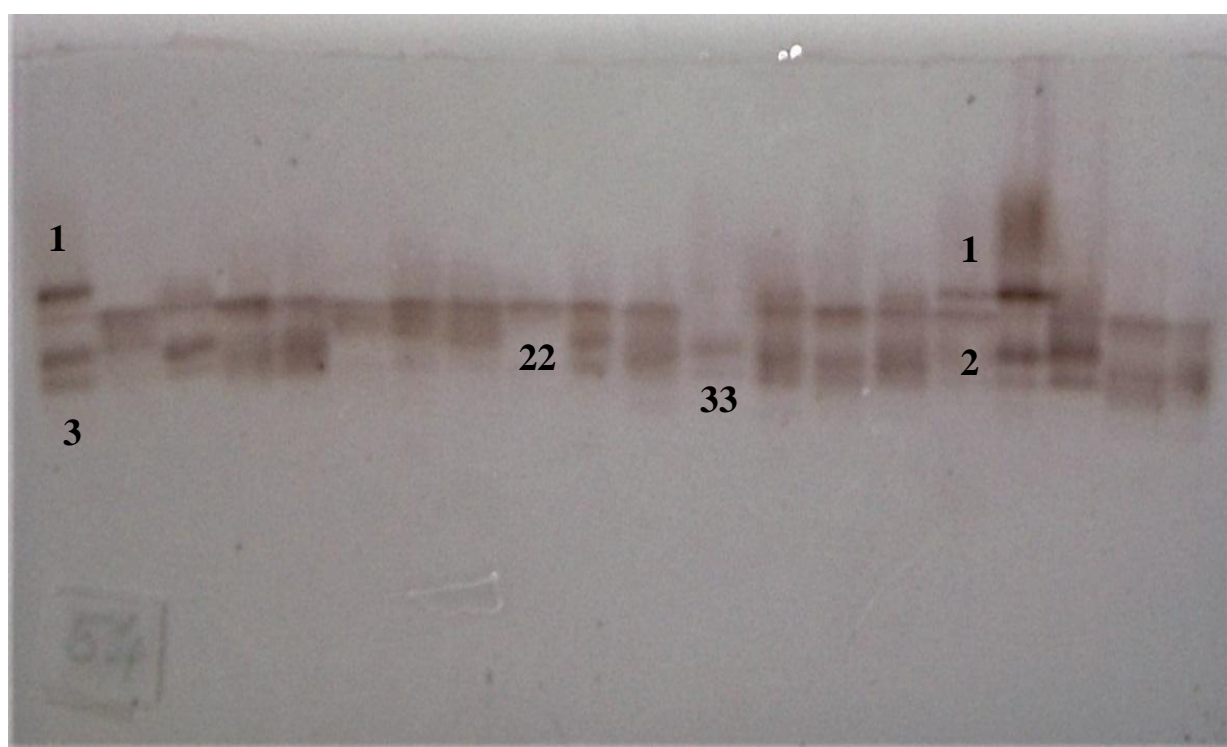


Рис. 4.7. Электрофореграмма EST-1

Кроме того, по неспецифическим эстеразам нами была выявлена интересная особенность. Особи, которые по морфометрическим показателям можно было отнести к гибридам между озерными и прудовыми лягушками отличались наличием новых локусов эстераз в более подвижной фракции (рис.4.6). В общем анализе мы их не учитывали.

В ходе исследования нами было диагностировано 1 локус, наследуемых по кодоминантному типу: EST-1 – с 3 аллелями (рис. 4.7).

Оценка уровня генетической гетерогенности популяций (табл. 4.17) показала, что эффективное число аллелей по всем выборкам составляет в среднем 2,2. Наибольшее значение числа аллелей в выборках наблюдается в точке «Везёлка» - 2,41 и «Разумная – 1» - 2,38.

Индекс Шеннона-Уивера, показывающий разнообразие фенотипов в популяции, на высоком уровне во всех популяциях. Максимальное значение индекса отмечено в пункте сбора «Разумная – 1» - 0,97; а минимальное отмечено в пункте «Дубовое», здесь индекс Шеннона-Уивера составил - 0,72.

Таблица 4.17

Показатели генетического разнообразия популяций

Популяция	N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
«Центральный пляж»	15	3,000	2,273	0,892	0,533	0,560	0,579	0,048
«Разумная – 1»	15	3,000	2,381	0,973	0,467	0,580	0,600	0,195
«Разумная – 2»	14	3,000	2,178	0,876	0,714	0,541	0,561	-0,321
«Севрюково»	12	3,000	2,268	0,907	0,750	0,559	0,583	-0,342
«Дубовое»	12	3,000	1,767	0,723	0,333	0,434	0,453	0,232
«Везёлка»	10	3,000	2,410	0,949	0,600	0,585	0,616	-0,026

Примечание: N – число особей в выборке; Na – среднее число аллелей; Ne – эффективное число аллелей; I – индекс Шеннона; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность; F – индекс фиксации (коэффициент инбридинга).

Наблюдаемая гетерозиготность оказалась выше ожидаемой гетерозиготности в популяциях «Разумная - 2», «Севрюково» и «Везёлка». Наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность популяций «Центральный пляж» и «Разумная – 1» были примерно на одном уровне. В пункте «Дубовое» наблюдаемая гетерозиготность оказалось значительно ниже ожидаемой.

Отрицательные значения коэффициента инбридинга наблюдали в популяциях «Севрюково» = -0,342; «Разумная – 2» = -0,321 и «Везёлка» = -0,026. В пункте «Центральный пляж» коэффициент инбридинга был самым низким и составил 0,048. Максимальное значение наблюдается в популяциях «Разумная – 1» = 0,195 и «Дубовое» = 0,232.

Таким образом, популяции лягушки озерной находятся в стабильном состоянии, о чем говорит отрицательные значения коэффициента инбридинга, высокий уровень индекса Шеннона-Уивера и высокая степень гетерозиготности.

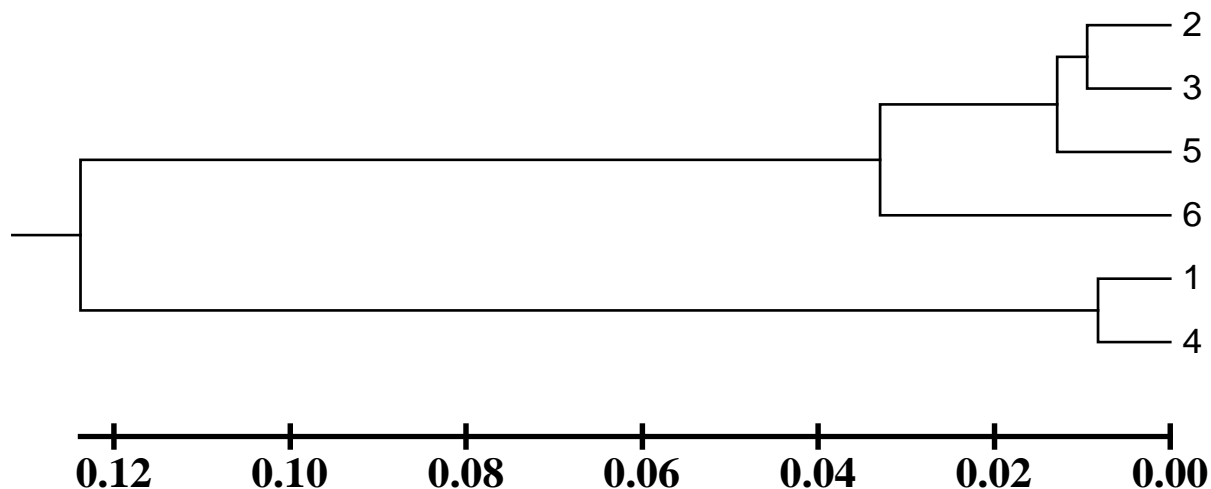


Рис. 4.8. Генетические расстояния популяций

1 – «Центральный пляж», 2 – «Разумная-1», 3 – «Разумная-2», 4 – «Севрюково», 5 – «Дубовое», 6 – «Везёлка»

Кластеризация выборок по вычисленным генетическим дистанциям продемонстрировала большую генетическую близость между большинством изучаемых групп лягушек, что свидетельствует об интенсивном потоке генов между ними. Однако как видно на рисунке 4.8 отдельный кластер образовали популяция «Центральный пляж» и «Севрюково».

4.4. Оценка цитогенетической стабильности популяции с помощью метода ДНК-комет

Одно из пагубных воздействий человека, оказывающих влияние на окружающее пространство, является преднамеренное или непреднамеренное внесение в естественные сообщества генотоксичных ксенобиотиков, которые в свою очередь могут вызвать изменение или разрушение генетического материала живых организмов (Shugart, 2000; Rydberg, 1978).

Разнообразные техногенные факторы и химические агенты, могут нарушать механизм передачи наследственной информации. Последствия такого вмешательства могут быть очень серьезными. По мнению Э.А. Снегина с соавторами (2011) «Дезорганизация наследственного аппарата может вызвать цепные реакции саморазрушения биоты, причем самому человеку здесь отводится роль страдающей стороны». Таким образом, на сегодняшний день оказываются востребованными методы, которые позволяют диагностировать степень насыщения среды мутагенными компонентами.

Для проведения анализа было отобрано по 5 особей *Pelophylax ridibundus*. Выбор именно этих животных не случаен. Земноводные являются важной частью экосистемы, они обитают на границы двух сред. Талые и дождевые воды переносят огромное количество поллютантов, которые в ходе онтогенеза поглощаются животными. Для получения достоверных данных отбор произвели в 2 точках р. Разумная. Первая точка сбора находится в районе с. Севрюково (см. гл. II), течение умеренное быстрое.

Среднее значение ИДК для пункта «Севрюково» составило $0,057 \pm 0,011$; а для пункта «Разумная 2» - $0,141 \pm 0,021$. Различия между пунктами достовер-

ны по первому порогу безошибочных прогнозов ($t=3,5$; $p<0,05$). Кроме того, в точке «Разумная-2» были отмечены клетки, находящиеся в состоянии апоптоза, что также говорит о загрязнении водоема генотоксичными поллютантами.

Таблица 4.18

Пункт	Значения ИДК					
	№ Пробы					
		1	2	3	4	5
с. Севрюково	N	112	127	115	122	109
	Na	-	-	-	-	-
	0 степень	105	123	108	118	105
	1 степень	4	4	5	3	3
	2 степень	3	0	2	1	1
	3 степень	0	0	0	0	0
	4 степень	0	0	0	0	0
	ИДК	0,089	0,031	0,078	0,041	0,045
р. Разумная (загрязненная)	N	118	109	113	123	107
	Na	-	-	1	-	1
	0 степень	106	100	102	114	100
	1 степень	7	7	6	5	6
	2 степень	2	2	1	2	3
	3 степень	2	0	3	1	0
	4 степень	0	0	0	1	0
	ИДК	0,144	0,100	0,221	0,130	0,112

Примечание: N – число клеток, Na – число клеток находящихся в стадии апоптоза.

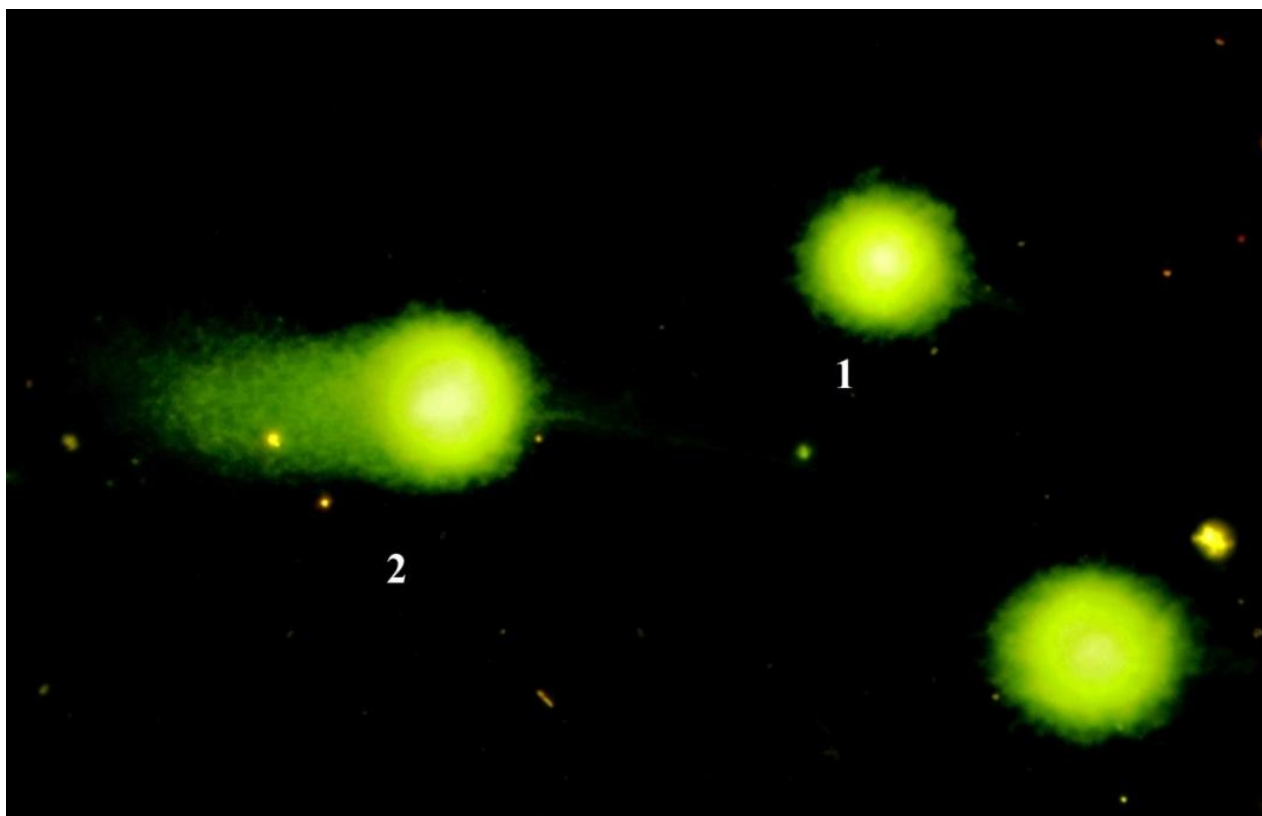


Рис. 4.7. Ядра в различных стадиях:
1 – неразрешенное ядро; 2 - вторая стадия разрушения

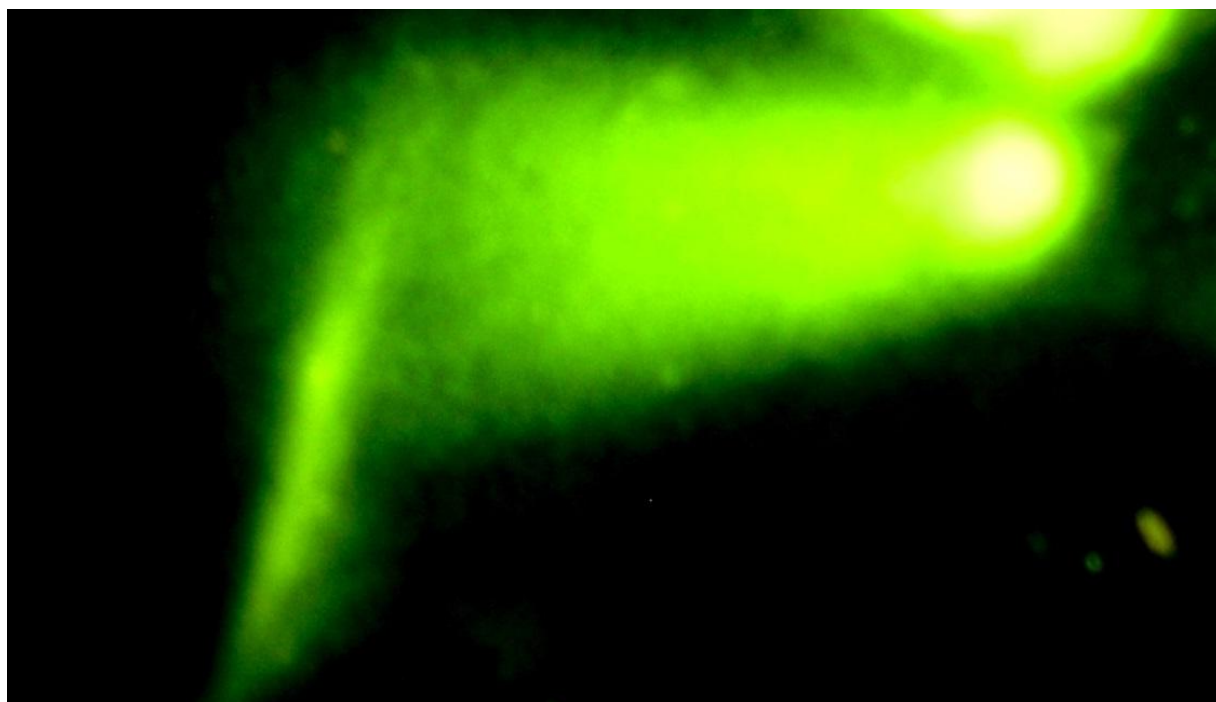


Рис. 4.8. Ядро клетки в состоянии апоптоза

ВЫВОДЫ

1. По результатам однофакторного дисперсионного анализа в популяциях лягушки озерной Белгородского района наблюдается статистически достоверная дифференциация по основным морфометрическим показателям. Популяции обитающие в загрязненных районах имеют большую массу тела и индексы внутренних органов, что в свою очередь говорит о хорошей кормовой базе и снижении конкуренции.

2. Особи с наличием дорсомедиальной полосой наиболее часто встречаются в водоемах испытывающих сильную антропогенную нагрузку, что подтверждает литературные данные.

3. Данные молекулярно-генетического анализа свидетельствуют о стабильном состоянии популяции. Высокие показатели индекса Шеннона, ожидаемой и фактической гетерозиготности, а также и низкие показатели коэффициента инбридинга говорят о генетическом разнообразии исследуемых групп.

4. Сведения полученные при оценке цитогенетической стабильности с помощью метода ДНК-комет свидетельствуют, что в точке сбора «Разумная-2» значение ИДК достоверно превышает аналогичные значение в точке «Себряково». Кроме того, в точке «Разумная-2» были отмечены клетки, находящиеся в состоянии апоптоза, что также говорит о загрязнении водоема генотоксичными поллютантами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алтухов, Ю. П. Генетические процессы в популяциях [Текст] : Учеб.пособие / Ю. П. Алтухов. – Москва : Наука, 1989. – 328 с.
2. Банников, А. Г. Очерки по биологии земноводных [Текст] : пособие для учителей и студентов факультетов естествознания / А. Г. Банников, М. Н. Денисова. – Москва : государственное учебно-педагогическое издательство министерства просвещения РСФСР, 1956. – 168 с.
3. Белгородоведение [Текст] : Учебник для общеобразовательных учреждений / под ред. В.А. Шаповалова. – Белгород : Изд-во БелГУ, 2002. – 410 с.
4. Боркин, Л. Я. Класс Амфибии, или Земноводные – Amphibia [Текст] : Энциклопедия природы России: Земноводные и пресмыкающиеся / Н. Б. Ананьева, Л. Я. Боркин, И. С. Даревский, Н. Л. Орлов. – Москва : АБФ, 1998. – 174 с.
5. Белгородская областная дума – Природно-климатическая характеристика Белгородской области» [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.belduma.ru/infoobl/31/>.
6. Белова, Я. В. География распространения и экология озерной лягушки [Текст] / Я. В. Белова // Геология, география и глобальная энергия – 2009 –№4 – С. 49-53.
7. Бухаров, М. В. Автоматизированное рабочее место «Планета-метеообзор» для мониторинга опасных атмосферных явлений, связанных с конвективной облачностью [Текст] / М. В. Бухаров, А. В. Кухарский, Л. А. Мисник // Метеорология и гидрология. – 2008. - № 2. – С. 64-69.
8. Бухаров, М. В., Автоматизированная оценка максимальной скорости ветра у земли с учётом информации геостационарного спутника [Текст] / М. В. Бухаров, В. М. Лосев, Б. Е.Песков // Метеорология и гидрология. – 2008. - № 12. – С. 5-14.
9. Вершинин, В. Л. Амфибии и рептилии Урала [Текст] :

Учеб.пособие / В. Л. Вершинин. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. – 172 с.

10. Вершинин, В. Л. Морфа *striata*- и ее роль в путях адаптогенеза рода *Rana* в современной биосфере [Текст] / В.Л. Вершинин // Доклады РАН. – 2004. – Т. 396. – № 2. – С. 280–282.

11. Вершинин, В. Л. Морфа *striata* у представителей рода *Rana* (Amphibia, Anura) - причины адаптивности к изменениям среды [Текст] / В.Л. Вершинин // Журнал общей биологии, 2008. – Т. 69. – №1. – С. 65 – 71.

12. География Белгородской области [Текст] : учебник для уч. средних школ Бел. обл. / под ред. Г. Н. Григорьева, Белгород : изд-во БелГУ, 1996. – 142 с.

13. Герман, М. А. Спутниковая метеорология [Текст] : Учеб. пособие / М. А. Герман. – Л. : Гидрометеиздат, 1975. – 368 с.

14. Груза, Г. В. Оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации [Текст] / Г. В. Груза, А. В. Мещерская // Изменение климата России. – 2001. – С. 51-54.

15. Жанатаев, А. К. Метод гель-электрофореза изолированных клеток (метод «ДНК-комет») в пищевой генотоксикологии [Текст] / А. К. Жанатаев, А. Д. Дурнев, Л. А. Оганесянц // Хранение и переработка сельхозсырья, – 2007. – № 1. С. 31-33.

16. Животовский, Л. А. Популяционная биометрия [Текст] : Учеб.пособие / Л. А. Животовский. – М. : Наука. – 1991. – 272 с.

17. Закс, М. М. Экология зеленых лягушек (*Rana esculenta complex*) Пензенской области: распространение, популяционная изменчивость, влияние антропогенных факторов [Текст] автореферат дис. ... канд. биол.наук 03.00.01./ М. М. Закс. – Пенза, 2013. – 20 с.

18. Замалетдинов, Р. И. Фенотипическая структура популяций зеленых лягушек на урбанизированных территориях [Текст] / Р.И. Замалетдинов // Поволжский экологический журнал. – №2. – 2002. – 163 – 165 с.

19. Замалетдинов, Р. И. Полиморфизм зеленых лягушек на урбанизированных территориях [Текст] / Р. И. Замалетдинов, И. З. Хайрутдинов // Фун-

даментальные и прикладные проблемы популяционной биологии. – Нижний Тагил – 2002. – 68 – 69 с.

20. Зарипова, Ф. Ф. Характеристика морфофизиологических показателей популяций лягушки *Pelophylax ridibundus* (ANURA, AMPHIBIA) урбанизированных территорий республики Башкортостан [Текст] / Ф. Ф. Зарипова, А. И. Файзулин // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012 –Т. 14, № 5. – с. 145–149.

21. Зубащенко, Е. М. Региональная физическая география. Климаты Земли [Текст] : Учеб.пособие / под ред. Е.М. Зубащенко, В.И. Шмыкова, А.Я. Немыкина Часть 1.– Воронеж: ВГПУ, 2007. – 183 с.

22. Корочкин, Л. И. Генетика изоферментов [Текст] : Учеб.пособие / Л. И. Корочкин, О. Л. Серов, А. И. Пудовкин, и др. – М. : «Наука», 1977. – 275 с.

23. Красная книга Белгородской области. Редкие и исчезающие растения, грибы, лишайники и животные [Текст] : Официальное издание / А. В. Присный. – Белгород, 2004. – 532 с.

24. Кочетов, Г. А. Практическое руководство по энзимологии [Текст] : Учеб. пособие / Г. А. Кочетов – Москва : Высшая школа – 1980. – 324 с.

25. Кузьмин, С. Л. Земноводные бывшего СССР [Текст] : Учеб.пособие / С. Л. Кузьми. – Москва : Т-во научных изданий КМК, 1999. – 298 с.

26. Кузьмин, С. Л. Конспект фауны земноводных и пресмыкающихся России [Текст] : Учеб.пособие / С. Л. Кузьмин, Д. В. Семенов. – Москва : Т-во научных изданий КМК, 2006. – 139 с.

27. Лада, Г. А. Бесхвостые земноводные (Anura) Русской равнины: изменчивость, видообразование, ареалы, проблемы охраны [Текст] : автореф. дис. доктора биологических наук : 03.02.04 – зоология / Г. А. Лада. – Казань, 2012. – 49 с.

28. Лебедева, М. Г. Экологическая климатология и климатические ресурсы Центрально-Чернозёмного региона [Текст] : Учеб.пособие / М. Г. Лебе-

дева, О. В. Крымская. – Белгород: изд-во БелГУ, 2008. – 196 с.

29. Леонтьева, О. А. Земноводные как биоиндикаторы антропогенных изменений среды [Текст] / О. А. Леонтьева, Д. В. Семенов / Успехи современной биологии. – 1997 – Т.117. №6 – 726-737 с.

30. Майр, Э. Зоологический вид и эволюция [Текст] : Учеб.пособие / Э. Майр. – Москва.: Мир, 1968. – 598 с.

31. "МЧС России 2013" в пространстве интернета. При полном или частичном использовании материалов ссылка на пресс-службу ГУ МЧС России по Белгородской области [www.31.mchs.gov.ru} [Электронный ресурс] /. Режим доступа: [http://www.31.mchs.gov.ru].

32. Морфологические показатели и полиморфизм *R. ridibunda* на территории Южного Урала [Текст] / Г. Р. Юмагулова, Р. Р. Юлдашева / «Молодой учёный». – 2015. – № 24 (104) – с. 249-252.

33. Морфобиологические особенности популяции *Pelophylax ridibundus* урбанизированных территорий [Текст] / А. П. Яковлева, Г. Р. Юмагулова / Научно-исследовательские публикации – 2015 – №6(26) – 30-38 с.

34. Наставление гидрометеорологическим станциям и постам [Текст] : Учеб.пособие / Выпуск 3, часть 1. Л.: Гидрометеиздат, 1976. – 239 с.

35. Никашин, И. А. Эколого-морфологические признаки популяций озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pall.) как средство оценки воздействия на водные экосистемы (на примере Липецкой области) [Текст] : автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.01. / И. А. Никашин. – Липецк, 2007 – 35 с.

36. Ноздравчев, А. Д. Анатомия лягушки: практическое пособие для биологических, медицинских с сельскохозяйственных специальностей вузов [Текст] : А. Д. Ноздравчев, Е. Л. Поляков. – Москва: Высшая школа, 1994. – 320 с.

37. Марчук, Г. И. Облака и климат [Текст] : Учеб. пособие / Г. И. Марчук, К. Я. Кондратьев, В.В. Козодёров [и др.]. – Ленинград: Гидрометеиздат, – 1986. – 511 с.

38. Остерман, Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кис-

лот: Электрофорез и ультрацентрифугирование [Текст] : Практическое пособие / Л. А. Остерман. – Москва: Наука, 2007. – 288 с.

39. Пескова, Т. Ю. Использование земноводных для биоиндикации загрязнения водоемов [Текст] / Т. Ю. Пескова, Т.И. Жукова // Наука Кубани. – 2007. – № 2. – 22–25 с.

40. Пескова, Т. Ю. Морфологические и морфофизиологические изменения земноводных при обитании в условиях загрязнения [Текст] / Т. Ю. Пескова // Известия ВУЗов. Северо-Кавказский Регион. Естественные Науки. 2004. №1 60–64 с.

41. Пескова, Т. Ю. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязненной среде [Текст] : автореф. дисс. д-ра биол. Наук / Т. Ю. Пескова. – Тольятти, 2004. 36 с.

42. Петин, А. Н. Анализ и оценка качества поверхностных вод [Текст]: Учеб. Пособие / А. Н. Петин, М. Г. Лебедева, О. В. Крымская / – Белгород: Изд-во БелГУ, 2006. – 252с.

43. Писанец, Е. М. Амфибии Украины [Текст] : справочник определитель земноводных Украины и сопредельных территорий / Е. М. Писанец. — Киев: Зоологический музей ННПМ НАН Украины, 2007. – 312 с.

44. Плохинский, Н. А. Биометрия [Текст] : Учеб. Пособие / Н. А. Плохинский – Москва: Изд-во МГУ, 1970. – 367 с.

45. Природные ресурсы и экологическое состояние Белгородской области [Текст] : Ф.Н. Лисецкий; С.В. Лукин, А.Н. Петин [и др.] Учебно-справочное картографическое пособие, Белгород: изд-во БелГУ, 2005. – 138 с.

46. Рыжков, М. К. Земноводные и пресмыкающиеся республики Мордовия: распространение, распределение, трофические связи и состояние охраны: [Текст] :автореф. дис. канд. биол. наук 03.00.16 / М. К. Рыжков – Тольятти, 2007 – с.

47. Северцев, А. С. Эволюционная экология позвоночных животных [Текст] : Учеб. пособие / А. С. Северцев. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013 – 347 с.

48. Семенченко, Б. А. Физическая метеорология [Текст] : Учеб.пособие / Б. А. Семеченко. – М.: «Аспект-Пресс», 2002. – 415 с.
49. Свинин, А. О. Распространение, типы популяционных систем и морфологическая изменчивость зеленых лягушек гибридогенного *pelophylax esculentus* – комплекса на северо-востоке их ареалов [Текст] : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.04 – Зоология / А. О. Свинин. – Казань – 2015. 205 с.
50. Синкевич, А .А. Исследование динамики наковальни кучево-дождевого облака большой вертикальной протяжённости [Текст] / А. А. Синкевич, Т. В. Краусс, В. Д. Степаненко. // Метеорология и гидрология. – 2009. - № 12. – 1-5 с.
51. Снегин, Э.А. Оценка цитогенетической стабильности в природных популяциях наземных моллюсков (на основе метода ДНК-комет) [Текст] / Э .А. Снегин. // Онтогенез. – 2014. – Том 45, № 3. – С. 180–186.
52. Снегин, Э. А. Практикум по биометрии [Текст] : учебное пособие: Э. А. Снегин. – Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2016 – 56 с.
53. Снегин, Э.А. Оценка степени повреждения ДНК в популяциях наземных моллюсков урбанизированных ландшафтов Среднерусской возвышенности [Текст] / Э. А. Снегин, Е. С. Ненашева, О. Ю. Артемчук // Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки. - 2011. - Вып. 17, № 21 (116). - 26-30 с.
54. Созинов, А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. [Текст] : учебное пособие / А. А. Созинов. – Москва: Наука, 1985 – 272 с.
55. Справочник по климату СССР. Выпуск 28, Облачность и атмосферные явления. – Л.: Гидрометеиздат, 1968. – 154 с.
56. Терентьев, П. В. Лягушка [Текст] : учебное пособие./ П. В. Терентьев. – М.: Советская наука, 1950. – 346 с.
57. Тимофеев-Ресовский, Н. В. Очерк учения о популяции [Текст] : Учеб. пособие / Н. В. Тимофеев-Ресовский, А. В.Яблоков, Н. В. Глотов. – Москва: Наука, 1973. – 277 с.

58. Толмачева, Н. И. Космические методы исследований в метеорологии. [Текст] / Н. И. Толмачева // Интерпретация спутниковых изображений. Перм. гос. нац. исслед. ун-т., 2012. – 208 с.

59. Ушаков, В. А. Морфогенетические, фенетические и морфометрические подходы в определении стабильности развития популяций зеленых лягушек на территории Нижегородской области [Текст] / В. А. Ушаков, А. А. Образцов. // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии: Сборник научных трудов № 4. Тольятти, 2000. – С. 49-55.

60. Устюжанина, О. А. Биоиндикационная оценка качества окружающей среды по стабильности развития и фенетике бесхвостых амфибии *Pelophylax ridibundus*, *R. lessonae*, *R. esculenta*, *R. temporaria* [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.00.01 / О.А. Устюжанина. – Калуга, 2002. – 19 с.

61. Файзулин, А. И. Анализ спектра питания озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) урбанизированных территорий Среднего Поволжья [Текст] / А. И. Файзулин, И. В. Чихляев., В. А. Кривошеев, А. Е. Кузовенко // Известия Самарского научного центра Российской академии наук — 2010 –Т. 1, № 1. – С. 126-129.

62. Файзулин, А. И. Использование Амфибий в мониторинге состояния окружающей среды в условиях Самарской области: фенетическая структура популяций [Текст] / А. И. Файзулин, А. Е. Кузовенко. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук — 2012 — т. 14, №1(3) – С. 829 - 833.

63. Файзулин, А. И. Характеристика полиморфизма озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) Самарской Луки [Текст] / А.И. Файзулин, И.В. Чихляев. // Бюл. «Самарская Лука». – № 11 (01). – Самара, 2001. – С. 314 – 318.

64. Федорук, А. Т. Экология [Текст] : Учеб.пособие / А. Т. Федорук. – Минск: «Вышэйшая школа», 2010. – 462 с.

65. Хедрик, Ф. Генетика популяций [Текст] : Учеб.пособие / Ф. Хедрик. – М.: Техносфера, 2003. – 592 с.

66. Хижняк, А. А. Природные ресурсы земли Белгородской [Текст] : Учеб.пособие / А. А. Хижняк. – Воронеж: Центрально-Черноземное изд-во, 1975. – 208 с.
67. Шварц, С. С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных [Текст] : Учеб.пособие. / С. С. Шварц, В. С. Смирнов, Л. Н. Добринский. – Свердловск, 1968. Т.58. – 387 с.
68. Шиян, А. А. Изменения популяционных характеристик озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pall.) при обитании в прудах испарителях сахарных заводов // Научный журнал КубГАУ – 2011. – Вып. №67(03). – 47-54 с.
69. Шляхтин, Г. В. Методика полевых исследований экологии амфибий и рептилий [Текст] : Практическое пособие. / Г. В. Шляхтин, В. Л. Голикова. – Саратов: Изд-во Саратовского университета, 1986. – 78 с.
70. Щупак, Е. Л. Наследование спинной полосы особями остромордой лягушки [Текст] / Е. Л. Щупак // Информационные материалы института экологии растений и животных. Свердловск: ИЭРиЖУрО АН СССР – 1977. – 36 с.
71. Яблоков, А. В. Фенетика. Эволюция, популяция, признак. [Текст] : Учеб.пособие / А. В. Яблоков. – Москва: Наука, 1980. – 136 с.
72. Яковлева, А. П. Морфо-биологические особенности популяции *Pelophylax ridibundus* урбанизированных территорий [Текст] / А. П. Яковлева, Г. Р. Юмагулова. // Научно-исследовательские публикации. – 2015. - № 6 (26) с.
73. Berger L. Inheritance of vertebral stripe in *Pelophylax ridibundus* Pall. (Amphibia, Ranidae) [Текст] /L.Berger, J. Smielowski //Amphibia Reptilia. 1982. Vol. 3. P. 145–151.
74. Collins A.R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations [Текст] /A.R. Collins. //Molecular Biotechnology. – 2004. – P. 29-261.

75. Davis, B. J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins [Текст] / B. J. Davis. // *Ann N Y Acad Sci.* - 1964. – V.121. – P. 404–427.
76. Dhawan, A. The Comet Assay in Toxicology. [Текст] / A. Dhawan, D. Anderson. // Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2009. – 461 p.
77. Faizulin, A. I. Adaptive strategies and assessment of tolerance to anthropogenic impacts on the territory of the Volga River Basin [Текст] / A. I. Faizulin. // *Types of Strategy and not only (Materials of the Fourth RussianPolish School of Young Ecologists. Togliatti: Kassandra – 2010. – P. 11–14.*
78. Ford, E. Polymorphism and taxonomy Basin [Текст] / E. Ford. // *The new systematic.* – Oxford: Clarendon press, 1940. – P. 493-513.
79. Kang, S. H. Recent advances in in vivo genotoxicity testing: prediction of carcinogenic potential using comet and micronucleus assay in animal models [Текст] / S. H. Kang, J. Y. Kwon, J. K. Lee, Y. R. Seo.// *J Cancer Prev.* –2013. V.18, N.4. –P. 277-88.
80. Henderson, L. The ability of the comet assay to discriminate between genotoxins and cytotoxins [Текст] / L. Henderson. // *Mutagenesis*, 1998. – N 13. – P. 89-94.
81. Hoffman, E. A. A review of color and pattern polymorphisms in anurans [Текст] / E. A. Hoffman, M. S. Blouin. // *Biological Journal of Linnean Society* 2000. – V. 70. № 4. – P. 633–665.
82. Google Maps [Electronic resource] – Mode of access <https://www.google.ru/maps>.
83. Krizmanic, I. I. Population systems of the *Pelophylax esculentus* complex in the southern part of its range [Текст] / I. I. Krizmanic. A. T. Ivanovic // *FoliaZool.*– 2010. – № 59(3). – P 215–222.
84. MacArthur, R. H. Fluctuations of animal populations, and measure of community stability [Текст] / R. H. MacArthur// *Ecology.* – 1955. – Vol. 36, № 7. – P. 353-356.

85. Market, C. L. The molecular basis for isozymes [Текст] / Market C.L // Ann. N.Y. Acad. Sci. –1968. – V.151, № 1. – P. 14-40.
86. Martin, M. Composition of twenty Green Frog populations (*Pelophylax*) across Bavaria, Germany. [Electronic resource] / Martin Mayer, Oliver Hawlitschek, Andreas Zahn, Frank Glaw// SALAMANDRA – 2008 №1 49(1) – Mode of access: <http://www.salamandra-journal.com>.
87. Ornstein, L. Disc electrophoresis. I. Background and theory.[Текст] / Ornstein L. // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1964. – V. 121. – P. 32–49.
88. Peakall R., Smouse P.E., GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. – 2001. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx>
89. Raymond, S. Acrylamide gel electrophoresis. [Текст] /S. Raymond. //Ann. N. Y. Acad Sci., 1964. – Vol. 121. – P. 350-365.
90. Raymond, S. Acrylamide gel as a supporting medium for zone electrophoresis. [Текст] /S. Raymond, L. Weintraub. // Science. – 1959. – V.130. – P. 711–712.
91. Rojas E. Epithelial cells as alternative human biomatrices for comet assay [Текст] /Rojas E, Lorenzo Y, Haug K, Nicolaissen B, Valverde M. // Front Genet. – 2014. – V5. N 386. P. 32-38.
92. Shcherbatyuk T. G. A new version of comet assay. [Текст] /Shcherbatyuk T.G., Chernigina I.A // Sovremennye tehnologii v medicine. – 2016. – N 8(1). – P 20–27.
93. Taylor, D. H. Responses of green frog (*Rana clamitans*) tadpoles to leadpollutedwater. [Текст]/ Taylor D. H., Steele C. W., Strickler-Shaw S. // Environ. Toxicol. and Chem. – 1990. – V.9. – №1. – P. 87 – 93
94. Toktamyssova, Z. S. Some ecological and morphophysiological aspects of marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) populations inhabiting the zone of technogenic pollution of inland waters. [Текст] /Z.S. Toktamyssova. // Advances in Amphibian Research in the Former Soviet Union.– 2000. – V. 5. – P. 283-288.

95. Rydberg, B. Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells [Текст] / Rydberg B., Johanson K. J. // Academic Press. — New York. - 1978. — С. 465-468.
96. Shugart, L. R. DNA damage as a biomarker of exposure [Текст] / Shugart L.R. // Ecotoxicology. - 2000. — V. 9 (5). — P. 329–340.
97. Wallace, B. Polymorphism, population size, and genetic load.exposure [Текст] / Wallace B. // In Population Biology and Evolution. - New York: Syracuse Univ. Press. — 1968. — P. 87- 108.
98. Wright, S. The genetical structure of populations [Текст] / S. Wright // Ann. Eugenics. — 1951. — № 15. — P. 323-354.
99. Zhelev, Zh. M. Ecological status of the Sazliyka river and its tributaries as indicated by the color polymorphism and sexual composition of the populations *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) [Текст] / Zh. M. Zhelev, A. D. Arnaudov // Bulgarian Journal of Agricultural Science. — 2015 — № 21 (6) — P. 1148-1156.
100. Zhelev Zh. Colour polymorphism, sex ratio and in the populations of *Pelophylax ridibundus* and *pseudepidalea viridis* (Amphibia: Anura) from anthropogenically polluted biotopes in southern Bulgaria and their usage as biondicators [Текст] / Zh. M. Zhelev, At. Arnaudov, P. Boyadzhiev. // Trakia Journal of Sciences. —2014. — Vol. 12, № 1 — P. 1-12.