

4. Сахаров Г.П., Братца А.А., Захаров А.В. Влияние техногенной эрозии долины на рыб р. Кожан // Биология атлантического лесов на европейской Севере СССР. Сыктывкар, 1990. С. 134–144. (Тр. Коми НЦ УрО РАН СССР; № 114).

5. Лукьяненко В.И. Экологические аспекты илтиологии. М, 1987. 240 с.

6. Мордухай-Болтовской Ф.Д. Исследования Института биологии внутренних вод АН СССР по влиянию теплоэлектростанций на биологию водоемов // Водные ресурсы. 1975. № 6. С. 88–105.

7. Никаноров Ю.И. Влияние сбросных вод тепловых электростанций на иктофауну и рыбное хозяйство водоемов-охладителей // Биологический режим водоемов-охладителей ТЭЦ и влияние температуры на гидробионтов. М, 1977. Т. 21. С. 135–156.

8. Гор Д.А. Механизмы заселения и улучшения условий обитания донных беспозвоночных в восстанавливаемых руслах рек // Восстановление и охрана малых рек: Теория и практика. М, 1989. С. 100–122.

УДК 575.22; 592.4

Анализ жизнеспособности популяций особо охраняемых видов на примере *Helix pomatia* L. (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata)

© 2010, Э. А. Снегин, к.б.н., доцент, зав. лабораторией, Белгородский государственный университет, e-mail: snegin@bsu.edu.ru

На основе анализа морфологической и генетической изменчивости, выявленной методом гель-электрофореза белков, изучено состояние генофондов трех популяций особо охраняемого вида *Helix pomatia* L. (мшкороградной улитки) в условиях юга лесостепи Среднерусской возвышенности. Рассматриваются генетико-автоматические процессы в популяциях и определяются векторы естественного отбора под влиянием как естественных, так и антропогенных факторов. Выдвигается гипотеза происхождения изучаемых популяций в районе исследования. На основе расчета эффективной численности дается прогноз времени существования популяций.

The state of genofunds of three populations of the specially protected species *Helix pomatia* L. (edible snail) in conditions of southern forest-steppe of Mid-Russia Hills was investigated on the basis of the analysis of morphological and genetic changeability determined by the method of proteins' gelelectrophoresis. Genetic-automatic processes are considered in the populations and the vectors of natural selection under the influence of both natural and anthropogenic factors are determined. The hypothesis of the origin of the populations studied within the area in question is put forward. On basis of effective number calculation the lifetime of populations is forecasted.

Ключевые слова: особо охраняемый вид, наземный моллюск, популяционные генофонды, лесостепной ландшафт

Key words: specially protected species, land snail, population genofunds, forest-steppe landscape

Введение

В настоящее время, на фоне негативного воздействия человека на свое окружение, всё большее число диких видов сокращает свою численность, а порой целиком исчезает с лица планеты. Исчезновение любого вида начинается с исчезновения его отдельных популяций, в результате значительно сокращается ареал, уменьшается генетическое разнообразие и, как следствие, происходит потеря устойчивости и вымирание. По этой причине сейчас соз-

даются региональные Красные книги, выделенные в первую очередь на сохранение различных внутривидовых группировок, в том числе и популяций. Часто бывает так, что вид, занесённый в региональную Красную книгу, в целом широко распространён, в отдельных частях ареала достигает большой численности и соответственно не нуждается в охране. Однако в ряде мест (например, на границах ареала или в каких-то полуизолированных территориях) такой вид или, вернее сказать, популяции этого вида могут находиться

в депрессивном состоянии. Изучая и сохраняя эти группировки, мы сохраняем уникальный генофонд этого вида и тем самым способствуем более длительному его существованию в пространстве и во времени.

Таким видом является виноградная улитка (*Helix pomatia* L.), занесенная в Красную книгу Белгородской области [1]. Сохранение популяций виноградной улитки на территории России необходимо не только для сохранения вида в целом как важного компонента экосистем, а также в связи с тем, что этот моллюск имеет важное эстетическое значение, а в ряде регионов рассматривается как перспективный пищевой объект.

Одно из основных положений популяционной генетики состоит в том, что если в изолированной популяции в течение нескольких поколений сохраняется лишь небольшое число особей, то генетическая изменчивость такой популяции уменьшается из-за увеличения инбридинга и потери части генофонда. А уровень генетической изменчивости, как известно, влияет на вероятность выживания популяций в течение длительного времени, поскольку является предпосылкой эволюционных адаптаций к меняющимся условиям среды. Поэтому центральное место в программах долгосрочного контроля за состоянием популяций, включая популяции уязвимых

видов, должно быть отведено анализу их численности и генетической изменчивости [2].

Исходя из этих представлений, была сформулирована основная цель работы, которая заключается в оценке жизнеспособности популяций виноградной улитки на юге Среднерусской возвышенности на основе конхологических и биохимических маркеров, а также на основе анализа эффективности численности.

Методика

Материалом для исследования послужили коллекционные сборы моллюсков из трех пунктов, проведенные в течение последних восьми лет (рис. 1). Улитки собирались вручную в сырую погоду со стеблей и листьев растений, часто в подстилке. В каждом биотопе делалось четыре выборки на участках площадью 2 м² каждый. Собранные раковины *H. pomatia* использовались для морфометрического анализа конхологических признаков. Анализу подвергались только взрослые особи, образовавшие отверстие устья. Схема проверок раковины показана на рисунке 2.

Все параметры измерялись в миллиметрах с точностью до десятых долей штангенциркулем. Всего было изучено 253 экземпляра раковин этого моллюска.



Рис. 1. Карта района исследования: 1 - колония «Харьков», 2 - колония «Белгород», 3 - колония «Майский»

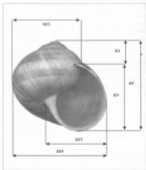


Рис. 2. Схема промеров раковины: BP – высота раковины, SHP – ширина раковины, BE – высота завитка, SHZ – ширина завитка, BU – высота устья, SHY – ширина устья

Исследование генетической структуры трёх изучаемых популяций было проведено с помощью метода электрофореза белков в полиакриламидном геле. Образцы тканей были взяты из раковина научно-исследовательской лаборатории популяционной генетики и генетической экологии Белгородского государственного университета. Для анализа был использован locus Est4 с тремя аллелями. Исследование данного локуса идёт по кодоминантному типу, в результате на электрограммах можно выделить шесть фенотипических комбинаций (рис. 3). Всего было исследовано 345 особей.

Электрофоретический анализ. Электрофорез водорастворимых белков проводили на небольшом фрагменте ноги моллюска⁴, путём замораживания при -80°C с последующим оттаиванием и механическим измельчением торфяными гомогенизатором в 0,05 М трис-HCl-буфере (pH 6,7). Электрофорез изоферментов проводили в 10% полиакриламидном геле в камере VE-3 («Helicon»). Гелевый трис-HCl-буфер (концентрирующий гель pH 6,7, разделяющий гель pH 8,9); аэротродный триглицериновый-буфер (pH 8,3). Окрасивание блочков на выкислом неспецифических эстераз проводилось в субстратной смеси: трис-HCl (pH 7,4), α -нафталидлат, прочный красный ТН. Обработка полученных данных проводилась с использованием программы GeneAEx [3].

Результаты и обсуждение

Одними из важных показателей, по которым можно судить о состоянии популяций наземных моллюсков, являются различные признаки раковины, которые могут чутко реагировать на изменения окружающей обстановки. Согласно полученным данным, приведённым в таблице 1, достоверно наибольшие показатели конволюционных признаков имеют представители из группы «Майский». Здесь особи обитают на границе агроландшафта, удалё от источников воды. Вероятно, это



Рис. 3. Фрагмент электрограммы неспецифических эстераз *P. rotundif* на колонии «Белгород» (внизу представлены генотипы локуса Est 4, на рисунке отсутствует генотип 11)

способствовало отбору в направлении более крупных улиток, способных сохранять влагу в условиях летних длительных засух, которые ежегодно наблюдаются в районе исследования. Две другие группы обитают во влажных поймах, особенно популяции «Белгород», для которой отмечены наименьшие показатели по большинству признаков. Эта группа населяет заросли пойменной растительности в десяти метрах от уреза воды. Формированию меньших размеров особей в этой колонии, возможно, способствовала, кроме того, значительная рекреационная нагрузка (места обитания улиток часто посещаются людьми), в результате которой улитки с более крупными раковинами чаще гибнут под ногами посетителей. Различия колоний по морфометрическим показателям, очевидно, обусловлены и особенностями генотипов сравниваемых групп.

Согласно представленным в таблице 2 данным, во всех трёх популяциях улиток с наибольшей частотой встречается аллель Est4-2. На втором месте по частоте встречаемости в популяциях «Харьков» и «Белгород» стоит аллель Est4-1, в популяции «Майский» – аллель Est4-3.

Что касается количества реализованных фенотипических комбинаций, то наибольший показатель индекса Шеннона зафиксирован в колонии «Белгород», немного уступает ей

Таблица 1

Значения морфометрических признаков раковины в популяциях *P. rotundif*

Популяция	N	ВЗ	ШЗ	ВР	ШР	ВУ	ШУ
«Харьков»	71	9,8±0,9	23,9±0,8	33,9±1,1	34,2±0,9	24,1±0,8	18,4±0,7
«Белгород»	115	11,2±0,9	23,6±0,9	31,4±1,2	30,7±0,9	20,2±0,7	18,9±0,7
«Майский»	67	11,3±0,7	26,2±0,8	37,4±1,1	36,0±0,9	26,0±0,9	22,9±1,4

Примечание: N – количество измеренных раковин. Обозначения морфометрических признаков даны на рис. 2.

⁴ Во время отбора у каждого живого моллюска отщипывается небольшой фрагмент ноги (40 мк). Такой способ позволил избежать отбора улитками из одного и того же моллюска разрыв исследуемых популяций.

Таблица 2

Частоты аллелей и показатели генетического разнообразия популяций *B. rosalia*

Колония	N	Частоты аллелей Est4	A_e	I	H_e	H_s	F
«Харьков»	57	1 - 0,202 2 - 0,748 3 - 0,051	1,7	0,697	0,421	0,491	-0,034
«Белгород»	171	1 - 0,202 2 - 0,637 3 - 0,161	2,1	0,904	0,561	0,527	-0,063
«Майский»	117	1 - 0,031 2 - 0,637 3 - 0,342	1,9	0,737	0,308	0,477	0,355

Примечание: A_e - эффективное число аллелей на локус; I - индекс Шеннона; H_e - наблюдаемая гетерозиготность; H_s - ожидаемая гетерозиготность; F - коэффициент инбридинга.

колонии «Майский» и «Харьков». Об этом же говорят такие показатели, как эффективное число аллелей (A_e), которое отражает долю участия аллелей в формировании гетерозигот и уровень гетерозиготности (H_e). Согласно расчетам, наибольший уровень гетерозиготности (0,561) и наибольшее эффективное число аллелей (2,1) отмечены в популяции «Белгород».

Второе и третье места разделяли популяции «Харьков» и «Майский», соответственно. Однако стоит отметить, что значения коэффициента инбридинга, рассчитанные на основе сопоставления наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (по закону Харди-Вайнберга), демонстрируют нам явный дефицит гетерозиготных фенотипов в популяции «Майский».

Две другие популяции стоят ближе к точке равновесия по этому показателю.

Из представленных данных видно, что колонии «Харьков» и «Белгород» более сходны как по соотношению частот аллелей в фенотипов астерид, так и по большому числу конциологических признаков. Этот вывод подтверждают результаты кластерного анализа, проведенного по морфометрическим данным, а также значения генетического расстояния, вычисленные по Nei [7] на основе частот аллелей астерид (рис. 4). Такая корреляция демонстрирует, что метрические параметры равнины определяются как факторами среды, так и генетической конституцией животных.

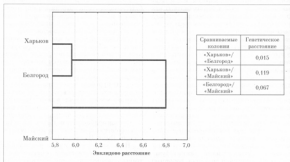


Рис. 4. Дендрограмма эволюционного расстояния, вычисленного на основе сопоставления конциологических признаков и значения генетического расстояния по Nei [7]

Ранее нами была выдвинута гипотеза, что колонии «Майский» и «Белгород» являются результатом интродукции, поскольку эти группы виноградных улиток были обнаружены нами сравнительно недавно (первые находки датированы 2000 г.), причем в густо населенных и часто посещаемых людьми районах. Кроме того, в фаунистических сводках прошлых лет виноградные улитки на территории Белгородской области отмечались только в Валуйском районе [4], где в настоящее время нами были найдены только пустые раковины давно погибших моллюсков¹. Популяция же из города Харькова известна малакологам с конца девятнадцатого – начала двадцатого века [3]. Результаты сравнения дают основание предположить, что популяция «Белгород» является редукционной и такой же старой, как и популяция «Харьков», но существовала она, вероятно, на каких-то смежных территориях и поэтому не была замечена исследователями. Популяция же «Майский», скорее всего, имеет иное происхождение. Судя по малым значениям уровня гетерозиготности и высокому показателю коэффициента инбридинга, генотип этой группы находится в разбалансированном состоянии, что является следствием либо эффекта основателя [6], либо результатом изоляции. Независимым, на наш взгляд, является и тот факт, что эта популяция обитает в лесополосе на границе сельскохозяйственных полей с частым применением пестицидов. Вероятно, такой диморфный прессинг вызывает существенные колебания численности моллюсков, что находит отражение в соотношении частот аллелей и фенот.

На основе полученных результатов был сделан прогноз длительности существования изучаемых колоний виноградной улитки на рассматриваемой территории с учетом аффективной численности популяций (N_e), которая в нашем случае была рассчитана на основе

значимости индивидуальной плодотворности для животных гермафродитов [8]:

$$N_e = \frac{4N-2}{2V+1} \quad V = \frac{\sum k_i^2 - M^2}{N}$$

где N – численность половозрелых особей в популяции, V – дисперсия индивидуальной плодотворности, k_i – плодотворность отдельной особи, k – средняя плодотворность.

Расчеты по координатам кладки показывают, что количество яиц в одной кладке *B. perversa* в среднем составляет 50,5±12, $V=23,5$. Общее количество половозрелых улиток в популяциях рассчитывалось с учетом примененной методики сбора. Расчет времени существования изучаемых популяций проводился с использованием формулы [9]:

$$t = 1,4N_e$$

где t – количество поколений.

Процесс убывающей гетерозиготности за t поколений рассчитывался по формуле [8]:

$$H_t = (1 - \frac{1}{2N_e})^t H_0$$

где H_0 – уровень гетерозиготности в начальной точке.

Учитывая, что продолжительность жизни одного поколения составляет в среднем восемь лет [10], был проведен расчет общей продолжительности жизни изучаемых популяций в годах. Данные расчетов приведены в таблице 3.

Безусловно, полученный прогноз осуществим только при остром отсутствии существования популяций, без продолжительного давления на них со стороны человека. Учитывая, что изучаемые популяции находятся в крайне неблагоприятном географическом положении (на территории населенных пунктов), время существования их, вероятно, будет сокращено.

Прогноз времени существования рассматриваемых популяций *B. perversa*

Таблица 3

Популяция	Общая численность половозрелых особей	Аффективная численность (N_e)	Время существования в поколениях	Время существования в годах	Уровень гетерозиготности в конце срока существования
«Харьков»	1500	118	137	1498	0,207
«Белгород»	750	59	68,5	708	0,225
«Майский»	240	19	28,5	228	0,145

¹ Эти пустые раковины были найдены на территории санатория «Красная поляна», в старейшем районе у подножия платообразной горы «Лысы горы» подальше поселка Белгород.

На основании выше изложенного материала можно заключить, что две популяции вишнеградской улитки («Харьков» и «Белгород») находятся в удовлетворительном состоянии. Опасение вызывает популяция «Майский». Довольно высокий коэффициент инбридинга и низкая эффективная численность свидетельствуют о депрессивном состоянии этой группы улиток.

Литература

1. Красная книга Белгородской области. Редкие и исчезающие растения, грибы, лишайники и животные. Официальное издание / Под ред. Присяжко А.В. Белгород: 2004. 332 с.

2. Динамика популяционных генотипов при антропогенном воздействии / Под. ред. Астурова Ю.П. М.: Наука, 2004. 648 с.

3. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. 2004. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>.

4. Величковский В.А. Моллюски. Очерк фауны Валуевского уезда Воронежской губернии. Харьков: 1900. Вып. 6. 111 с.

5. Величков П. Материалы к познанию фауны моллюсков России. Моллюски из Гастерофада Харьковской губернии // Тр. Харьковского общ. естество. наук. Харьков: 1918. № 49. С. 31–42.

6. Майр Э. Эволюционный вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 308 с.

7. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics*. 1978. V. 89. P. 583–586.

8. Crow J.F., Kimura M. An introduction to population genetics theory. N.Y.: Harper and Row, 1970. 501 pp.

9. Soule M.E. What is conservation biology? // *Bioscience*. 1985. № 35. P. 727–734.

10. Рукавицын Е.Г. Эволюционно-биологические особенности и пути рационального использования интродуцированной улитки *Melampus l.* в Калининградской области. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Калининград: ПГУ им. Н. Копер, 2006. 25 с.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы РННННН № 2.2.3.1/3723, РФФИ № 09-04-07513 p_астр_а.