

УДК 575.22;502.4

К ВОПРОСУ О РОЛИ ПРИНЦИПА ОСНОВАТЕЛЯ В ФОРМИРОВАНИИ ГЕНОФОНДОВ АДВЕНТИВНЫХ КОЛОНИЙ НА ПРИМЕРЕ *CHONDRULA TRIDENS* (GASTROPODA, PULMONATA)

© 2011 г. Э. А. Снегин

Белгородский государственный университет, Белгород 308015, Россия

e-mail: snegin@bsu.edu.ru

Поступила в редакцию 14.04.2010 г.

На протяжении девяти лет в г. Белгород изучены две, вероятно, адвентивные колонии наземного моллюска *Chondrula tridens* (Müller 1774). Особи этих колоний достоверно отличались от местных представителей этого вида крупной раковиной (высота до 20 мм). Строение половой системы и ключевые конхиологические признаки типичны для вида. Диплоидный набор хромосом одинаков у местных и “крупных” улиток ($2n = 38$). Анализ изоферментных локусов эстераз и супероксиддисмутаза выявил достоверно высокий уровень гомозиготности и более низкие показатели генетической изменчивости в колониях “крупной” формы, вызванные “эффектом основателя” и отсутствием успешного скрещивания с улитками местных форм. Приводятся аргументы в пользу придания “крупной” форме подвидового статуса. Выдвигается предположение о формировании сбалансированного оригинального генофонда в интродуцированных группах.

Ключевые слова: наземный моллюск, конхиологические признаки, кариотип, генофонд, подвид.

Антропогенные воздействия вызывают ускоренные преобразования в окружающем пространстве и приводят либо к вымиранию различных групп организмов, либо открывает для них новые эволюционные возможности. Особый интерес вызывают участвовавшие случаи непреднамеренной интродукции животных и растений в различных точках планеты. За сравнительно короткие промежутки времени на наших глазах происходит процесс с неопределенными генетическими последствиями. Вырванные из естественной среды популяции, оказываясь в новых условиях, являются хорошими естественными моделями для проверки представлений о механизмах эволюции.

В 2001 г. в двух точках г. Белгорода были обнаружены колонии улиток *Chondrula tridens* (Müller 1774), особи которых отличались от местных представителей этого вида особо крупной раковиной (высота ее у некоторых особей достигала 20 мм; Ермаков, Снегин, 2002), в то время как для Среднерусской возвышенности диапазон изменчивости вида по этому показателю 7.2–14.2 мм (Николаев, 1981; Снегин, Присный, 2008). Цели настоящей работы — изучение морфогенетических особенностей колоний “крупной” формы с определением таксономического статуса этой группы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Изучение улиток проводилось с использованием морфометрического, кариологического и биохимического методов. Моллюсков собирали в следующих пунктах (координаты отмечались GPS навигатором Garmin-76): пункт 1 — г. Белгород, насыпь автомагистрали, спускающейся в пойму р. Гостянка, смешанный лес из ивы и клена с примесью ели (50°35'23.32" с.ш., 36°33'58.20" в.д.); пункт 2 — г. Белгород, газон возле старого здания БелГУ, посадки каштанов и елей (50°37'16.58" с.ш., 36°34'36.25" в.д.); пункт 3 — заповедный участок “Стенки Изгорья”, меловой склон, злаково-разнотравная степь (50°40'46.73" с.ш., 37°48'30.72" в.д.); пункт 4 — заповедный участок “Ямская степь”, меловой склон, злаково-разнотравная степь (51°10'07.44" с.ш., 37°38'24.33" в.д.). Особи “крупной” формы обитают в пунктах 1 и 2.

Измерение раковин проводили под биноклем МБС-10 при помощи окуляр-микрометра (измеряли только раковины имеющие отворот устья). Схема промеров показана на рис. 1. Для сопоставления были взяты выборки раковин *Ch. tridens* “малой” формы из пункта 3, соответствующие варианту “*albolimbata*”, а также раковины моллюсков из пунктов 1 и 4, подходящих под вариант “*galiciensis*” (Clessin, 1879, 1887)¹.

¹ *Ch. tridens* из остальных колоний в районе исследования по размерам раковины соответствуют какой-либо из обозначенных групп “малой” формы.

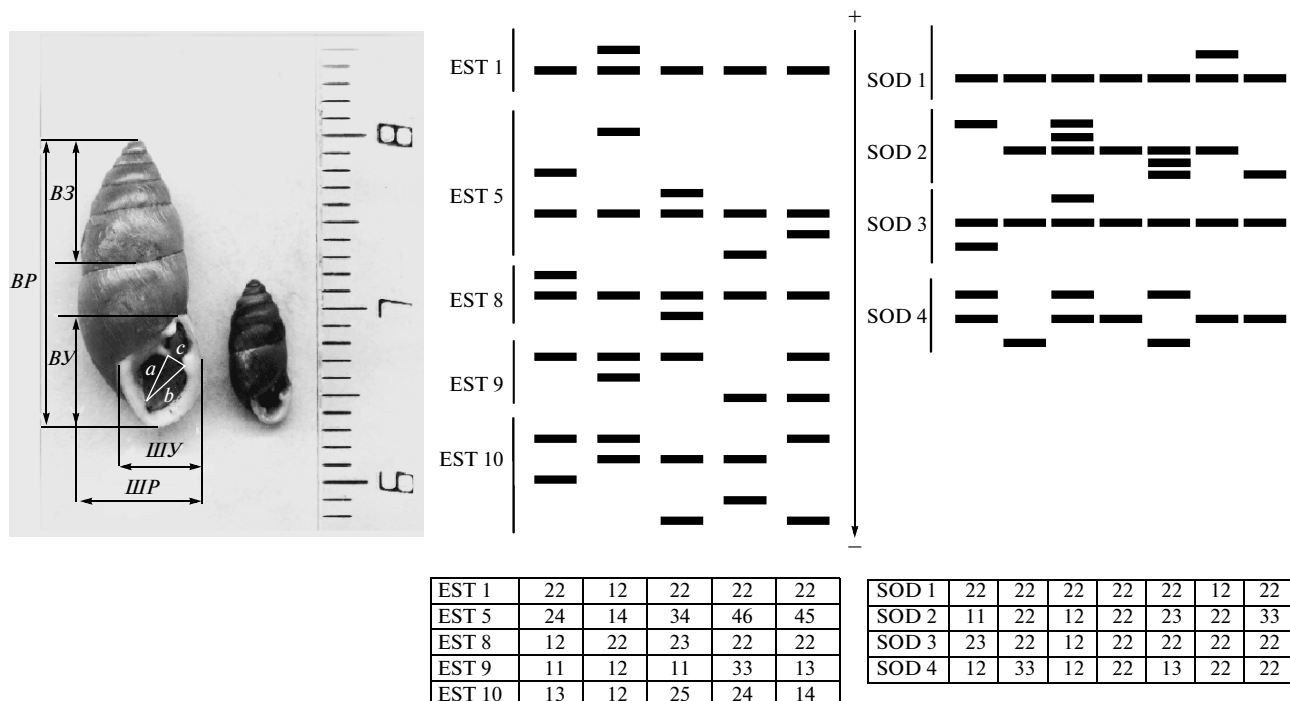


Рис. 1. Слева – изображение “крупной” и “малой” формы *Ch. tridens*: *BP* – высота раковины, *ШР* – ширина раковины, *B3* – высота завитка, *BU* – высота устья, *ШУ* – ширина устья; расстояние между вершинами зубов: *a* – колумеллярного и парietального; *b* – колумеллярного и палатального; *c* – парietального и палатального. Справа – зоны активности девяти локусов и соответствующие им генотипы *Ch. tridens* (цифрами в таблицах обозначены генотипы соответствующих локусов; в исследуемых колониях отсутствовали аллели EST5-5, EST5-2, SOD2-1, SOD3-3).

Для изучения кариотипов исследуемых форм из каждой колонии в период размножения было взято по десять особей (всего 50 особей из 5 колоний). Инъекцию колхицина (0.02%) производили за сутки до анализа. Дополнительно особи поедали фильтровальную бумагу, пропитанную 0.02% раствором колхицина. Гонады гипотонировали в растворе KCl (0.056%). Материал фиксировали в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (1 : 3). Клеточную суспензию наносили на обезжиренные, замороженные предметные стекла. Препараты высушивали и окрашивали красителем Гимза (азур-эозином) 10% по Романовскому в 0.01 М фосфатном буфере (pH 6.8).

Экстракцию белков проводили из ноги моллюска. Диск-электрофорез изоферментов проводился в 10% полиакриламидном геле. Окрашивание блоков на выявление неспецифических эстераз проводили в субстратной смеси: трис-HCl (pH 7.4), α -нафтилацетат, прочный красный TR; для выявления супероксиддисмутаз – калий-фосфатный буфер (pH 7.8), НТС, ФМС. В качестве генетических маркеров использовали пять локусов неспецифических эстераз (EST) и четыре локуса супероксиддисмутаз (SOD, рис. 1, Иванова, Снегин, 2007). Полученные данные обрабатывали с помощью программы GenAlEx (Peakall, Smouse, 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особи “крупной” формы по конхиологическим параметрам и строению половой системы соответствовали видовым признакам, обозначенным для *Ch. tridens major* (Лихарев, Раммельмейер, 1952; Шилейко, 1984).

По результатам морфометрического анализа (табл. 1) колонии улиток “крупной” формы достоверно превосходят по основным морфометрическим показателям колонии “малой” формы. По индексу $B3/BP$, т. е. по признаку, который предлагался как диагностический для форм “*albolimbata*” и “*galiciensis*” (Clessin, 1879), особи “крупной” формы занимают промежуточное положение, не отличаясь достоверно от обеих обозначенных групп “малой” формы. По индексу зазубленности устья (показывает степень выраженности зубов в устье), который рассчитывался по формуле $Index = (BU + ШУ)/(a + b + c)$, “крупная” форма, в основном из-за частичной редукции колумеллярного зуба, достоверно уступает “малой” форме. Известно, что усиление устьевой арматуры у данного вида – адаптация к засушливому климату (Маткин, 1950). Уменьшение индекса у особей “крупной” формы говорит о том, что морфогенез этой группы, вероятно, проходил в более влажном климате.

Таблица 1. Значения (мм) морфометрических признаков раковины в колониях *Ch. tridens*

Форма	Пункт	BP	ШР	ВУ	ШУ	ВЗ	ВЗ/BP	Index
“Крупная” форма	1 (N = 200)	15.30 ± 0.20 13.00–20.10	6.50 ± 0.07 4.50–7.50	5.70 ± 0.08 3.5–7.0	4.70 ± 0.10 3.00–6.30	6.20 ± 0.10 3.70–9.30	0.405 ± 0.008	1.76 ± 0.03
	2 (N = 116)	14.50 ± 0.17 12.90–17.30	6.80 ± 0.07 5.80–7.40	5.70 ± 0.06 5.00–6.60	4.70 ± 0.05 4.50–5.20	5.9 ± 0.12 4.10–8.20	0.402 ± 0.008	1.62 ± 0.02
“Малая” форма	3 (N = 150)	12.60 ± 0.10 11.00–14.60	5.30 ± 0.06 4.50–6.00	4.80 ± 0.06 4.10–5.60	3.90 ± 0.05 2.70–4.40	5.30 ± 0.10 3.40–7.10	0.418 ± 0.004	2.36 ± 0.05
	1 (N = 100)	10.40 ± 0.10 9.20–11.70	4.80 ± 0.08 3.10–5.60	3.90 ± 0.10 2.80–4.70	3.30 ± 0.05 2.50–3.70	4.10 ± 0.10 3.10–5.10	0.394 ± 0.006	2.25 ± 0.08
	4 (N = 84)	8.70 ± 0.16 7.20–10.80	3.90 ± 0.05 3.60–4.30	3.40 ± 0.05 2.90–3.90	2.80 ± 0.04 2.40–3.20	3.40 ± 0.10 2.50–4.50	0.390 ± 0.004	2.23 ± 0.04

Примечание. N – количество измеренных особей; над чертой $M \pm \Delta$, под чертой min–max

Таблица 2. Значения коэффициента различия (CD) по морфометрическим показателям

Сравниваемые формы	BP	ШР	ВУ	ШУ	ВЗ	ВЗ/BP	Index
“Крупная”/“ <i>albolimbata</i> ”, пункт 3	1.22	<u>1.62</u>	1.11	1.17	0.51	0.19	<u>1.35</u>
“Крупная”/“ <i>galiciensis</i> ”, пункт 1	<u>2.49</u>	<u>2.14</u>	<u>1.88</u>	<u>2.09</u>	<u>1.43</u>	0.13	0.94
“Крупная”/“ <i>galiciensis</i> ”, пункт 4	<u>3.03</u>	<u>4.01</u>	<u>3.33</u>	<u>3.07</u>	<u>2.0</u>	0.21	<u>1.45</u>
“ <i>albolimbata</i> ”, пункт 3/“ <i>galiciensis</i> ”, пункт 1	<u>1.97</u>	0.65	1.04	1.08	1.08	0.44	0.15
“ <i>albolimbata</i> ”, пункт 3/“ <i>galiciensis</i> ”, пункт 4	<u>2.9</u>	<u>2.35</u>	<u>2.35</u>	<u>2.25</u>	<u>1.77</u>	0.66	0.27
“ <i>galiciensis</i> ”, пункт 1/“ <i>galiciensis</i> ”, пункт 4	<u>1.38</u>	<u>1.43</u>	0.68	1.15	0.73	0.08	0.03

Подчеркнуты значения, превышающие порог подвидового различия – 1.28.

Значения коэффициента различия (табл. 2), предложенного для выделения подвидов (Майр, 1971), показывают, что “крупная” форма (по данным, объединенным для двух колоний) по большинству морфометрических показателей выходит на уровень подвида в отношении малой формы варианта “*galiciensis*” (пункты 1, 4). Аналогичны соотношения между вариантами “*albolimbata*” (пункт 3) и “*galiciensis*” (пункт 4).

По нашим данным, кариотип у особей “крупной” и “малой” форм одинаков ($2n = 38$). Электрофоретическое расположение локусов эстераз и супероксиддисмутаза у обеих форм также идентично (табл. 3), однако в исследуемой колонии “крупных” улиток наблюдался достоверно низкий средний уровень гетерозиготности (критерий Фишера, метод ϕ : $F_{1/2} = 16.1$, $F_{1/3} = 21.5$ при $F_{st} = 3.9, 6.8, 11.3$, Плохинский, 1970) и более низкие другие показатели генетической изменчивости. Такое явление может быть следствием либо “эффекта основателя”, либо похожего “эффекта бутылочного горлышка” (Майр, 1968). Кроме того, между популяциями обеих форм наблюдается высокое значение генетического расстояния, что говорит об отсутствии (или ограниченной) мигра-

ции генов между двумя формами, несмотря на совместное обитание их в пункте 1 (примечание к табл. 3). Причем частоты аллелей и уровень гетерозиготности в колонии “крупной” формы существенно не менялись в течение всего периода наблюдения (рис. 2). Это можно объяснить либо отсутствием скрещивания между улитками двух групп, либо нежизнеспособностью гибридов². В то же время между двумя изолированными колониями “крупной” формы генетическая дистанция небольшая, что говорит об их значительном родстве.

По имеющимся данным на протяжении всего ареала *Ch. tridens*, который охватывает территорию от Центральной Европы до Урала, подобные крупные формы встречаются на Северном Кавказе (Шилейко, 1984), откуда они, предположительно, были завезены в г. Белгород вместе с каменной отсыпкой, которую использовали при строительстве дороги. Косвенно факт интродукции доказывает присутствие в пункте 1 другого

² Причем спариванию могут препятствовать как различия в размерах, так и асинхронность в размножении. Период спаривания у “крупных” улиток приходится на сентябрь–октябрь, а у “малых” – май–июнь.

Таблица 3. Частоты аллелей и показатели генетической изменчивости в трех колониях *Ch. tridens*

Форма, пункт	Аллели (среднее)	EST1	EST5	EST8	EST9	EST10	SOD1	SOD2	SOD3	SOD4
Колония "малой" формы, пункт 1, N = 100	1	0.340	0.095	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.710
	2	0.660	0.000	0.545	0.335	0.100	1.000	1.000	1.000	0.145
	3	—	0.210	0.450	0.665	0.220	0.000	0.000	—	0.145
	4	—	0.560	—	—	0.680	—	—	—	—
	5	—	0.000	—	—	0.000	—	—	—	—
	6	—	0.135	—	—	—	—	—	—	—
	A_e (1.663)	1.814	2.598	2.002	1.804	1.920	1.000	1.000	1.000	1.831
	I (0.530)	0.641	1.146	0.717	0.638	0.826	0.000	0.000	0.000	0.803
	H_o (0.289)	0.480	0.490	0.320	0.630	0.330	0.000	0.000	0.000	0.350
	H_e (0.328)	0.449	0.615	0.500	0.446	0.479	0.000	0.000	0.000	0.454
F	−0.070	0.203	0.361	−0.414	0.311	НВ	НВ	НВ	0.229	
Колония "крупной" формы, пункт 1, N = 80	1	0.000	0.000	1.000	1.000	0.656	0.125	0.000	0.056	0.094
	2	1.000	0.000	0.000	0.000	0.344	0.800	0.969	0.944	0.906
	3	—	0.000	0.000	0.000	0.000	0.075	0.031	0.000	0.000
	4	—	1.000	—	—	0.000	—	—	—	—
	A_e (1.191)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.822	1.512	1.064	1.119	1.205
	I (0.216)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.643	0.633	0.139	0.217	0.311
	H_o (0.069)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.188	0.075	0.063	0.113	0.188
	H_e (0.125)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.451	0.339	0.061	0.106	0.170
	F	НВ	НВ	НВ	НВ	0.584	0.779	−0.032	−0.060	−0.103
	Колония "крупной" формы, пункт 2, N = 116	1	0.000	0.000	1.000	0.034	0.871	0.000	0.000	0.000
2		1.000	0.000	0.000	0.966	0.129	1.000	1.000	1.000	0.918
3		—	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4		—	1.000	0.000	—	0.000	—	—	—	—
A_e (1.06)		1.000	1.000	1.000	1.071	1.291	1.000	1.000	1.000	1.177
I (0.091)		0.000	0.000	0.000	0.150	0.385	0.000	0.000	0.000	0.283
H_o (0.032)		0.000	0.000	0.000	0.052	0.103	0.000	0.000	0.000	0.129
H_e (0.049)		0.000	0.000	0.000	0.067	0.225	0.000	0.000	0.000	0.150
F		НВ	НВ	НВ	0.223	0.541	НВ	НВ	НВ	0.140

Примечание. N — количество исследованных особей, F — коэффициент инбридинга, A_e — эффективное число аллелей на локус; I — индекс Шеннона; H_o — наблюдаемая гетерозиготность; H_e — ожидаемая гетерозиготность. Генетическое расстояние, рассчитанное по Nei (1978), между популяциями составило: 1/2 — 0.504; 1/3 — 0.415; 2/3 — 0.131. Прочерк означает отсутствие в природе данных аллелей указанных локусов (см. рис. 1). НВ — невозможно вычислить по мономорфному локусу.

северокавказского моллюска *Stenomphalia ravergeri* Ferussac, 1835 (Снегин, Присный, 2008).

Таким образом, учитывая морфометрические различия, факт генетической изоляции и географическую дистанцию, "крупная" форма, вероятно, может претендовать на ранг подвида³. Однако для установления более точного таксономического

го статуса необходимы дополнительные исследования структуры расселения "крупной" формы *Ch. tridens* в условиях ее естественного ареала. Кроме того, остается пока не выясненным вопрос о возможности передачи наследственной информации между "крупной" формой и вариантом "*albolimbata*", поэтому придание ранга вида "крупной" форме считаем пока преждевременным⁴.

³ Вопрос о том, что данный вид представлен несколькими подвидами (или отдельными видами), ставился неоднократно в ряде работ (Clessin, 1879, 1887; Vakowski, 1891; Grossu, 1955; Дамянов, Лихарев 1975; Крамаренко, Сверлова, 2003).

⁴ Формы "*galiciensis*" и "*albolimbata*" в районе исследования часто образуют смежные популяции с явными гибридными зонами.

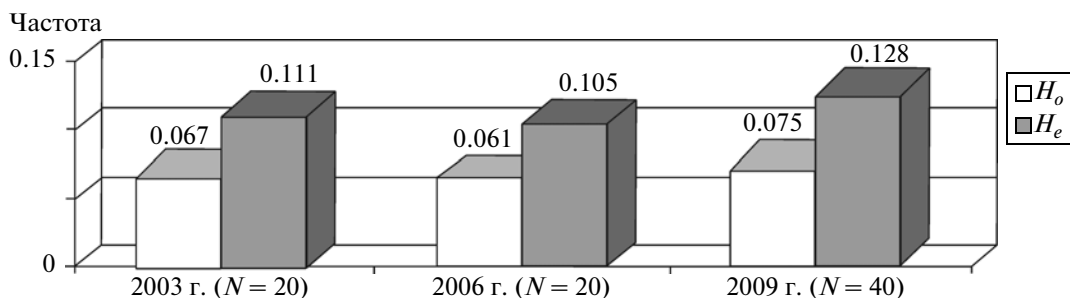


Рис. 2. Уровень гетерозиготности в колонии “крупной” формы пункта 1 в разные годы (исследование динамики частот аллелей в пункте 2 не проводилось). Гетерозиготность: H_o – наблюдаемая, H_e – ожидаемая.

К сожалению, мы не можем знать изначальные численность и соотношение частот аллелей в колониях “крупной” формы, т.к. насыпь автострады в пункте 1 и газон в пункте 2 были созданы более тридцати лет назад. Но наблюдения последних девяти лет говорят о том, что, несмотря на изолированность и мономорфность, эти, возможно завезенные, группы не только прижились, но увеличивают численность и расширяют ареал (особенно в пункте 1). Косвенно это свидетельствует о том, что в колониях “крупной” формы в результате стохастических процессов и действия отбора идет формирование новой сбалансированной генетической системы, адекватной новым условиям.

Безусловно, полученные результаты можно считать отправной точкой для дальнейших наблюдений за судьбой адвентивных колоний.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (09-04-97513 p_центр_a) и Министерства образования и науки РФ (П 1050).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дамьянов С., Лихарев И.М., 1975. Сухоземни охлюви (Gastropoda terrestria) // Фауна на България. София: Т. IV. 425 с.
- Ермаков А.М., Снегин Э.А., 2002. Особенности фенотипической изменчивости *Chondrula tridens* в условиях лесостепного ландшафта // Биология - наука XXI века: 6-я Пушкинская школа конференция молодых ученых. Тула: Изд-во Тульского гос. пед. ун-та им. Толстого. Т. 2. С. 56–57.
- Иванова Е.В., Снегин Э.А., 2007. Анализ генетической структуры популяций *Chondrula tridens* Müller (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях трансформированных экосистем / Биоразнообразие и роль животных в экосистемах – Днепрпетровск: Изд-во Днепрпетровского национального ун-та. С. 198–199.
- Крамаренко С.С., Сверлова Н.В., 2003. До вивчення внутрішньовидової мінливості *Chondrula tridens* (Gastropoda, Pulmonata, Buliminidae) на заході України та з'ясування таксономічного статусу

окремих форм // Наук. зап. Держ. природозн. музею. Львів. Т. 18. С. 93–110.

- Майр Э., 1968. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир. 398 с. – 1971. Принципы зоологической систематики. М.: Мир. 456 с.
- Матёкин П.В., 1950. Фауна наземных моллюсков Нижнего Поволжья и ее значение для представления об истории современных лесов района // Зоол. журн. Т. 29. Вып. 3. С. 193–205.
- Лихарев И.М., Раммельмейр Е.С., 1952. Наземные моллюски фауны СССР // Определители по фауне. М.-Л.: Вып. 43. 512 с.
- Николаев В.А., 1981. Изменчивость и экология энид Среднерусской возвышенности // Фауна и экология беспозвоночных лесостепной зоны. Научные труды Курского гос. пед. ин-та. Курск. Т. 210. С. 54–57.
- Плохинский Н.А., 1970. Биометрия. М.: Изд-во Московского ун-та. 368 с.
- Снегин Э.А., Присный А.В., 2008. Новые сведения о наземных моллюсках Среднерусской возвышенности // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. Белгород. № 3 (43). Вып. 6. С. 101–105.
- Шилейко А.А., 1984. Наземные моллюски подотряда Pupillina фауны СССР (Gastropoda, Pulmonata, Geophila) // Фауна СССР. Моллюски. Нов. сер. Л.: Наука. Т. 3. Вып. 3. 339 с.
- Ваковский J., 1891. Mięczaki (Mollusca). Lwów: Wyd-wo Muzeum im. Dzieduszyckich. 264 s.
- Clessin S., 1879. Aus meiner Novtäten-Mappe // Malakozoologische Blätter. B. 1. S. 3–16. – 1887. Die Molluskenfauna Oesterreich-Ungarns und der Schweiz. Nürnberg. 358 s.
- Grossu A.V., 1955. Gastropoda Pulmonata // Fauna Republicii Populare Romîne. Mollusca. V. 3. fasc. 1. 518 p.
- Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. V. 89. P. 583–590.
- Peakall R., Smouse P.E., 2001. GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and reseach. Australian National University, Canberra, Australia. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>

**ON THE ROLE OF THE FOUNDER PRINCIPLE IN THE FORMATION
OF GENE POOLS OF ADVENTIVE COLONIES FROM THE EXAMPLE
OF *CHONDRULA TRIDENS* (GASTROPODA, PULMONATA)**

E. A. Snegin

*Belgorod State University, Belgorod 308015, Russia
e-mail: snegin@bsn.edu.ru*

Two adventive colonies of the terrestrial mollusc, *Chondrula tridens* Müller 1774, the individuals of which significantly differed from aboriginal representatives in large shells (height up to 20 mm), were studied during nine years in the city of Belgorod. The structure of the sexual system and key conchiological attributes are typical for this species. A diploid set of chromosomes is identical in aboriginal and “large” snails ($2n = 38$). The analysis of isoenzymatic loci of esterases and superoxyde dismutases has significantly revealed the high level of homozygosity and the lower parameters of genetic variability in the colonies of large forms due to the “effect of the founder” and to the absence of successful cross with native snails. The arguments determining the subspecies status for large forms of the molluscs are presented. The balanced original gene pool is suggested to be formed in introduced groups.