



ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ФАКТОРЫ СРЕДЫ

УДК 575.22; 502.4

© Э. А. Снегин

Белгородский государственный
университет, Россия

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ГЕНОФОНДОВ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ГОРНО-ОБОГАТИТЕЛЬНЫХ КОМБИНАТОВ НА ПРИМЕРЕ *BRADYBAENA FRUTICUM* MÜLL. (*GASTROPODA, PULLMONATA*).

✿ На основе анализа морфологической и генетической изменчивости, выявляемой методом гель-электрофореза белков, изучено состояние генофондов популяций модельного вида *Bradybaena fruticum* (кустарниковой улитки) в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов. Зафиксировано достоверное снижение уровня гетерозиготности и уменьшение аллельного разнообразия в исследуемых группах по сравнению с контрольными популяциями, вызванное, как естественными факторами, так и факторами антропогенного происхождения. Рассматриваются генетико-автоматические процессы в популяциях и определяются векторы естественного отбора. На основе расчета эффективной численности дается прогноз времени существования популяций.

✿ **Ключевые слова:** популяционные генофонды; наземный моллюск; горно-обогатительные комбинаты; лесостепной ландшафт.

Поступила в редакцию 20.01.1900
Принята к публикации 31.03.2010

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая работа является элементом комплексной оценки влияния Стойленского и Лебединского горно-обогатительных комбинатов на прилегающие природные экосистемы. Данные предприятия располагаются на юге Среднерусской возвышенности (Белгородская область, Россия) и входят в систему разработок Курской магнитной аномалии (рис. 1). В период с 2006 по 2009 годы было изучено состояние генофондов популяций модельного вида *Bradybaena fruticum* Müll. (кустарниковая улитка), обитающих в зоне влияния названных выше комбинатов.

Выбор этого вида неслучаен. Кустарниковая улитка довольно крупный объект (ширина раковины до 25 мм), обладает ярко выраженным полиморфизмом конхиологических и биохимических признаков, образует многочисленные колонии, широко распространена на европейском континенте. В этой связи вид уже давно используется как объект мониторинга различных урбанизированных территорий (Матекин, Макеева, 1977; Зейферт, 1987; Хохуткин, 1997; Матекин и др., 2000; Макеева и др., 2005; Снегин, 1999, 2005а, б, 2006; Макеева, 2008).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для сбора моллюсков на участке 2×2 м энтомологическим сачком проводилось кошение. При этом в сачок попадались разновозрастные особи, сидящие на стеблях трав. Затем, на этом же участке вручную с почвы собирались моллюски, упавшие при кошении, а также находящиеся во время сбора в прикорневом ярусе. При небольшой плотности моллюсков размер участка увеличивали в два раза. В каждом исследуемом биоценозе делалось три или четыре выборки. Координаты выборок отмечали с помощью GPS навигатора Garmin 76. Общую площадь занимаемого улитками биотопа определяли по карте.

В качестве генетических маркеров популяционной структуры нами были использованы менделирующие признаки, представленные в таблице 1.

Экстракцию водорастворимых белков проводили из ретрактора ноги моллюсков, путем замораживания при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ с последующим оттаиванием и механическим измельчением тefлоновым гомогенизатором в 0,05 М трис-НСl-буфере (рН 6,7). Электрофорез изоферментов проводился в 10 % полиакриламидном геле в камере VE-3 («Helicon»). Гелевый трис-НСl-буфер (концентрирующий гель рН 6,7, разделяющий гель рН 8,9); электродный трис-глициновый-буфер (рН 8,3). Окрашивание блоков проводилось в субстратной смеси: трис-НСl (рН 7,4), α -нафтилацетат, прочный красный TR.

Таблица 1

Маркеры, используемые для анализа генетической структуры популяций *B. fruticum*

Маркер	Обозначение	Тип наследования	Источник
Неспецифические эстеразы	Est 2 Est 3 Est 4 Est 5	Кодоминантный: с тремя аллелями с тремя аллелями с пятью аллелями* с пятью аллелями	Матекин, Макеева, 1977; Макеева и др. 2005
Наличие коричневой продольной полосы на раковине	П+	Гомозиготный фенотип по рецессивному аллелю наличия полосы	Хохуткин, 1979.
Желтая окраска раковины	Ц ₃	Гомозиготный фенотип по аллелю желтой окраски	Снегин, 1999, 2005.

* — В ходе исследования в популяциях нами не обнаружен аллель Est 4–5 и Est 5–5.

Всего для анализа была использована 1021 особь *B. fruticum* из 18 пунктов. Тринадцать пунктов располагались в районе влияния ГОК (горно-обогатительного комбината) на различном расстоянии от предприятия (рис. 1, табл. 2). Для сравнения, в качестве контрольных вариантов использовались популяции моллюсков, обитающих на территориях, удаленных от промышленных предприятий: № 14 — пойма р. Короча возле с. Дмитриевка (Корочанский район); № 15 — особо охраняемое урочище «Лисья гора» (возле пос. Яблоново, Валуйский район); № 16 — урочище «Борки» (пойма р. Козинка, Валуйский район); № 17 — заповедный участок «Стенки Изгорья» (Новооскольский район); № 18 — природный парк «Ровеньский» (пойма р. Айдар, Ровеньской район).

Обработка полученных данных проводилась с использованием программы GenAlEx (Peakall R., Smouse, 2001).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В своей оценке состояния популяций исследуемого региона мы исходили из представления, согласно которому критерием стабильного существования популяции является уровень ее аллельного и генотипического разнообразия. Известно, что если в изолированной малочисленной популяции длительное время отсутствует обмен генетической информации с другими внутривидовыми группировками, то аллельное разнообразие такой популяции уменьшается вследствие инбридинга. Этот эффект у гермафродитных видов моллюсков может быть усилен самооплодотворением, которое иногда встречается в изолированных группах (Vaug, Klemm, 1989). Кроме того, из-за увеличения частоты близкородственных скрещиваний в такой популяции повышается вероятность выщепления рецессивных мутаций. А это, в свою очередь, значительно понижает жизнеспособность этой группы, т. к. определенный уровень генетической изменчивости, являясь «мобилизационным резервом», обеспечивает устойчивость популяции как системы.

Экспериментально доказано, например, что увеличение гомозиготности в популяциях некоторых видов на 10 % приводит к снижению их репродуктивной способности не менее чем на 25 % (Frankel, Soule, 1981).

Предыдущие исследования популяционной структуры *B. fruticum* в пределах юга лесостепи Среднерусской возвышенности показали, что в большинстве колоний этих улиток отмечается повышенное содержание гомозиготных фенотипов, и сокращение аллельного разнообразия по сравнению с популяциями других регионов. Кроме того, в ряде работ нами было продемонстрировано, что в зонах влияния промышленных центров на юге лесостепи этот процесс приобретает катастрофический характер (Снегин, 1999; Снегин, 2005 а, б). Это явление, вероятно, вызвано наложением трех факторов. Во-первых, это естественное дробление населения вида в условиях лесостепного ландшафта. Во-вторых, искусственное разобщение популяций путем внезапно создаваемых изолирующих антропогенных препятствий в результате строительства дорог и распашки территорий. В-третьих, в таких разобщенных группах, где дрейф генов вызывает дисбаланс в соотношении генных частот, дополнительное внешнее давление, которое в промышленных зонах обязательно присутствует в той или иной форме (выброс поллютантов, изменение микроклимата, разрушение естественной среды обитания и т. д.) вызывает дальнейшие генетические флуктуации.

Стоит отметить, что, безусловно, переход какого-либо аллеля в гомозиготное состояние для особи и популяции может стать физиологически оптимальным, но для каких-то узких условий среды. А сдвиг этих условий может стать катастрофой в силу уменьшения приспособленности. В этом заключается полезное и, одновременно, опасное свойство гомозиготизации. Именно это грозит несбалансированным, внезапно возникшим «антропогенным» популяциям.

Таким образом, оценивая степень гетерозиготности, которая отражает общие свойства генотипа и весь комплекс взаимодействий организма со средой, можно оценить степень устойчивости популяций в каждый данный момент времени. А так как исследуемый нами вид

Таблица 2

Частоты аллелей и уровни гетерозиготности локусов эстераз в популяциях кустарниковой улитки

Локус	Аллель	1 «Стойло», Пойменный лес	2 «Ямская степь», Заповедный участок, дубрава	3 «ОМК», Пойменный лес	4 «Сергеевка», Дубовый лес	5 «Дубровка», Байрачная дубрава	6 «Дубенка», Пойменная дубрава	7 «Мелавое», Байрачная дубрава	8 «Лавная Ливенка», Байрачная дубрава	9 «Орлик», Ивовый лес	10 «Коньшино», Байрачная дубрава	11 «Кочугры», Байрачная дубрава	12 «Ольшанка», Ивовый лес	13 «Красный остров», Пойменный лес	14 «Литриевка», Пойменная дубрава	15 «Лисья гора», Дубрава	16 «Борки», Ивовый лес	17 «Стенки Изгорья», Ольшаник	18 «Ровенский», Пойменный лес
Est2	1	0,000	0,177	0,167	0,000	0,200	0,199	0,353	0,313	0,250	0,066	0,788	0,081	0,009	0,144	0,342	0,319	0,283	0,000
	2	1,000	0,685	0,833	1,000	0,688	0,801	0,206	0,448	0,750	0,926	0,212	0,887	0,982	0,850	0,658	0,534	0,678	0,797
	3	0,000	0,138	0,000	0,000	0,113	0,000	0,441	0,240	0,000	0,007	0,000	0,032	0,009	0,006	0,000	0,147	0,039	0,203
Est3	H ₀	0,000	0,354	0,333	0,000	0,350	0,297	0,412	0,563	0,125	0,147	0,303	0,161	0,036	0,250	0,450	0,500	0,566	0,243
	H _e	0,000	0,480	0,278	0,000	0,475	0,319	0,638	0,644	0,375	0,137	0,334	0,206	0,035	0,257	0,450	0,591	0,459	0,323
	F	–	0,262	–0,200	–	0,263	0,068	0,355	0,127	0,667	–0,072	0,093	0,215	–0,014	0,026	0,000	0,154	–0,232	0,247
Est4	1	0,025	0,063	0,106	0,423	0,013	0,044	0,029	0,000	0,156	0,096	0,000	0,161	0,161	0,369	0,008	0,009	0,053	0,189
	2	0,975	0,870	0,803	0,385	0,988	0,953	0,941	0,958	0,813	0,882	1,000	0,806	0,759	0,613	0,792	0,802	0,947	0,811
	3	0,000	0,067	0,091	0,192	0,000	0,003	0,029	0,042	0,031	0,022	0,000	0,032	0,080	0,019	0,200	0,190	0,000	0,000
Est5	H ₀	0,050	0,205	0,212	0,231	0,025	0,082	0,118	0,083	0,375	0,235	0,000	0,290	0,429	0,750	0,333	0,224	0,079	0,324
	H _e	0,049	0,235	0,336	0,636	0,025	0,091	0,112	0,080	0,314	0,212	0,000	0,323	0,392	0,489	0,333	0,321	0,100	0,307
	F	–0,026	0,127	0,368	0,637	–0,013	0,093	–0,046	–0,043	–0,193	–0,111	–	0,100	–0,094	–0,535	0,000	0,302	0,208	–0,057
N	1	0,050	0,051	0,030	0,000	0,375	0,193	0,044	0,010	0,000	0,140	0,000	0,194	0,232	0,294	0,008	0,103	0,329	0,365
	2	0,950	0,740	0,545	0,635	0,600	0,807	0,765	0,750	0,750	0,860	0,970	0,742	0,625	0,613	0,908	0,897	0,664	0,635
	3	0,000	0,209	0,424	0,365	0,025	0,000	0,191	0,240	0,000	0,000	0,030	0,048	0,107	0,094	0,075	0,000	0,000	0,000
N	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,250	0,000	0,000	0,016	0,036	0,000	0,008	0,000	0,007	0,000
	H ₀	0,050	0,402	0,303	0,731	0,450	0,222	0,471	0,500	0,500	0,221	0,061	0,226	0,536	0,575	0,150	0,207	0,395	0,243
	H _e	0,095	0,406	0,522	0,464	0,499	0,312	0,377	0,380	0,375	0,240	0,059	0,409	0,543	0,530	0,169	0,185	0,450	0,463
N	F	0,474	0,011	0,419	–0,576	0,098	0,289	–0,249	–0,316	–0,333	0,082	–0,031	0,449	0,013	–0,085	0,113	–0,115	0,123	0,475
	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,015	0,042	0,000	0,000	0,091	0,032	0,000	0,031	0,000	0,000	0,013	0,000
	2	1,000	0,992	1,000	1,000	0,988	0,946	0,956	0,917	1,000	1,000	0,909	0,968	0,982	0,956	0,992	1,000	0,987	1,000
N	3	0,000	0,008	0,000	0,000	0,013	0,035	0,029	0,042	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,006	0,008	0,000	0,000	0,000
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000
	H ₀	0,000	0,016	0,000	0,000	0,025	0,095	0,088	0,083	0,000	0,000	0,182	0,065	0,036	0,088	0,017	0,000	0,026	0,000
N	H _e	0,000	0,016	0,000	0,000	0,025	0,103	0,085	0,156	0,000	0,000	0,165	0,062	0,035	0,085	0,017	0,000	0,026	0,000
	F	–	–0,008	–	–	–0,013	0,079	–0,036	0,467	–	–	–0,100	–0,033	–0,018	–0,035	–0,008	–	–0,013	–
	N	40	127	33	26	40	158	34	48	16	68	33	31	56	80	60	58	76	37

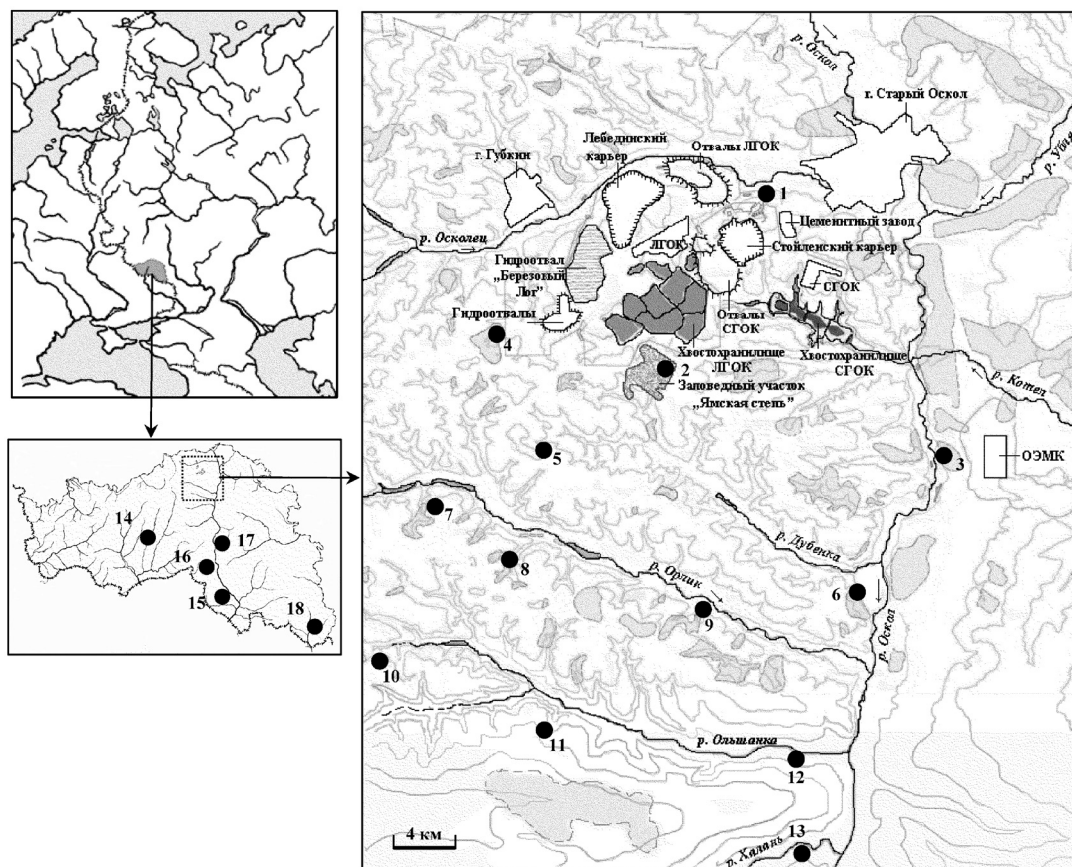


Рис. 1. Пункты сбора моллюсков в районе исследования (сокращения: СГОК и ЛГОК — Стойленский и Лебединский горно-обогатительные комбинаты, соответственно, ОЭМК — Оскольский электрометаллургический комбинат).

неразрывно связан не только с физико-географическими условиями, но и с другими видами, с которыми он сосуществует, то его дальнейшая эволюционная судьба в значительной мере отражает судьбу всего этого биологического сообщества.

Согласно полученным данным (табл. 2, 3) по локусам эстераз в ряде популяций *V. fruticum*, обитающих в зоне влияния ГОК, количество реализованных генетических комбинаций сокращается, на фоне перехода оставшихся аллелей в гомозиготные фенотипы. Особо неблагоприятная ситуация отмечается в колонии «Стойло» (№ 1), которая находится на территории промышленной зоны. Здесь зафиксировано наименьшее значение средней гетерозиготности ($0,025 \pm 0,024$) и наблюдается фиксация двух аллелей Est 2–2 и Est 5–2¹. Кроме того, в этой группе отмечено наименьшее значение индекса Шеннона (0,08) и наименьшее эффективное число аллелей ($1,04 \pm 0,024$). В колониях «Кочегуры» (№ 11) и «Коньшино» (№ 12) также выявлено пониженное содержание гетерозиготных фенотипов, что говорит о депрессивном состоянии этих групп. Причем последние две колонии находятся на

значительном удалении от промышленной территории (= 30 км), но, судя по химическому анализу раковин изучаемых улиток, проведенному нами ранее (Снегин, 2009), здесь наблюдается зона оседания выбросов из труб цехов горячего брикетирования железа, которые располагаются на территории ГОК. Также в число групп с пониженной средней гетерозиготностью вошли колония «Дубенка» (№ 6) и «Ольшанка» (№ 12), но, судя по оценке ожидаемой гетерозиготности и числу реализованных комбинаций эти колонии еще не перешли в состояние депрессии. В колонии «Сергеевка» (№ 4), также как и в колонии «Стойло» присутствует стопроцентная гомозиготность по аллелю эстеразы Est 2–2 и Est 5–2. Однако общий уровень гетерозиготности здесь поднят двумя другими локусами, особенно Est 4 ($H_0 = 0,731$). Такое явление, вероятно, связано с различной селективной значимостью изучаемых локусов эстераз. В целом, согласно таблице 2, в 55 % случаев ожидаемая гетерозиготность превосходит фактическую, еще в 14 % случаев отмечена фиксация того или иного аллеля, что говорит о дефиците гетерозигот в большинстве изучаемых групп.

¹ Локус Est 5 в семи изученных популяциях мономорфен (табл. 2).

Таблица 3.

Показатели генетической изменчивости в изучаемых популяциях кустарниковой улитки

Выборка	P, %	A _e	H ₀	H _e	μ	h _p	I
1. Стойло	50	1,04 ± 0,024	0,025 ± 0,024	0,036 ± 0,028	1,19 ± 0,5	0,52 ± 0,15	0,08
2. Ямская степь	100	1,48 ± 0,065	0,244 ± 0,037	0,284 ± 0,039	2,07 ± 0,27	0,38 ± 0,08	0,47
3. ОЭМК	75	1,49 ± 0,112	0,212 ± 0,07	0,284 ± 0,077	1,88 ± 0,55	0,47 ± 0,16	0,47
4. Сергеевка	50	1,65 ± 0,142	0,240 ± 0,082	0,275 ± 0,086	1,72 ± 0,54	0,49 ± 0,15	0,43
5. Дубравка	100	1,49 ± 0,102	0,213 ± 0,063	0,256 ± 0,067	1,86 ± 0,49	0,46 ± 0,14	0,43
6. Дубенка	100	1,28 ± 0,043	0,174 ± 0,029	0,206 ± 0,031	1,7 ± 0,27	0,5 ± 0,08	0,36
7. Мелавое	100	1,65 ± 0,141	0,272 ± 0,074	0,303 ± 0,077	2,14 ± 0,49	0,37 ± 0,14	0,55
8. Дальняя Ливенка	100	1,67 ± 0,136	0,307 ± 0,065	0,315 ± 0,066	2,1 ± 0,41	0,39 ± 0,11	0,55
9. Орлик	75	1,41 ± 0,189	0,25 ± 0,106	0,266 ± 0,108	1,72 ± 0,8	0,48 ± 0,23	0,42
10. Коньшино	75	1,19 ± 0,059	0,151 ± 0,042	0,147 ± 0,042	1,6 ± 0,4	0,53 ± 0,11	0,277
11. Кочегуры	75	1,19 ± 0,078	0,136 ± 0,058	0,140 ± 0,059	1,43 ± 0,57	0,58 ± 0,16	0,239
12. Ольшанка	100	1,37 ± 0,103	0,185 ± 0,068	0,25 ± 0,076	2,06 ± 0,57	0,4 ± 0,16	0,473
13. Красный Остров	100	1,48 ± 0,104	0,259 ± 0,057	0,251 ± 0,056	2,07 ± 0,4	0,4 ± 0,12	0,472
14. Дмитриевка	100	1,63 ± 0,158	0,416 ± 0,054	0,340 ± 0,051	2,1 ± 0,36	0,39 ± 0,1	0,572
15. Лисья гора	100	1,38 ± 0,093	0,238 ± 0,054	0,242 ± 0,054	1,78 ± 0,42	0,47 ± 0,12	0,4
16. Борки	75	1,53 ± 0,092	0,233 ± 0,054	0,274 ± 0,057	1,86 ± 0,37	0,43 ± 0,1	0,462
17. Стенки Изгорья	100	1,45 ± 0,092	0,266 ± 0,049	0,259 ± 0,049	1,81 ± 0,37	0,47 ± 0,1	0,424
18. Ровеньский	75	1,45 ± 0,102	0,203 ± 0,065	0,273 ± 0,071	1,64 ± 0,54	0,52 ± 0,16	0,411
Среднее	86,11	1,42 ± 0,102	0,223 ± 0,058	0,245 ± 0,061	1,82 ± 0,44	0,46 ± 0,13	0,416

Примечание: P — процент полиморфных локусов; A_e — среднее эффективное число аллелей на локус; H₀ — средняя наблюдаемая гетерозиготность; H_e — средняя ожидаемая гетерозиготность; μ — среднее число фенотипов; h_p — доля редких морф; I — индекс Шеннона (показатели μ и h_p приведены по Животовскому, 1991)

Стоит отметить, что судя по имеющимся данным, как в мировой практике, так и на основании личного опыта, ситуация, связанная с сокращением аллельного разнообразия может быть характерна для недавно возникших или интродуцированных колоний, где проявляется «эффект основателя». Однако в данном случае, речь идет о реликтовом виде, который существует на данной территории с четвертичного периода. Именно по этому часть колоний, обитающих в промышленной зоне, но в силу особенностей рельефа и растительности лесостепного ландшафта, оказавшихся в условиях меньшего влияния со стороны человека, сохранили в составе своих генофондов тот аллельный потенциал, который можно считать исходным для остальных групп. Таковыми колониями являются, например, колонии «Ямская степь», «Дубравка», «Мелавое», «Дальняя Ливенка» и «Красный остров». По соотношению частот аллелей, уровню гетерозиготности и разнообразию реализованных комбинаций эти группы не отличаются от контрольных популяций из ООПТ.

Особо стоит выделить колонию, обитающую в заповедном участке «Ямская степь», которая находится в зоне непосредственно примыкающей к ГОК. Несмот-

ря на близость промышленной территории, по соотношению аллелей эта популяция находится в более стабильном состоянии, чем, например, соседняя группа «Стойло». Отчасти это можно объяснить охранным статусом этого участка, благодаря чему здесь отсутствуют дополнительные негативные воздействия, такие как выжигание растительности и перевыпас скота. С другой стороны, весьма важную роль здесь может играть особенность рельефа, т. к. эта популяция находится в лесном массиве у подножия мелового склона, который препятствует попаданию сюда поллютантов со стороны ГОК.

Действие весьма важного фактора изоляции на изучаемой территории иллюстрирует использование F-статистик Райта (табл. 4). Индекс пространственной дифференциации F_{st} довольно высок (0,135), причем наибольший вклад в межпопуляционные различия вносит локус Est 2 (F_{st} = 0,235)². Индекс F_{it}, отражающий степень инбридинга относительно вида также велик (0,204), что говорит о явном дефиците гетерозиготности особей в популяциях региона.

На рисунке 2 показано распределение фенотипов локуса Est 2 в изучаемых группах, по которому можно

² Стоит отметить, что именно по локусу Est 2 долгое время проводился мониторинг генетической структуры популяций *B. fruticum* в пределах Европейской части России (Матекин, Макеева, 1977; Снегин, 1999, 2005, 2006).

судить о степени фиксации аллелей и селективном отборе некоторых комбинаций. Согласно графику, в районе, прилегающем к ГОК, прослеживается тенденция к фиксации аллеля Est 2-2. Кроме того, обращает на себя внимание и тот факт, что в некоторых популяциях идет отбор редких для лесостепи комбинаций. Так, в частности, в популяции «Мелавое», основную долю в уровень гомозиготности вносит фенотип Est 2-33 (0,23), а в колонии «Кочегуры» — фенотип Est 2-11 (0,64). Данные прошлых лет (Снегин, 2005) показывают, что эти фенотипы очень редко встречаются в природных по-

пуляциях кустарниковой улитки на юге лесостепи Среднерусской возвышенности (средняя частота для региона Est 2-33 = $0,03 \pm 0,02$, Est 2-11 = $0,045 \pm 0,036$). Явное повышенное содержание этих фенотипов на указанных участках требует внимания и дальнейшего изучения причин. Возможно, это связано либо с селективным действием естественного отбора в данных биотопах, либо со случайным дрейфом генов, вызванным изоляцией.

Результаты кластерного анализа на основе генетических расстояний (Nei, 1978) представлены в таблице 5 и на

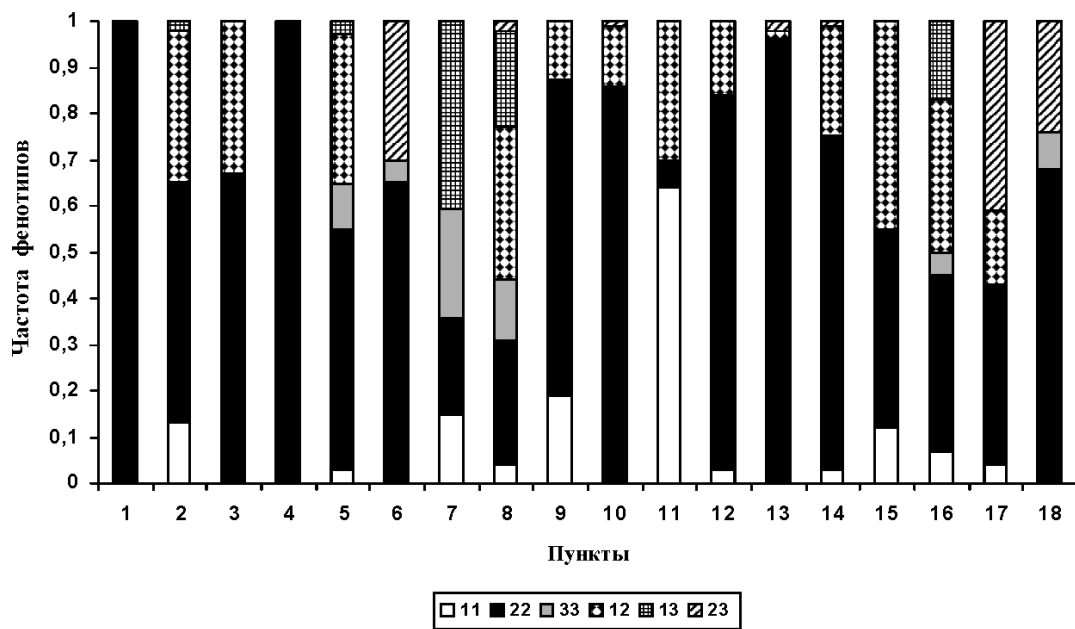


Рис. 2. Распределение частот фенотипов локуса Est 2 в изучаемых популяциях.

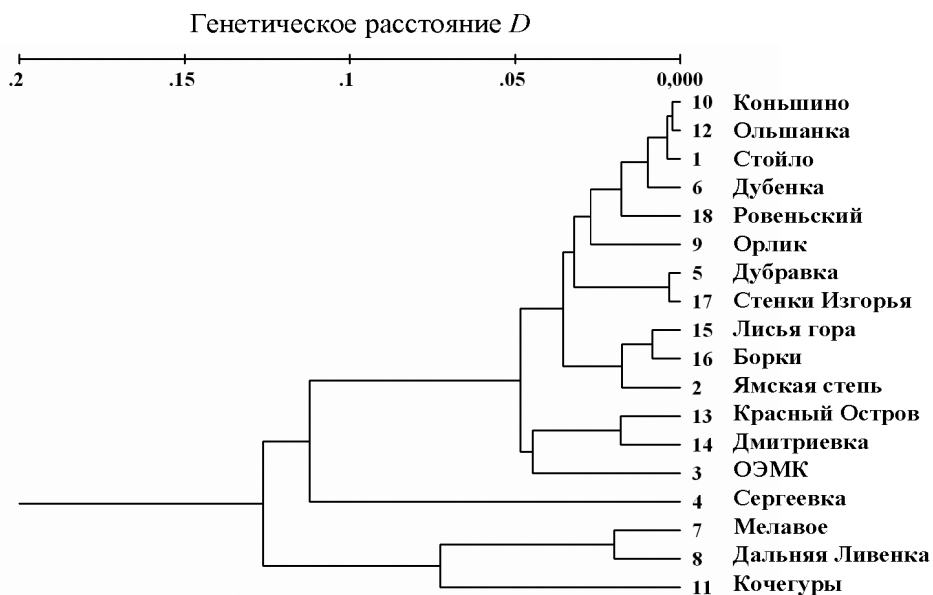


Рис. 3. Дендрограмма генетических расстояний по Неи (Nei, 1972)

рисунке 3. Полученная картина отражает значительную генетическую дивергенцию изучаемых популяций. Причем большая генетическая дистанция наблюдается как между географически близко расположенными группами, так и удаленными. Это связано, вероятно, с нарушением естественно сложившихся каналов миграции генов между популяциями в урбанизированном ландшафте.

Анализ на гетерогенность изучаемых популяций показал достоверную гетерогенность аллельных частот: тест χ^2 по сумме всех локусов $\chi^2 = 401,8, d. f. = 68$ (табл. 4).

Еще один показатель, который был задействован в анализе генофондов изучаемых популяций моллюсков это цветовые варианты раковины у *B. fruticum*. На рисунке 4 показаны частоты встречаемости в популяциях особей с желтой окраской раковины и особей, имеющих продольную полосу на раковине.

В районе исследования в отношении особей с желтой окраской раковины в большинстве пунктов получен результат, не выходящий за рамки регионального показателя ($0,11 \pm 0,04$). Но в четырех пунктах «Ямская степь», «Коньшино», «Лисья гора» и «Ровеньский» зафиксировано достоверное повышение частоты встречаемости особей данного фенотипа. Особенно сильно

выделяется колония «Ямская степь», где частота «желтых» улиток составила 0,92. Данный факт, возможно, указывает на повышенный радиоактивный фон на этих территориях. Проведенные ранее исследования показали, что подобная ситуация на юге Среднерусской

Таблица 4

Значения полокусных коэффициентов инбридинга и χ^2 — теста на гетерогенность аллельных частот в изучаемых выборках кустарниковой улитки

Локус	Fit	Fis	Fst	χ^2	d. f.	Prob
Est2	0,348	0,146	0,237	164,1	36	0,000
Est3	0,204	0,071	0,143	95,7	36	0,000
Est4	0,160	0,037	0,128	102,5	54	0,000
Est5	0,102	0,071	0,034	39,48	54	0,930
Среднее	0,204	0,081	0,135	401,78,	180	0,000

Примечание: Fit — коэффициент инбридинга особи относительно большой популяции; Fis — коэффициент инбридинга особи относительно субпопуляции; Fst — коэффициент инбридинга субпопуляции относительно большой популяции; Prob — вероятность значимости критерия χ^2 ; d. f. — число степеней свободы.

Таблица 5

Генетическое расстояние Нея (Nei, 1972) между популяциями кустарниковой улитки юга лесостепи

Популяции (№)																		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
0,000																		1
0,035	0,000																	2
0,057	0,023	0,000																3
0,112	0,111	0,063	0,000															4
0,049	0,034	0,065	0,182	0,000														5
0,013	0,017	0,052	0,138	0,017	0,000													6
0,155	0,078	0,144	0,304	0,096	0,110	0,000												7
0,076	0,023	0,065	0,201	0,053	0,048	0,020	0,000											8
0,032	0,022	0,054	0,111	0,052	0,023	0,118	0,059	0,000										9
0,004	0,026	0,049	0,096	0,034	0,007	0,143	0,071	0,024	0,000									10
0,188	0,093	0,203	0,393	0,144	0,123	0,073	0,067	0,125	0,176	0,000								11
0,012	0,026	0,039	0,078	0,029	0,011	0,145	0,074	0,025	0,003	0,188	0,000							12
0,025	0,044	0,035	0,060	0,042	0,028	0,194	0,107	0,042	0,015	0,260	0,007	0,000						13
0,059	0,056	0,055	0,053	0,057	0,046	0,196	0,123	0,051	0,035	0,238	0,019	0,018	0,000					14
0,040	0,013	0,058	0,131	0,059	0,026	0,087	0,037	0,027	0,033	0,079	0,040	0,066	0,079	0,000				15
0,053	0,023	0,083	0,168	0,047	0,030	0,054	0,028	0,037	0,042	0,071	0,048	0,080	0,088	0,009	0,000			16
0,044	0,024	0,063	0,170	0,004	0,010	0,094	0,048	0,037	0,028	0,112	0,025	0,042	0,049	0,041	0,034	0,000		17
0,041	0,056	0,069	0,113	0,021	0,030	0,138	0,090	0,056	0,025	0,233	0,015	0,019	0,027	0,080	0,068	0,028	0,000	18

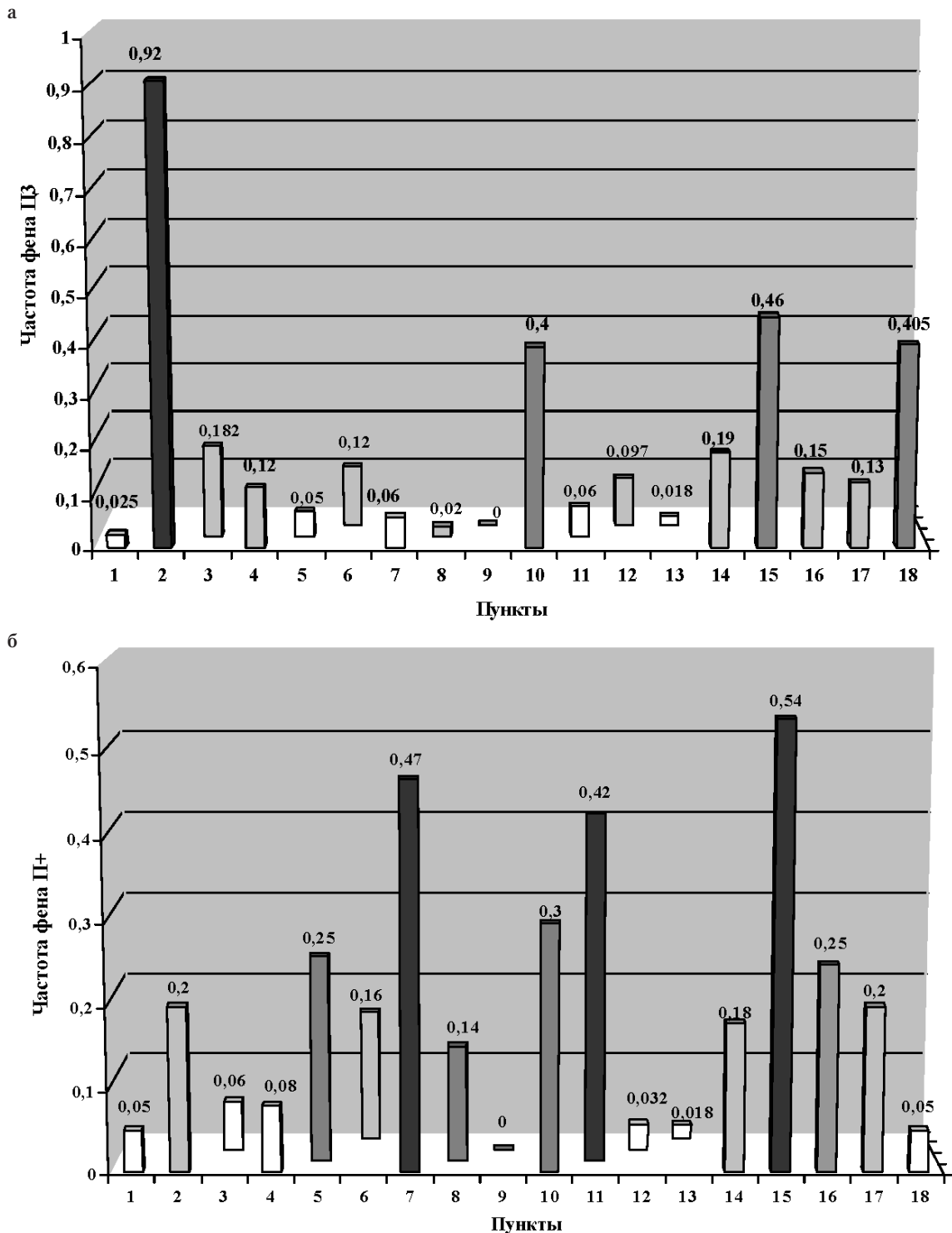


Рис. 4. Частота фенотипов раковины в популяциях *B. fruticum* юга лесостепи.

возвышенности складывается в местах, затронутых «чернобыльским радиоактивным следом», в частности, такое имело место десять лет назад в природном парке «Ровеньский» и в ряде других пунктов (Снегин, 1999). Однако в почве заповедного участка «Ямская степь» следов «чернобыльского» цезия (Cs^{137}) нами не

обнаружено, но, как было выяснено в ходе исследования, большую долю в радиоактивный фон здесь вносит радий (Ra^{226}), имеющий, вероятно, естественное происхождение, из-за присутствующего здесь тектонического разлома. В почве этого участка его концентрация составила 70,51 мкг/кг, что втрое превосходит прилегающие

территории (например, в пункте № 1 — 22,41 мкг/кг, в пункте 5 — 43,23 мкг/кг).

Что касается особей с продольной полосой на раковине, то здесь мы получаем обратную картину. В ряде пунктов промышленной зоны, отмечены достоверно низкие частоты встречаемости этого фенотипа, по сравнению с четырьмя контрольными участками в частности, и с югом лесостепи в целом ($0,133 \pm 0,05$). Такая тенденция действия естественного отбора против полосатых форм свидетельствует об общем направлении изменения физико-географических характеристик лесостепного ландшафта в зоне влияния ГОКов, связанного с его осветлением (т. е. с сокращением площади растительности, с уменьшением индекса листовой поверхности и изменением видового состава растений), наподобие того, что мы наблюдаем в степных районах (пункт 18). Ранее высказывались предположения, что «полосатые» улитки лучше приспособлены к условиям затенения в результате действия как апостатического отбора (поедание дроздами), так и повышенной окислительной способности ферментов (Матекин, Макеева, 1979; Рункова и др., 1974). Подобный факт уменьшения доли «полосатых» особей в результате антропогенной деградации растительных сообществ был ранее наглядно продемонстрирован на примере г. Москвы и Московской области (Макеева, 2008).

В заключение обсуждения полученных результатов был проведен прогноз длительности существования изучаемых популяций кустарниковой улитки на исследуемых территориях с учетом эффективной численности популяций (N_e),

которая в нашем случае была рассчитана на основе изменчивости индивидуальной плодовитости для животных гермафродитов (Crow, Kimura, 1970),

$$N_e = \frac{4N - 2}{2V + 2} \quad V = \frac{\sum(k_i - k)^2}{N}$$

где N — численность половозрелых особей в популяции, V — дисперсия индивидуальной плодовитости, k_i — плодовитость отдельной особи, k — средняя плодовитость.

Расчеты по двадцати шести кладкам показывают, что количество яиц в одной кладке *B. fruticum* в среднем составляет $23,5 \pm 2$, $V = 25$ (расчеты проведены по данным И. М. Хохуткина, 1997). Общее количество половозрелых улиток в популяциях рассчитывалось с учетом применяемой методики сбора. Расчет времени существования изучаемых популяций проводился с использованием формулы (Soule, 1985).

$$t = 1,5N_e$$

где t — количество поколений

Процесс убыли гетерозиготности за t поколений рассчитывался по формуле (Crow, Kimura, 1970):

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

где H_0 — уровень гетерозиготности в начальной точке.

Учитывая, что продолжительность жизни одного поколения составляет 5 лет, был проведен расчет общей продолжительности жизни изучаемых популяций в годах. Данные расчетов приводятся в таблице 6.

Таблица 6

Прогноз времени существования исследуемых популяций *B. fruticum*

Пункты	Общая численность половозрелых особей	Эффективная численность (N_e)	Время существования в поколениях	Время существования в годах	Уровень гетерозиготности в конце срока существования
Стойло	120	10	15	75	0,012
Ямская степь	168	14	21	105	0,114
ОЭМК	312	26	39	195	0,099
Сергеевка	260	22	32	162	0,115
Дубровка	130	11	16	81	0,101
Дубенка	1580	132	197	987	0,082
Мелавое	72	6	9	45	0,124
Дальняя Ливенка	108	9	13	67	0,146
Орлик	320	27	40	200	0,095
Коньшино	135	11	17	84	0,0684
Кочегуры	110	9	14	68	0,061
Ольшанка	875	73	109	547	0,087
Красный Остров	1354	113	169	846	0,122
Дмитриевка	3125	260	391	1953	0,196
Лисья гора	1562	130	195	976	0,112
Борки	1152	96	144	720	0,11
Стенки Изгорья	1367	114	171	854	0,125
Ровеньский	1015	85	127	634	0,096

Результаты показывают, что время существования ряда популяций в антропогенной зоне не превышает 100 лет, что значительно меньше, чем в контрольных участках. Исключение составили пункты «Дубенка», «Ольшанка» и «Красный Остров», где были обнаружены многочисленные колонии кустарниковой улитки, благодаря сохранившимся здесь пойменным лесным массивам с богатой кормовой базой и повышенной влажностью из-за близости рек. Стоит отметить, что наиболее благополучной из всех изученных групп, судя по нашим данным, является колония «Дмитриевка», которая является самой многочисленной из изученных групп и самой удаленной от основных промышленных центров.

Безусловно, данный прогноз осуществим только при естественном существовании популяций, без дальнейшего вмешательства со стороны человека. Учитывая, что такой сценарий развития событий вряд ли возможен, можно предполагать, что время существования этих популяций будет сокращено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании изложенных результатов, можно говорить о продолжающейся тенденции сокращения аллельного разнообразия и изменения соотношения частот фенотипов в популяциях кустарниковой улитки в районе исследования, что отчасти отражает изменения в структуре всего лесостепного ландшафта юга Среднерусской возвышенности под влиянием антропогенного пресса. Данная картина диктует необходимость более пристального внимания к естественным сообществам региона с точки зрения сохранения их биопотенциала и расширения сети особо охраняемых природных территорий.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы РНПВШ № 2.2.3.1/ 3723, РФФИ № 09-04-97513 p_центр_a.

Литература

1. Зейферт Д. В., 1987. Действие естественного отбора на генетическую структуру популяций наземного моллюска *Bradybaena fruticum* (Mull.) // Журн. общей биологии. Т. 48. № 4. С. 549–554.
2. Животовский Л. А., 1991. Популяционная биометрия. М.: Наука, 271 с.
3. Макеева В. М., Белоконь М. М., Малюченко О. П., 2005. Оценка состояния генофонда природных популяций беспозвоночных животных в условиях фрагментарного ландшафта Москвы и Подмосковья (на примере кустарниковой улитки *Bradybaena fruticum* (Müll.) // Генетика. № 11. С. 1495–1510.
4. Макеева В. М., 2008. Эколого-генетические основы охраны животных антропогенных экосистем (на примере Москвы и Подмосковья): Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 48 с.
5. Матекин П. В., Макеева В. М., 1977. Полиморфная система эстераз и пространственная структура вида у кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum* Mull.) // Журн. общей биологии. Т. 38. № 6. С. 908–913.
6. Матекин П. В., Макеева В. М., Пахорукова Л. В., Снегин Э. А., 2000. Пространственные различия популяций *Bradybaena fruticum* по комбинационным фенотипам в пределах Русской равнины // Моллюски. Проблемы систематики, экологии и филогении. Тезисы докладов. С-П.: ЗИН. С. 86–87.
7. Рункова Г. Г., Максимов В. Н., Ковальчук Л. А., Хохуткин И. М., 1974. Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах двух морф *Bradybaena fruticum* (Mull.) в условиях разных температур // Докл. АН СССР. Т. 219, № 2. С. 471–472.
8. Снегин Э. А., 1999. Структура расселенности *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях юга лесостепной зоны Русской равнины: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 22 с.
9. Снегин Э. А., 2005 а. Оценка жизнеспособности популяций в условиях лесостепи // Научные ведомости. Сер. Экология. № 1 (21). Вып. 3. Белгород. С. 64–66.
10. Снегин Э. А., 2005 б. Эколого-генетические аспекты расселения *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pullmonata) в элементах лесостепного ландшафта // Экология. Из-во Наука. № 1. С. 39–47. (Snegin E. A., 2005. Ecological and Genetic Characteristics of the Distribution of *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pullmonata) in a Forest-Steppe Landscape // Russian Journal of Ecology. Vol. 36. № 1. P. 33–40).
11. Снегин Э. А., 2006. Особенности генотипической структуры популяций кустарниковой улитки Трансильвании // Эколого-Функциональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Збірник наукових праць. Вып 2. Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка. С. 304–307
12. Снегин Э. А., 2009. Содержание химических элементов в раковинах наземных моллюсков в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов // Проблемы региональной экологии. М: Из-во Маджента. № 1. С. 22–27.
13. Хохуткин И. М., 1979. О наследовании признака «опоясности» в естественных популяциях наземного брюхоногого моллюска *Bradybaena fruticum* (Mull.) // Генетика. Т. 15. № 5. С. 868–871.
14. Хохуткин И. М., 1997. Структура изменчивости видов на примере наземных моллюсков. Екатеринбург: УрО РАН. 175 с.

15. Baur B., Klemm M., 1989. Absence of isozyme variation in geographically isolated populations of the land snail *Chondrina clienta* // Heredity. Vol. 63. № 2. P. 239–244.
16. Crow J. F., Kimura M., 1970. An introduction to population genetics theory. N. Y.: Harpers and Row. 591 pp.
17. Frankel O. H., Soule M. E., 1981. Conservation and Evolution. Cambridge: Cambridge University Press. 327 p.
18. Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. Vol. 89. P. 583–590.
19. Peakall R., Smouse P. E., 2001. GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra, Australia. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>.
20. Soule M. E., 1985. What is conservation biology? // Bioscience. № 35. P. 727–734.

ASSESSMENT OF A STATE OF POPULATION GENE POOLS OF TERRESTRIAL MOLLUSKS IN CONDITIONS OF INFLUENCE OF ORE DRESSING COMBINES ON EXAMPLE *BRADYBAENA FRUTICUM* MÜLL. (GASTROPODA, PULMONATA)

E. A. Snegin

✿ On the basis of analysis of the morphological and genetical variability revealed by a method of gel-electrophoresis of proteins, the state of gene pools of populations of modeling species *Bradybaena fruticum* (a bush snails) in conditions of influence of ore dressing combines is investigated. Authentic decrease of a level of heterozygosity and decrease of an allelic diversification in researched bunches is fixed in comparison with the control populations, caused, both natural factors, and factors of an anthropogenic parentage. The genetic-automatic processes in populations are considered and vectors of natural selection are defined. On the basis of calculation of effective number the forecast of time of existence of populations is given.

✿ **KEY WORDS:** population gene pools; terrestrial mollusks; ore dressing combines; a forest-steppe landscape.

✿ Информация об авторах

Снегин Эдуард Анатольевич — к. б. н., доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией популяционной генетики и генотоксикологии. Белгородский государственный университет, 308015 Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85. E-mail: snegin@bsu.edu.ru

Snegin Edward Anatoljevich — cand. biol. sci., the senior lecturer, the head of research laboratory of population genetics and gene-toxicology. The Belgorod state university, 308015 Russia, Belgorod, Pobeda street, 85. E-mail: snegin@bsu.edu.ru