

На правах рукописи

СНЕГИН ЭДУАРД АНАТОЛЬЕВИЧ

**ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ И ВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭКОЛОГО-
ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ
ЖИВОТНЫХ (НА ПРИМЕРЕ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ
И НАСЕКОМЫХ ЮГА СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ)**

Специальность 03.02.08 - экология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Белгород, 2012

Работа выполнена на кафедре биоценологии и экологической генетики
Белгородского государственного национального исследовательского
университета

- Научный консультант: **В. М. Макеева**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Музей земледения МГУ им. М. В. Ломоносова); профессор (Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»)
- Официальные оппоненты: **И. М. Хохуткин**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН)
Д. В. Зейферт, доктор биологических наук, доцент (Филиал ГОУ ВПО Уфимского государственного нефтяного технического университета в г. Стерлитамаке)
В. П. Нецветаев, доктор биологических наук, профессор (ФГБУН Белгородский НИИСХ РАСХН)
- Ведущая организация: Учебно-научный центр МГУ имени М. В. Ломоносова по переподготовке и повышению квалификации кадров в области экологии, рационального природопользования и охраны природы

Защита состоится 25 сентября 2012 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.015.12 при ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», по адресу: 308015 г. Белгород, ул. Победы 85, тел. (4722) 30-11-65, E-mail: D212.015.12@bsu.edu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Белгородского государственного национального исследовательского университета

Автореферат разослан 20 августа 2012 г. и размещен на сайтах <http://www.bsu.edu.ru> и <http://www.vak2.ed.gov.ru>

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент

Габрук Н. Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Сокращение популяционно-видового разнообразия, идущее все возрастающими темпами, снижает информационную емкость сообществ и может вызвать в них цепные реакции саморазрушения. Вместе с тем, гомеостатические механизмы естественных популяций, дополняемые разумной природоохранной деятельностью человека, значительно снижают риск подобного сценария развития событий. Поэтому грамотные и здоровьесберегающие подходы к реализации планов повышения экономического потенциала страны необходимо осуществлять с обязательным контролем за качеством среды жизни. Такому контролю, а также сохранению и восстановлению видов, а вместе с ними и экосистем различных уровней иерархии, во многом может способствовать изучение генетических процессов, происходящих в популяциях индикаторных и уязвимых организмов. Причем, в ряде случаев, чувствительность биоиндикационных методов, в том числе, генетических, используемых для оценки комплексного воздействия факторов среды, оказывается выше, чем разрешающая способность химического, радиационного и аэрокосмического анализа, т.к. последние требуют дешифровки на основе реального состояния живых систем.

Цель исследования. На основе изучения состояния популяционных генофондов видов беспозвоночных животных в пространственном и временном аспекте оценить качество среды жизни в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности с выявлением микроэволюционных и гомеостатических процессов, протекающих в современных природных популяциях.

Задачи исследования:

1. Провести оценку уровня накопления химических элементов, включая тяжелые металлы, в раковинах исследуемых видов моллюсков в зоне повышенного антропогенного пресса на предмет выяснения степени химического загрязнения биотопов и его влияния на генетическую структуру популяций.

2. Оценить степень мутагенной нагрузки на изучаемые популяции в условиях урбанизированного ландшафта с различной степенью нарушения среды.

3. Скорректировать критерии оценки влияния урбанизированных территорий с учетом полученных данных по экологии и генетике видов-биоиндикаторов. Провести анализ совместного влияния микроэволюционных факторов на уровень поддерживаемой генетической изменчивости, с одновременной оценкой происходящих изменений.

4. Оценить темпы сокращения аллельного разнообразия, вызванного дрейфом генов, в популяциях изучаемых видов. Выяснить последствия дробления популяционных ареалов в антропогенно-нарушенных ландшафтах в разных природных зонах. Осуществить сбор и обработку сведений о влиянии пространственной структуры популяций на поддержание ее генетической изменчивости.

5. Использовать различные методы оценки эффективной численности популяций, связав это с проблемой выживания видов в условиях измененной среды.

6. Усовершенствовать систему контроля за популяциями уязвимых видов, с использованием прямых методов изучения генетической изменчивости на основе различных типов признаков, совместно с определением эффективной численности популяций.

7. Выявить популяционные гомеостатические механизмы, возникающие в условиях антропогенного изменения среды.

Объектом исследования были популяции беспозвоночных животных, являющихся индикаторами различных антропогенных воздействий, а также уязвимых видов, находящихся в охранных списках на федеральном и региональном уровнях.

Предметом исследования были генетико-автоматические и селективные процессы, происходящие в естественных популяциях видов беспозвоночных животных, обитающих в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности.

Научная новизна работы:

1. Впервые для интенсивно освоенных ландшафтов была проведена оценка состояния среды жизни на основе многоуровневого подхода, включающего химический, экотоксикологический, морфологический, кариологический и генетический анализы живых объектов.

2. Впервые для определения степени мутационной нагрузки на биоценозы был применен метод щелочного гель - электрофореза изолированных клеток индикаторных видов наземных моллюсков.

3. Впервые исследована популяционная структура индикаторных видов наземных моллюсков с использованием различных генетических маркеров (для *Chondrula tridens* впервые проведен анализ изоферментных и ДНК-маркеров, а для *Bradybaena fruticum* – ДНК-маркеров).

4. Впервые проведена оценка жизнеспособности особо охраняемых видов *Helicopsis striata*, *Helix pomatia*, *Lucanus cervus* на основе анализа генетической структуры их популяций с использованием биохимических маркеров. Углублены представления о жизнеспособности популяций уязвимого вида *Serapea vindobonensis*.

5. Впервые для исследуемых видов получены оценки эффективной численности, рассчитанные на основе различных интегральных показателей демографических и генетических данных.

6. Впервые на основании многолетних исследований используемых модельных видов наземных моллюсков показана устойчивость генетической структуры популяций в условиях урбанизированного ландшафта вопреки прогнозам, созданным на основании математических моделей.

Защищаемые положения:

1. В условиях урбанизированных и техногенных территорий в популяциях беспозвоночных идет отбор особей, у которых более активные репарационные механизмы клеток препятствуют разрушению ДНК.

2. Объективную оценку состояния среды жизни можно получить только на основании комплексного подхода к анализу живой материи на всех уровнях иерархии. Однокомпонентная экспресс-диагностика сопряжена с большими ошибками наблюдения, перекрывающими возможность ее применения.

3. Эврибионтные виды, традиционно считающиеся индикаторами в силу своей толерантности, не всегда дают достоверную картину антропогенного воздействия. Стенобионтные и уязвимые виды являются лучшими «контролерами» сукцессионных процессов.

4. Концепцию уменьшения аллельного разнообразия и усиления инбридинга в популяциях, обитающих во фрагментированном ландшафте, можно рассматривать с негативной точки зрения не для всех видов, т. к. это явление преломляется через различия в их биологии. Активные гомеостатические и компенсаторные реакции генома адаптируют виды к условиям урбанизации.

5. Составление и ведение Красных книг на всех уровнях должно сопровождаться анализом состояния генофондов, включаемых в них видов, с применением новых ДНК-технологий, позволяющих осуществлять исследования без нарушения целостности изучаемых популяций.

Практическая значимость. Полученные данные использовались для проведения экспертной оценки воздействия горнопромышленных предприятий Старооскольско-Губкинского района на вмещающие ландшафты, растительность и животный мир (хоздоговорная тема № 849/06, 2006 г.), а также для оценки состояния экосистем в рамках инженерно-экологических изысканий, ОВОС, ООС Приоскольского ГОКа (хоздоговор 19/08, 2008 г.). Результаты исследований продемонстрировали, что применяемые методы можно использовать для проведения грамотной экологической экспертизы существующих и строящихся предприятий, что поможет им избежать санкций со стороны природоохранных ведомств.

Результаты исследований были применены в ходе работ по созданию кадастра особо охраняемых природных территорий областного управления Белгородской области (государственные контракты № 37, № 39, 2008 г.), а также для создания Красной книги Белгородской области и для ее ведения. Данные показали, что применяемые методы можно использовать для оптимизации сети особо охраняемых природных территорий на юге Среднерусской возвышенности и в других регионах.

Результаты исследования используются для совершенствования методики подготовки в рамках вуза биологов – популяционистов и специалистов в области природоохранной деятельностью (бакалавров, магистров, аспирантов). Полученные данные используются в учебных курсах «Экология и рациональное природопользование», «Глобальная экология», «Экология животных», «Эволюционное учение», «Генетика популяций», «Адаптации животных к экстремальным условиям», «Генотоксикология».

Работа проводилась в рамках: грантов РФФИ № 03-04-96427, № 06-04-96305, № 09-04-97513; программы «Развитие научного потенциала высшей школы» (гранты № 8380, № 2.2.3.1/3723, № 2.2.3.1/ 9731); федеральной целевой

программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (государственные контракты № П 1050 и № П 351).

Личный вклад автора. В основу диссертационной работы положены оригинальные материалы, собранные автором в период с 1996 г. по 2011 г. в процессе мониторинга популяций беспозвоночных животных на юге Среднерусской возвышенности и сопредельных территориях. Экспериментальные исследования проводились лично автором на базе научно-исследовательской лаборатории популяционной генетики и генотоксикологии НИУ «БелГУ». Автором лично выполнена статистическая обработка, анализ и обобщение полученных данных. Суммарно личное участие автора составляет около 80 %.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на: 4-й региональной конференции «Экологические и генетические аспекты флоры и фауны Центральной России» (Белгород, 1996); научно-практической конференции, посвященной 270-летию Белгородской губернии (Белгород, 1997); 5-й международной научно-практической конференции «Региональные проблемы прикладной экологии» (Белгород, 1998); всероссийской конференции «Моллюски. Проблемы систематики, экологии и филогении» (Санкт-Петербург, 1998); всероссийской научной конференции, посвященной памяти Н.В. Тимофеева-Ресовского «Биосфера и человечество» (Екатеринбург, 2000); международном симпозиуме по биоиндикаторам «Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга» (Сыктывкар, 2001); 6-й Пущинской школе конференции молодых ученых (Пущино, 2002); научно-практической конференции, посвященной 75-летию Воронежского государственного природного биосферного заповедника «Роль особо охраняемых территорий центрального Черноземья в сохранении и изучении биоразнообразия лесостепи» (Воронеж, 2002); II Малакологической конференции «Эколого-фаункціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль в біоіндикації стану навіколишнього середовища» (Житомир, 2004); International symposium of malacology (Sibiu, 2004); VIII международной научной экологической конференции «Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем» (Белгород 2004); a symposium on occasion of 80th birthdays of Vojen Lozek «Molluscs, Quaternary, faunal changes and enviromental dynamics» (Prague, 2005); III Международной научной конференции «Биоразнообразие и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах» (Днепропетровск, 2005); международной научной конференции «История заповедного дела» (Борисовка, 2005); III малакологической конференции «Эколого-фаункціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль в біоіндикації стану навіколишнього середовища» (Житомир, 2006); первой международной научной конференции «Биология: от молекулы до биосферы» (Харьков, 2006); IX международной научно-практической экологической конференции «Современные проблемы популяционной экологии» (Белгород, 2006); седьмом (XVI) совещании по изучению моллюсков «Моллюски, морфология, таксономия, филогения, биогеография и экология» (Санкт-Петербург, 2006); II международной научно-практической конференции

«Урбоэкосистемы: проблемы и перспективы развития» (Ишим, 2007); IV Международной научной конференции «Биоразнообразие и роль животных в экосистемах» (Днепропетровск, 2007); материалы конференции к 100-летию Государственного Дарвиновского музея «Современные проблемы биологической эволюции» (Москва, 2007); международной научной конференции, посвященной 135-летию со дня рождения И. И. Спрыгина «Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения: материалы» (Пенза, 2008); X всероссийском популяционном семинаре «Современное состояние и пути развития популяционной биологии» (Ижевск, 2008); международной научной конференции посвященной 15-летию природного заповедника «Воронинский» «Биоразнообразие и роль особо охраняемых природных территорий в его сохранении» (Тамбов, 2009); всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Экология, эволюция и систематика животных» (Рязань, 2009); V Международной научной конференции «Биоразнообразие и роль животных в экосистемах» (Днепропетровск, 2009); чтениях памяти проф. М. М. Кожова «Проблемы экологии» (Иркутск, 2010); XI международной научно-практической конференции «Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики» (Белгород, 2010); IV международном симпозиуме «Эволюция жизни на земле» (Томск, 2010); III международной научно-практической конференции «Почва, как связующее звено функционирования природных и антропогенно-преобразованных экосистем» (Иркутск, 2011); VIII всероссийской научно-практической конференции «Тобольск научный» (Тобольск, 2011); международной конференции, посвященной памятной дате – 75- летию со дня рождения академика Ю. П. Алтухова «Проблемы популяционной и общей генетики» (Москва, 2011); 3rd meeting of the European Stag Beetle Group (Florence, 2011); IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования» (Нижний Тагил, 2012).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 84 работы, в том числе 3 монографии, учебное пособие и 18 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, восьми глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Основной текст изложен на 394 страницах, включающих 122 рисунка и 98 таблиц. Список литературы включает 544 источника, из них 306 на иностранных языках. В приложении содержатся 50 таблиц и 2 рисунка. Общий объем диссертации составляет 473 страницы.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность своему учителю засл. проф. МГУ П. В. Матёкину, который являлся идейным вдохновителем данной работы. Глубоко признателен за ценные замечания и обсуждение результатов работы проф. В. М. Макеевой, проф. А. В. Присному, за консультации по статистической обработке данных доц. С. С. Крамаренко, за содействие в проведении полевых исследований коллективу ГПЗ «Белогорье» в

лице директора заповедника А. С. Шаповалова. Признателен Е. А. Снегиной за всестороннюю поддержку и помощь в оформлении. Благодарен за помощь в сборе и обработке материала доц. Т. Г. Стойко, М. Е. Гребенникову, аспирантам О. Ю. Артемчук, Е. В. Ивановой и магистрантам А. А. Сычеву и К. С. Анисимовой.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе дается обзор данных о генетической структуре популяций моллюсков и других видов животных, накопленных в мире за почти вековой период. Рассматриваются вопросы, связанные с использованием популяционно-генетических знаний в природоохранном аспекте.

В процессах становления и утверждения биологической концепции вида, основанной на признании популяционного типа организации естественных видов, не последнюю роль сыграли исследования малакологов. В данном случае моллюски привлекали внимание своей малоподвижностью, стенотопностью и ярко выраженным адаптивным полиморфизмом конхиологических и биохимических признаков. Историю изучения популяционной структуры видов моллюсков (как впрочем, и других видов животных и растений) можно условно разделить на три этапа.

1. Исследования, основанные на фенетических данных, с последующей генетической интерпретацией и установлением типа наследования изучаемых признаков.

2. Изучение генетической структуры популяций с использованием биохимических маркеров (белков и ферментов).

3. Получение данных о структуре популяционных генофондов на основе полиморфизма ядерной и митохондриальной ДНК.

При этом, считаем необходимым подчеркнуть, что названные этапы нельзя рассматривать с точки зрения их противопоставления, т.к. они плавно трансформировались один в другой и разумно дополняли друг друга по мере развития наших знаний о живой материи и усовершенствования методик и технологий. В настоящее время во многих работах с успехом используют все эти три подхода, зачастую одновременно. Причем группы современных исследователей используют для сопоставления, как правило, те же самые модельные виды, для которых накоплен большой материал за более чем полувековой период. Такие наблюдения позволяют подтвердить или опровергнуть наши былые представления об эволюционном процессе, а также выдвинуть новые гипотезы.

Глава 2. РАЙОН ИССЛЕДОВАНИЯ: ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ

В главе дается краткая характеристика физико-географических условий юга Среднерусской возвышенности, включающего лесостепную и степную зоны. Рассматриваются экологические проблемы района исследования. В частности отмечается, что основными факторами воздействия как в прошлое,

так и в настоящее время, являются выжигание степной растительности, вырубка лесов, увеличение площади пахотных земель, выпас скота (Чендев, 1994). Сейчас на долю сельскохозяйственных земель здесь приходится 82 % территории. Помимо этого в районе исследования выделяют еще ряд типов антропогенного рельефа (Чендев, 1997; Лисецкий, Голушов, 1999), включая горнопромышленный тип, связанный с разработкой железных руд на территории КМА (Курской магнитной аномалии).

Исходя из того, что район исследования относится к староосвоенным территориям с высокой антропогенной нагрузкой, здесь особо остро встала проблема поддержания экологического баланса, а также сохранения биологического и ландшафтного разнообразия. Естественные экосистемы в первозданном виде на территории области фактически не сохранились. Степные участки занимают не более 12 % территории, а облесенность с 25 % сократилась до 9% (Чендев, 1997). Поэтому ключевым мероприятием по исправлению создавшейся здесь ситуации стало создание сети особо охраняемых природных территорий (ООПТ), которая состоит из отдельных островков дикой природы на общей площади 47637 га, что составляет менее 2% от общей территории. Но здесь сосредоточено до 80 % видового разнообразия региона. Ныне существующая структура сети ООПТ Белгородской области включает 73 наименования из них: 1 заповедник «Белогорье» (с пятью участками), 2 природных парка («Хотмыжский» и «Ровеньский»), 45 заказников, 24 памятника природы и 1 дендрологический парк (Биологические ресурсы ..., 2007).

В настоящее время основные усилия направлены на расширение и реорганизацию сети ООПТ. В районе исследования проводится тщательная инвентаризация видов с оценкой жизнеспособности популяций, выделяются биокоридоры и буферные зоны, создается кадастр ООПТ, отвечающий требованиям, принятым в мировой природоохранной практике. В рамках этого процесса проводилась и данная диссертационная работа.

Глава 3. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные исследования проводились на юге лесостепи Среднерусской возвышенности. Часть выборок были сделаны в Уральском регионе, Вятском регионе, в городах Николаев, Житомир, Харьков, Пенза, в Запорожской области, а также в Трансильвании (Румыния). Объектами исследования стали виды наземных моллюсков, являющиеся биоиндикаторами антропогенного воздействия на экосистемы - *Bradybaena fruticum* Müll. и *Chondrula tridens* Müll., а так же уязвимые виды, занесенные в региональную Красную книгу – *Helicopsis striata* Müll., *Cepaea vindobonensis* Fer. и *Helix pomatia* L. Кроме того, для сопоставления, нами были исследованы популяции весьма подвижного насекомого *Lucanus cervus* L. (жук-олень), который является особо охраняемым видом на федеральном и международном уровнях. Кроме того, для химического анализа использовались раковины *Euomphalia strigella* Drap.

Методика сбора моллюсков. В пунктах учетов на модельных площадках размером 2×2 м в 3-кратной повторности с поверхности почвы и с растений

собирали живых моллюсков и их пустые раковины. В сырую погоду проводили кошение энтомологическим сачком в местах обитания улиток. Координаты всех выборок отмечали с помощью GPS навигатора Garmin 76.

Сбор жуков-олень (*L. cervus*) происходил в широколиственных лесах юга Среднерусской возвышенности. Ввиду того, что исследуемый вид является особо охраняемым, мы проводили ограниченный сбор особей из различных популяций в течение восьми лет с 2003 по 2011 годы.

Образцы тканей собранных животных хранятся в криобанке НИЛ популяционной генетики и генотоксикологии НИУ «БелГУ».

Лабораторные исследования проводились с использованием комплексного подхода, включающего: химический анализ раковин, анализ фенотипической изменчивости раковин, локусов изоферментов, *RAPD* и *ISSR* маркеров ДНК, а также метод ДНК-комет.

Фенотипический анализ. Измерение раковин моллюсков осуществляли либо штангенциркулем, либо под биноклем МБС-10 при помощи окуляр-микрометра. Измерялись только раковины особей, закончивших рост и имеющих отворот устья. Нами были выбраны наиболее часто используемые в малакологии промеры раковины (*BP* и *ШР* – высота и ширина раковины, *ВУ* и *ШУ* – высота и ширина устья, *ВЗ* – высота завитка). Кроме того, рассчитывали индексы (*ШР/BP*, *ВЗ/BP*), вычисляли объем раковины ($V = \text{ШР}^2 \times \text{BP} / 2$), площадь устья ($S = 3,145 \times \text{ВУ} \times \text{ШУ} / 4$) и отношение этих двух параметров (V/S). Дополнительно, у *Ch. tridens* вычислялся степень развития приустьевой арматуры (индекс зазубленности) по формуле $\text{Index} = (\text{ВУ} + \text{ШУ}) / (a + b + c)$, где *a*, *b*, *c* – это расстояние между вершинами зубов: *a* – колумеллярного и париетального; *b* – колумеллярного и палатального; *c* – париетального и палатального.

У двух видов *C. vindobonensis*, *H. striata* учитывали композиции коричневых продольных полос на раковине. В популяциях *Br. fruticum* определяли частоту рецессивного аллеля, определяющего продольную коричневую полосу на раковине (*П+*) (Хохуткин, 1979). Кроме того, в исследуемых группах *Br. fruticum* учитывали частоту встречаемости различных цветовых вариантов окраски раковины, среди которых наиболее четко выделяется желтый цвет (*Ц₃*), определяемый нами как гомозиготный фенотип по аллелю желтой окраски (Снегин, 1999).

У *L. cervus* снимали следующие показатели: *L* – длина тела, *LH* – длина головы, *LB* – длина груди, *LBe* – длина надкрылий. Дополнительно у самцов измеряли длину верхних челюстей («рогов») (*LJ*).

Используемый нами метод электрофореза белков в полиакриламидном геле наиболее полно описан в серии работ (Мауер, 1974; Остерман, 1981; Гааль и др., 1982, Richardson et. al., 1986). В качестве генетических маркеров использовали следующие аллозимы: *Br. fruticum* – четыре локуса неспецифических мономерных эстераз (Макеева и др., 2005); *Ch. tridens* – пять мономерных локусов эстераз, три мономерных и один димерный локус супероксидисмутаза (Снегин, 2011); *C. vindobonensis* – три локуса неспецифических эстераз (Снегин, 2011); *H. striata* – три мономерных локуса

эстераз и один димерный локус супероксидсмутаз (Снегин, Сычев, 2011); *H. pomatia* - димерный локус эстераз (Снегин, 2010), димерный локус супероксидсмутазы и димерный локус малатдегидрогеназы (Снегин и др., 2012); *L. cervus* - один димерный локус неспецифических эстераз (Снегин, 2011).

Анализ полиморфизма ДНК проводили с использованием полимеразной цепной реакции, методами *RAPD* и *ISSR*, которые описаны в серии работ (Welsh, McClelland, 1990; Williams et al., 1990; Zietkiewicz et al., 1994; Gupta et al., 1994). Используемые праймеры и количество диагностированных нами полиморфных локусов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Количество полиморфных локусов, полученных при амплификации с использованием выбранных праймеров

Вид	Праймер	Количество локусов
<i>Br. fruticum</i>	<i>OPF 8</i>	14
	<i>It 1</i>	14
	<i>UBC 827</i>	16
<i>Ch. tridens</i>	<i>OPC 8</i>	13
	<i>UBC 827</i>	18
	<i>SAS 1</i>	18
<i>C. vindobonensis</i>	<i>OPA 10</i>	17
	<i>SAS 3</i>	18
<i>H. striata</i>	<i>OPA 1</i>	17
	<i>UBC 827</i>	17
<i>H. pomatia</i>	<i>OPF 7</i>	24
	<i>SAS 1</i>	18
<i>L. cervus</i>	<i>OPF 5</i>	16
	<i>OPF 12</i>	16
	<i>UBC 809</i>	16

Примененная нами методика получения хромосомных препаратов описана в работе Г. Макгрегор и Дж. Варли (1986). Для определения степени мутагенной нагрузки на биоценозы юга Среднерусской возвышенности нами был использован метод щелочного гель электрофореза изолированных клеток (ДНК-КОМЕТ) (Ostling, Johanson, 1984; Olive, Vanath, 2006; Сорочинская, Михайленко, 2008; Dhawan, Anderson, 2009). Химический анализ раковин проводился с помощью метода рентгенофлуоресценции на кристалл-дифракционном сканирующем спектрометре «Спектроскан». Определялось только валовое содержание элементов.

Объем материала. Морфо-генетический анализ: *Br. fruticum* – исследовано 814 раковин по морфометрии и 2223 раковины по цветовым вариантам; *Ch. tridens* - 1516 раковин; *H. striata* - 1477 раковин; *C. vindobonensis* - 632 раковины; *H. pomatia* - 253 раковины; *L. cervus* – 463 особи. Общий объем – 6564 экземпляра.

Изоферментный анализ: *Br. fruticum* – 2028 особей; *Ch. tridens* – 2450 особей; *H. striata* – 1025 особей; *C. vindobonensis* – 999 особей; *H. pomatia* – 169 особей; *L. cervus* – 455 особей. Общий объем – 7126 особей.

Анализ с использованием ДНК-маркеров: *Br. fruticum* – 1153 особи; *Ch. tridens* – 1145 особей; *H. striata* – 694 особи; *C. vindobonensis* – 488 особей; *H. pomatia* – 187 особей; *L. cervus* – 408 особей. Общий объем – 4075 особей.

Количество исследованных популяций: *Br. fruticum* – 40, *Ch. tridens* – 25, *H. striata* – 19, *C. vindobonensis* – 11, *H. pomatia* – 3, *L. cervus* – 4. Общее количество 102 популяции.

Статистическая обработка данных. Используемый нами статистический аппарат включал более 30 специальных формул и уравнений, применяемых в популяционной генетике. В частности, для оценки уровня генетического и фенетического разнообразия были использованы следующие показатели: среднее число фенотипов (μ), доля редких форм (h), доля полиморфных локусов (P), среднее число аллелей на локус (A), эффективное число аллелей (A_e), наблюдаемая гетерозиготность (H_o), ожидаемая гетерозиготность (H_e), индекс Шеннона (Ish), коэффициент инбридинга (F). Достоверность дефицита гетерозигот оценивался по критерию χ^2 (Ли, 1978). Для описания генетической дифференциации подразделенной популяции использовали формулы, предложенные С. Райтом (Wright, 1943, 1951), включающие коэффициенты инбридинга на разных уровнях популяционной иерархии (F_{st} , F_{is} , F_{it}) и показатель интенсивности потока генов (Nm), а также индекс G_{st} , определяющий долю межпопуляционного генного разнообразия в общем разнообразии (Nei, 1975).

Кроме F статистики С. Райта для описания подразделенной популяции нами проводился анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) (Excoffier L. et al., 1992; Excoffier L., 2001; Hartl, Clark, 1997), который позволяет сопоставлять не только частоту молекулярных маркеров, но и учитывать количество мутационных различий между разными генами. Генетическое расстояние (D) и индекс генетического сходства (I) определяли по формулам, предложенным Неем (Nei, 1972). Кластерный анализ проводили невзвешенным парногрупповым методом (UPGMA). В определении эффективной численности популяций (N_e) было задействовано 6 математических моделей.

Для статистической обработки данных использовались пакеты программ Statistica 6 (TL 835), GenAlEx (Peakall, Smouse, 2001), TFPGA (Miller, 1997), PopGene 1.32 (Yeh et al., 1999), MEGA5 (Tamura et al., 2011).

Глава 4 ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХИМИЧЕСКОГО И ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДОВ

4.1 Содержание химических элементов в раковинах наземных моллюсков в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов

На первом этапе исследований был проведен химический анализ раковин исследуемых видов моллюсков (*Br. fruticum*, *Ch. tridens*, *E. strigella*) в зоне влияния Лебединского и Стойленского горно-обогатительных комбинатов

(ГОК). Всего анализу было подвергнуто более 500 раковин из 14 пунктов на содержание 18 элементов. Из них ни в одной пробе не были обнаружены ртуть (Hg) и таллий (Tl). Схема, отражающая концентрацию элементов в раковинах в порядке убывания, выглядит следующим образом:

Fe>Zn>Al>Cu>Mn>Pb>Co>Ni>Cr>Se>Sb>Cd>V>Mo>As>Be

Межвидовое сопоставление концентраций элементов выявило, что *E. strigella* по содержанию большинства элементов хоть и превосходил два остальных вида, но только по марганцу в отношении *Ch. tridens* было получено достоверное отличие ($t= 2,6$, при $p \leq 0,05$). Это показывает отсутствие связи между уровнем накопления элементов и особенностью биологии изучаемых видов, в частности их питанием (*Br. fruticum* - фитофаг, а *Ch. tridens* и *Euomphalia strigella* питаются гниющими частями растений и почвенными грибами).

Почвенные же образцы из этих же пунктов по содержанию пятнадцати элементов превзошли образцы раковин, из них по десяти – достоверно (при $p \leq 0,05$). Только по цинку был получен противоположный результат. Причем повышенное содержание цинка в раковинах отражает общую тенденцию увеличения фактора обогащения этого элемента для животных. Таким образом, подтверждается аксиома, согласно которой химизм живой материи отличается от химизма окружающего пространства и живые объекты по уровню накопления элементов в инертных биоконтейнерах (раковинах) отражают фактическую загрязненность экосистемы, а не потенциальную, являются лучшими индикаторами загрязнения, чем почвенные образцы.

Сопоставление пунктов по степени концентрации элементов в раковинах, проводимое с помощью суммарного химического показателя, позволило выявить точки с повышенным накоплением различных элементов как вблизи комбинатов, так и на удалении от них (из-за рассеивания поллютантов, выходящих из труб комбинатов). Кроме того, отмечено, что в зонах влияния ГОКов, по сравнению с контрольными точками, более чем в восьмидесяти процентах раковин, отмечено превышение по селену, марганцу и меди.

4.2 Использование наземных моллюсков в качестве индикаторов для оценки токсичности среды в отношении ДНК живых организмов (на основе метода ДНК-комет)

Исследования проводились на трех видах *Br. fruticum*, *Ch. tridens*, *S. vindobonensis*. Для анализа использовали ткань гепатопанкреаса. Исследовали по 10 особей из 14 популяций. Согласно полученным данным, несмотря на сильную урбанизацию района исследования, уровень повреждения ДНК в исследуемых группах моллюсков можно считать незначительным, т.к. полученные средние показатели индекса ДНК-комет (ИДК) не достигают даже первой стадии разрушения. Это с одной стороны говорит об отсутствии в пунктах сбора сильных повреждающих факторов, обладающих генотоксичным эффектом, а с другой стороны демонстрирует активные репарационные и гомеостатические процессы, протекающие в организме животных, нейтрализующих отрицательные воздействия средовых компонентов. По нашим данным прослеживается только тенденция увеличения степени

повреждения ДНК в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов, вблизи автомобильных дорог, в условиях города, а также в естественных сообществах, включая ООПТ, расположенных недалеко от сельскохозяйственных угодий. Например, в микропонижениях рельефа заповедного участка «Стенки Изгорья» отмечено самое большое для района исследования значение ИДК ($0,35 \pm 0,21$), вызванное смывом сюда пестицидов и удобрений с примыкающих пшеничных полей.

Кроме того, нами зафиксированы достоверные отличия долей поврежденной ДНК у молодых и взрослых особей моллюсков одной популяции. Поэтому мы считаем, что при использовании этого метода сопоставление нужно проводить только по одновозрастным группам.

Глава 5 МОРФО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ИЗУЧАЕМЫХ ВИДОВ

Фенетический подход к анализу внутривидовой изменчивости изучаемых видов моллюсков явился отправной точкой наших популяционных исследований. Морфометрические данные, а также видимые дискретные цветовые варианты фенотипа позволили судить о генетической конституции выделенных популяций и определить векторы естественного отбора в различных биотопах. Усредненные данные абсолютных параметров приведены в таблице 2.

Таблица 2

Средние значения промеров раковин моллюсков на территории юга
Среднерусской возвышенности (мм, ЧО – число оборотов)

Вид	ЧО	BP	ШP	BY	ШУ	BЗ
<i>Br. fruticum</i>	$5,2 \pm 0,1$	$14,9 \pm 0,6$	$17,9 \pm 0,6$	$9,9 \pm 9,9$	$9,4 \pm 0,3$	$6,0 \pm 0,4$
<i>C. vindobonensis</i>	$5,5 \pm 0,08$	$18,4 \pm 0,5$	$20,7 \pm 0,5$	$11,5 \pm 0,2$	$10,5 \pm 0,3$	$10,4 \pm 0,5$
<i>H. striata</i>	$5,1 \pm 0,05$	$6,6 \pm 0,2$	$9,6 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$
<i>H. pomatia</i>	$4,33 \pm 0,0$	$34,3 \pm 1,3$	$33,6 \pm 1,1$	$23,4 \pm 0,9$	$20,1 \pm 1,1$	$11,3 \pm 0,9$
<i>Ch. tridens</i>	$6,6 \pm 0,1$	$10,5 \pm 0,1$	$4,8 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,06$	$4,1 \pm 0,1$

Br. fruticum. Дисперсии популяций по метрическим признакам вызваны в основном микробиотопическими условиями, при этом во влажных биотопах размер раковин оказался больше, чем в сухих. Кроме того, наиболее прижатые раковины ($BP/ШP=0,80 \pm 0,01$; $BЗ/BP=0,34 \pm 0,02$), имеющие при этом узкое устье ($BY/ШУ=0,89 \pm 0,03$), были отмечены в нетипичных для вида условиях – открытых скальных обнажениях девонских известняков с узкими трещинами, где в дневные часы укрываются улитки от перегрева (заповедник «Галичья гора», участок «Воргольское»). За пределами Среднерусской возвышенности подобные формы раковин встречены нами в предгорьях Трансильванских Альп.

В отношении особей с желтой окраской раковины в 9 пунктах района исследования зафиксировано достоверное повышение частоты встречаемости аллеля, определяющего данный фенотип, достигающее до 0,960 (при среднем региональном показателе $q=0,359 \pm 0,057$). Причем 6 из них были расположены в зоне воздействия Стойленского и Лебединского ГОК, и еще 3 в степной зоне.

При распределении частот особей с продольной полосой на раковине в изучаемых популяциях *Br. fruticum*, мы получили картину, большей частью противоположную картине распределения фена C_3 . Особенно это касается пунктов промышленной зоны, где отмечены достоверно низкие частоты встречаемости этого фенотипа, по сравнению с рядом удаленных от ГОКов участках. Такая тенденция на первый взгляд, может быть связана с деградацией растительности и осветлением биотопов в антропогенном районе, т.к. ранее в ряде наблюдений и экспериментов показано, что полосатые особи больше предпочитают тенистые биотопы (Матекин, Макеева, 1979; Рункова и др. 1974; Макеева, 1989, 2005, 2008). Но, более детальное изучение этого явления, включающего временную динамику изменения частот окрасочных фенов, не позволяет сделать нам столь однозначные выводы. Во-первых, в некоторых группах наблюдалось сочетание процессов увеличения частот аллелей, контролирующих желтый цвет с наличием полосы на раковине. Во-вторых, в сходных по затенению биотопах отмечены достоверно разные значения частот этих аллелей. В-третьих, нами выявлены достоверные колебания частот аллелей этих фенов в популяциях в разные годы без видимых нарушений биотопов. Кроме того факт увеличения частоты фена C_3 может указывать на повышенный радиационный фон на этих территориях (Снегин, 2010). Наши данные отчасти согласуются с мнением о том, что осцилляция частот встречаемости полосатых и бесполосых морф скореллирована с колебаниями климатических факторов (температуры и влажности) в разные годы (Зейферт, Хохуткин, 2010).

Таким образом, можно отметить, что изменения частот фенов окраски и характера опоясанности раковины в популяциях *Br. fruticum* имеют полифакторный характер, и использование их в качестве биоиндикаторных признаков возможно только на базе длительного мониторинга. В качестве экспресс-диагностики такие источники информации можно применять, но только для грубого приближения.

C. vindobonensis. Наибольшие размеры раковины у этого вида по нашим данным отмечаются в городских биотопах и во влажных поймах естественных сообществ, при этом наблюдается уменьшение абсолютных размеров в локальных популяциях, обитающих в более сухом климате. Наибольшее разнообразие вариантов рисунка на раковине отмечено в интродуцированных городских и естественных островных популяциях (в г. Пенза и на о. Хортица), что является следствием конкурентного вакуума, отсутствия хищников и особого микроклимата города.

H. striata. Результаты морфометрического анализа показали, что наибольшие размеры раковины отмечены в пунктах промышленной зоны ГОК. Число продольных полос на раковинах варьирует от 0 до 12. Общее количество вариантов рисунка для района исследования составило 174. Наименьшее разнообразие по рисунку раковины отмечено также в промышленных районах.

H. pomatia. Согласно полученным данным достоверно большие показатели метрических признаков раковины имеют представители группы, обитающей на границе агроландшафта, вдали от источников воды. В остальных

группах, живущих во влажных поймах, особи имеют достоверно меньшие размеры.

Ch. tridens. Размеры раковин у этого вида обусловлены в большей степени особенностями исторически сформированных популяционных генофондов под действием микроклиматических условий, чем современными изменениями среды обитания. Большинство исследуемых групп на юге Среднерусской возвышенности относятся к варианту “*galiciensis*”, имеющих меньшую раковину ($BP < 12$ мм) по сравнению с вариантом “*albolimbata*” ($BP < 15$ мм, к которому относится только одна группа из заповедного участка «Стенки Изгорья»). По индексу зазубленности устья было показано увеличение степени ксерофитизации биотопов промышленных территорий ($Index = 2,46 \pm 0,05$). Аналогичная картина наблюдается в расположенных южнее степных районах ($2,60 \pm 0,06$). Во влажных биотопах $Index = 1,97 \pm 0,05$.

Интродуцированная группа северокавказской формы *Ch. tridens major* (BP доходит до 20 мм), обнаруженная нами в 2001 г. на территории г. Белгорода, на основании сопоставления с местными представителями этого вида по большинству морфометрических показателей, по нашим данным заслуживает ранг подвида.

Кластерный анализ, проведенный по совокупности метрических признаков, демонстрирует у всех изученных видов моллюсков значительную дифференциацию их популяций. При этом только у *H. striata* образуемые кластеры соответствуют географической близости групп. У остальных видов подобной корреляции не прослеживается.

Проведенный однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) морфометрических признаков у всех видов моллюсков показал большую дифференциацию популяций в условиях лесостепного ландшафта. Почти по всем показателям у всех изученных видов межпопуляционные варианты достоверно превзошли внутривидовые варианты (при $P \leq 0,05$).

L. cervus. В районе исследования длина тела самцов колебалась в диапазоне от 28,7 до 59,0 мм., а самок – от 28,5 до 44,5 мм. При этом результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) показали, что по сравнению с исследуемыми видами моллюсков процент достоверных отличий между популяциями жука-олени намного ниже. В частности у самцов достоверные отличия отмечены только по длине головы (LH) и индексу LH/L . Это связано с тем, что на голове находятся мандибулы, используемые как турнирное оружие и обеспечивающие тем самым конкурентоспособность особей в борьбе за самку. Среди самок по абсолютным показателям наибольшие достоверные межгрупповые отличия отмечены по длине надкрылий (LBe). Этот признак отражает степень дифференциации групп в развитии половых органов, расположенных в брюшке, длина которого достоверно коррелирует с длиной надкрылий. Причем у самок уровень межгрупповой разобщенности по метрическим характеристикам оказался выше, т.к. они менее подвижны. Кроме того, в группах жука-олени нами отмечены резко отличающиеся по размерам особи, как среди самцов, так и среди самок. Известно, что уменьшение размеров ухудшает их репродуктивные

возможности. Поэтому, учитывая частоту встречаемости этого признака, мы оценили шансы на успешное размножение изучаемых групп. Данные демонстрируют, что во всех группах преобладают крупные особи. Наибольший процент самцов (45,8%), имеющих длину тела менее 40 мм, отмечен в восточной части района исследования. Здесь же зафиксирован и наибольший процент самок (35,3%) с длиной тела менее 35 мм.

Глава 6 ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ ВИДОВ-ИНДИКАТОРОВ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В УСЛОВИЯХ УРАБНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЯ

В своей оценке состояния популяций исследуемого региона мы исходили из двух основных представлений. Согласно первому представлению, критерием стабильного существования популяции является уровень ее аллельного и генотипического разнообразия. При этом, оценивая степень гомозиготности (или гетерозиготности), можно оценить степень устойчивости популяций в каждый данный момент времени (Franklin 1980; Falconer, 1981). Согласно второму представлению в условиях антропогенного прессинга усиливаются ответные компенсаторные реакции со стороны популяционных генофондов. Это явление отражено в представлении о генетической революции (Майр, 1968), в метапопуляционной модели (Hanski, 1998, 1999, Tomimatsu, Ohara, 2003), в демографических наблюдениях (Ray, 2001) а также в положениях «теории эволюции со смещающимся равновесием» (Wright, 1970). Кроме того, считаем немаловажным отметить имеющиеся факты противодействия инбридинговой депрессии со стороны генов-модификаторов (Ланде, Берроуклаф, 1989) и компенсаторного комплекса генов (Струнников, 1974).

6.1 Оценка состояния популяционных генофондов *Bradybaena fruticum* в условиях юга Среднерусской возвышенности

Мониторинг состояния популяций наземного моллюска *Br. fruticum* на юге Среднерусской возвышенности нами проводится с 1996 г. Предыдущими исследованиями было установлено, что в изучаемом районе в большинстве групп этих улиток отмечалось повышенное содержание гомозиготных генотипов (по локусу *EST2*), и сокращение аллельного разнообразия по сравнению с популяциями других регионов (Снегин, 1999). Вместе с тем, нужно подчеркнуть, что анализ генетических процессов по одному локусу был сопряжен с определенной долей ошибок, т.к. по новым данным уровень гетерозиготности достоверно отличается в разных локусах эстераз.

По всей совокупности используемых изоферментных локусов из 160 вариантов в 27,5 % случаев зафиксирован достоверный ($P \geq 0,05$) дефицит гетерозиготных комбинаций, еще в 20 % случаев наблюдается фиксация того или иного аллеля. Только в 3,1 % случаев отмечен достоверный избыток гетерозиготных комбинаций. При этом наиболее мономорфными оказались 5 популяций, обитающих в биотопах, примыкающих к ГОК ($H_o = 0,026 \pm 0,030$), из них в двух группах была отмечена 100 % гомозиготность по всем локусам эстераз. Немаловажным считаем то, что в отмеченных пяти пунктах промышленной зоны, судя по химическому анализу раковин, отмечаются самые

высокие для района ГОК значения суммарного химического показателя. Кроме того, обращает на себя внимание и тот факт, что в некоторых популяциях района влияния ГОК зафиксирован отбор редких для лесостепи комбинаций аллелей эстераз (в частности генотипа *EST2-33*).

Уравнение линейной регрессии между теоретической и фактической гетерозиготностью демонстрирует тенденцию смещения линии тренда в сторону фактической составляющей H_o ($b=0,878\pm 0,082$) (метод предложен С. С. Крамаренко, устное сообщение). При этом в зоне влияния ГОК линия тренда приближается к теоретической, в основном из-за фиксации аллелей по ряду локусов ($b=0,957\pm 0,121$), а в 12 популяциях, обитающих на территории ООПТ, отмечается достоверный избыток гетерозигот ($b=0,689\pm 0,149$), при среднем значении $H_o=0,290\pm 0,044$.

По 44 локусам ДНК средний уровень гетерозиготности составил $0,206\pm 0,028$ (табл. 3). Среди популяций Среднерусской возвышенности наибольшие показатели генетической изменчивости отмечены в группах, обитающих на особо охраняемых природных территориях ($H_e=0,253\pm 0,030$). Сходный высокий уровень изменчивости зафиксирован в популяциях Вятского региона, Урала и Румынии. Наиболее мономорфными, по нашим данным, оказались популяции, также обитающие в зонах влияния ГОК ($H_e=0,164\pm 0,026$).

Степень дифференциации популяций *Br. fruticum*, оцененная на основе различных индексов (табл. 4), демонстрирует повышенную разобщенность изученных групп в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности. При этом наибольшую разобщенность популяций демонстрирует анализ молекулярной дисперсии ($\Phi_{st}=0,300$; $0,298$ по изферментам и ДНК соответственно), при этом до 30 % генетической изменчивости приходится на межпопуляционные варианты.

Результаты кластерного анализа на основе генетических расстояний показывают сильную генетическую дивергенцию изучаемых популяций, как по ДНК-локусам, так и по локусам изоферментов. Такая оригинальность связана с нарушением естественно сложившихся каналов миграции генов между популяциями в урбанизированном ландшафте. Этот вывод подтверждается отсутствием достоверной корреляции между географической дистанцией между популяциями и попарными оценками F_{st} и Φ_{st} . С другой стороны, популяции, находящиеся на территории ГОК, в силу сходных здесь векторов естественного отбора и дрейфа генов, вошли в один кластер, и по степени приближения к нему можно судить о сходных генетических процессах, происходящих в других группах.

Таким образом, на основании изложенных результатов, можно говорить о продолжающейся тенденции увеличения степени гомозиготности в ряде «антропогенных» популяций кустарниковой улитки изучаемого региона. Причиной этого полагаем, помимо антропогенной инсуляризации, является «принцип основателя» и, как следствие, «генетическая революция» (по Э. Майру, 1968) из-за постоянного возникновения в промышленных районах новых колоний на месте погибших групп. Источниками мигрантов являются

крупные малоизмененные популяции, с высоким уровнем разнообразия, включая популяции из ООПТ, которые служат резервными генбанками для окрестных локалитетов. При этом основным фактором переноса улиток является человек через сенозаготовку и транспортировку сельхозпродукции. Естественное расселение кустарниковой улитки в условиях лесостепного и степного ландшафта может происходить только по поймам рек. Исходя из такого сценария, распределение популяций кустарниковой улитки на изучаемой урбанизированной территории соответствует метапопуляционной модели.

6.2 Оценка состояния популяционных генофондов *Chondrula tridens* в условиях юга Среднерусской возвышенности

В популяциях *Ch. tridens* в 38,2 % случаев отмечается достоверный ($P \geq 0,05$) дефицит гетерозиготных генотипов изоферментов, в 32,4 % случаев выявлена полная гомозиготность по одному из аллелей. Достоверный избыток гетерозигот зафиксирован только в 1,8 % случаев. Дефицит гетерозигот в изученных популяциях *Ch. tridens* демонстрирует уравнение прямолинейной регрессии, согласно которому в большинстве случаев значения склоняются в сторону ожидаемой гетерозиготности He ($b=1,180 \pm 0,082$). При этом у данного вида, в отличие от *Br. fruticum*, не отмечено достоверного сокращения аллельного разнообразия в промышленных районах.

По 49 локусам ДНК, также как и по аллозимам, наиболее гетерогенными оказались популяции, обитающие в некоторых ООПТ, а также в городских условиях на участках, где сохранились островки естественных меловых обнажений со степной растительностью.

Межпопуляционное разнообразие, оцениваемое по индексам подразделенности (Fst , Gst , Φst) (табл. 4), по совокупности локусов оказалось меньше чем в случае с *Br. fruticum*. Средний же поток генов между популяциями (Nm) увеличился, а по статистике С. Райта оказался больше единицы и составил 1,189 особь на поколение. С одной стороны, это вызвано тем, что в районе исследования площадь пригодных биотопов для *Ch. tridens* значительно больше, чем для *Br. fruticum* (до 20% от общей территории, против 9 %), и такая эвритопность способствует меньшей разобщенности популяций. Но, с другой стороны, такая общность наблюдается на фоне большего коэффициента инбридинга и меньшей гетерозиготности по сравнению с кустарниковой улиткой (табл. 3). Это говорит о том, что генетическое сходство групп обеспечивается не повышенной миграцией, а тем, что в условиях изоляции в популяциях *Ch. tridens* увеличивается частота гомозиготных комбинаций по одним и тем же аллелям, что обеспечивается сходными векторами естественного отбора в условиях лесостепи, а также дрейфом генов в изолированных группах.

Результаты кластерного анализа на основе генетических расстояний показывает весьма пеструю картину распределения популяций по группам. При этом отсутствует связь уровня разобщенности групп (Fst и Φst) с географической дистанцией между популяциями, о чем говорит анализ регрессии между этими двумя параметрами (табл. 4). С другой стороны, популяции *Ch. tridens*, обитающие в условиях нарушенной среды,

обусловленной влиянием ГОК, также как и в случае с *Br. fruticum*, оказались в одном кластере, что, свидетельствует о сходных здесь генетических процессах.

Проведенные сопоставления частот аллелей изоферментов в разных возрастных группах популяций *Ch. tridens* с помощью точного критерия Фишера (Фишер, 1958) позволили выявить достоверные изменения соотношения частот аллелей внутриклеточных ферментов с возрастом, что связано с изменением пищевого предпочтения и с изменением метаболических реакций в период полового созревания.

Изучение структуры генофондов колоний крупной формы *Ch. tridens major* (о которой говорилось в пятой главе) показало их значительную генетическую дистанцию от смежных колоний малой формы. Предполагаемый факт полиплоидизации, который мог бы обеспечить увеличение размеров, был нами исключен, т.к. хромосомный набор оказался одинаковым у малой и крупной формы ($2n=38$). Кроме того, в интродуцированной колонии на протяжении 7 лет наблюдений отмечалась повышенная гомозиготность по изоферментным локусам ($H_o=0,068\pm 0,002$). Такая мономорфность вызвана «принципом основателя» и отсутствием скрещивания с местными представителями малой формы «*galiciensis*» (с которыми они обитают в одном биотопе). Что также подтверждает предполагаемый подвидовой статус «крупной» формы. Обращает на себя внимание и тот факт, что, несмотря на пониженную гетерозиготность, за эти годы группа не только прижилась, но и увеличила численность и активно расширила свой ареал, что свидетельствует о том, что в колониях «крупной» формы, в результате стохастических процессов и действия отбора, идет формирование новой сбалансированной генетической системы, адекватной новым условиям. Данный факт демонстрирует потенциальные возможности генетической системы данного вида, позволяющие ему активно осваивать урбанизированные ландшафты.

Глава 7 ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ УЯЗВИМЫХ ВИДОВ

Оценка состояния популяций уязвимых видов в настоящее время включает комплекс исследований различных сторон их биологии. Одним из важных аспектов такого подхода является изучение популяционных генофондов этих видов, позволяющее с той или иной долей вероятности спрогнозировать дальнейший ход генетических флуктуаций и оценить шансы на выживание этих видов.

7.1 Оценка состояния популяционных генофондов особо охраняемого вида *Helicopsis striata*

По уровню генетического разнообразия *H. striata* достоверно не отличается от индикаторных видов *Br. fruticum* и *Ch. tridens* (табл. 3). Согласно полученным данным по изоферментным маркерам в 22,4 % случаев отмечается достоверный ($P\geq 0,05$) дефицит гетерозиготных фенотипов, в 35,5 % процентов случаев отмечена полная гомозиготность по одному из аллелей. Достоверный избыток гетерозигот зафиксирован только в одном случае. В остальных вариантах отсутствовали достоверные различия между фактической и

теоретической гетерозиготностью, что отразилось на графике их линейной регрессии, согласно которому наблюдается смещение значений в сторону H_e , при $b=1,092\pm 0,124$.

Анализ изменчивости в отдельных популяциях показал сходные значения гетерогенности как по аллозимам, так и по ДНК-маркерам. Наименьший уровень аллельного и генотипического разнообразия зафиксирован в пяти пунктах зоны влияния ГОК. Здесь же отмечены наиболее высокие для района исследования значения коэффициента инбридинга. Из них в двух пунктах наблюдалась полная гомозиготность по всем локусам аллозимов. Аналогичную картину мы наблюдали в популяциях степных биотопов, расположенных в 130 км. к югу от зоны ГОК (последняя входит в состав лесостепного биома). При этом уменьшение уровня генетического разнообразия, по нашим данным, не сопровождалось уменьшением численности и плотности, доходящей в локальных популяциях до 100 взрослых особей на 1 м^2 . Стоит отметить также, что повышение уровня гомозиготности даже в сильно удаленных группах *H. striata*, как в степных, так и в лесостепных биотопах обеспечивалось одними и теми же аллелями *Est5-3*, *Est6-3*, *Est8-2*, *Sod2-1*, которые можно считать «революционными» генами-солистами по Майру (1968).

Анализ степени дифференциации изучаемых популяций *H. striata* выявил их значительную разобщенность. Коэффициент инбридинга F_{st} , индексы G_{st} и Φ_{st} во всех случаях оказались выше, чем у индикаторных видов *Br. fruticum* и *Ch. tridens*, а средний поток генов между популяциями степной улитки уменьшился почти в два раза (табл. 4). При этом анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) показал, что от 50% до 60% изменчивости приходится на межпопуляционные различия.

Результаты кластерного анализа матрицы генетических расстояний показали более прогнозируемую картину, т. к. географическое положение популяций, в отличие от других видов, оказало определенное влияние на их схожесть в соотношении частот аллелей и их комбинаций. В целом, по сравнению с индикаторными видами, у *H. striata* отмечена достоверно более высокая корреляция между попарными оценками индексов подразделенности (F_{st} и Φ_{st}) и географической дистанцией между популяциями (табл. 4). При этом, популяции улиток, обитающие в условиях нарушенной среды, обусловленной влиянием горно-обогатительных комбинатов, также как у индикаторных видов, образовали единый кластер.

Таким образом, исходя из приведенных данных, можно утверждать, что популяционная структура *H. striata* в условиях юга Среднерусской возвышенности носит более упорядоченный характер, и больше соответствует модели «изоляции расстоянием» (Wright, 1943). Особенности биологии вида, в частности приуроченность его к реликтовым степным сообществам вкупе с ограниченными возможностями расселения, не позволяют ему подойти к формированию метапопуляционной структуры. В этой связи генетические перестройки в популяциях данного вида, в силу его стенотопности, будут лучшими показателями сукцессионных изменений, происходящих в биотопах под действием всевозможных факторов, включая антропогенные.

Таблица 3

Средние показатели генетического разнообразия в популяциях изучаемых видов

Вид	<i>H_o</i> (по ИФЛ)	<i>F</i> (по ИФЛ)	μ (по ИФЛ)	<i>A_e</i>		<i>H_e</i>		<i>I_{sh}</i>	
				ИФЛ	ДНК	ИФЛ	ДНК	ИФЛ	ДНК
<i>Br. fruticum</i>	0,215±0,087	0,283±0,178	1,82±0,27	1,45±0,20	1,34±0,05	0,244±0,091	0,206±0,028	0,417±0,144	0,318±0,039
<i>Ch. tridens</i>	0,158±0,060	0,490±0,137	1,89±0,31	1,51±0,22	1,42±0,05	0,233±0,082	0,250±0,025	0,416±0,142	0,381±0,034
<i>H. striata</i>	0,203±0,055	0,313±0,133	1,86±0,23	1,59±0,21	1,34±0,06	0,267±0,066	0,207±0,030	0,450±0,111	0,317±0,042
<i>C. vindobonensis</i>	0,165±0,063	0,183±0,162	1,69±0,43	1,30±0,15	1,20±0,04	0,206±0,082	0,177±0,020	0,361±0,134	0,284±0,028
<i>H. pomatia</i>	0,265±0,133	0,223±0,187	1,82±0,37	1,56±0,30	1,38±0,05	0,294±0,120	0,232±0,025	0,471±0,178	0,357±0,034
<i>L. cervus</i>	0,404±0,021	0,167±0,037	1,98±0,01	1,94±0,02	1,54±0,05	0,485±0,006	0,317±0,023	0,678±0,006	0,477±0,028

Таблица 4

Средние показатели генетической дифференциации популяций изучаемых видов

Вид	<i>F</i> -статистика Райта (по ИФЛ)				Анализ Нея (по ДНК)		АМОВА						<i>Rdis</i>	
	<i>F_{st}</i>	<i>F_{is}</i>	<i>F_{it}</i>	<i>N_m</i>	<i>G_{st}</i>	<i>N_m</i>	<i>V_{ap}/V_{wp}</i> (%)		Φ <i>st</i>		<i>N_m</i>		<i>F_{st}</i> (по ИФЛ)	Φ <i>st</i> (по ДНК)
							ИФЛ	ДНК	ИФЛ	ДНК	ИФЛ	ДНК		
<i>Br. fruticum</i>	0,228	0,061	0,275	0,846	0,254	1,47	30/70	30/70	0,300	0,298	0,628	0,708	0,007±0,063	0,058±0,063
<i>Ch. tridens</i>	0,174	0,324	0,442	1,189	0,177	2,33	30/70	19/81	0,295	0,185	0,616	0,954	0,020±0,069	0,085±0,069
<i>H. striata</i>	0,356	0,165	0,444	0,452	0,358	0,895	50/50	60/40	0,497	0,404	0,288	0,360	0,514±0,066	0,467±0,068
<i>C. vindobonensis</i>	0,198	0,164	0,353	1,012	0,226	1,712	19/81	24/76	0,195	0,261	0,753	0,716	-0,320±0,263	0,207±0,272
<i>H. pomatia</i>	0,152	0,109	0,246	1,393	0,137	3,14	23/77	22/78	0,230	0,215	0,729	0,901	-	-
<i>L. cervus</i>	0,005	0,166	0,171	50,1	0,040	11,98	0/100	5/95	0,000	0,047	596,0	3,97	-	-

Примечание: ИФЛ – изоферментные локусы; *Rdis* – коэффициент корреляции между географическими дистанциями и показателями попарных оценок подразделенности популяций (*F_{st}* и Φ *st*), прочерки означают отсутствие достоверности коэффициента корреляции из-за малого количества исследуемых групп.

7.2 Оценка состояния популяционных генофондов особо охраняемого вида *Cerpea vindobonensis*

В популяциях *C. vindobonensis* отмечена пониженная генетическая изменчивость по сравнению с предыдущими видами, особенно по ДНК-маркерам (табл. 3). В 30,3 % случаев наблюдается достоверный дефицит гетерозигот, а в остальных вариантах достоверных отличий между фактической и теоретической гетерозиготностью не наблюдалось. При этом, линия тренда на графике прямолинейной регрессии между H_o и H_e приближается к теоретической линии (при $b=0,958\pm 0,195$).

Среди исследуемых шести популяций юга Среднерусской возвышенности невысокий уровень изменчивости по аллозимам отмечен в трех группах, причем в двух из них ранее зафиксировано также меньшее число фенотипов по цветовым вариантам раковины. За пределами Среднерусской возвышенности наиболее мономорфной оказалась группа с острова Хортица, расположенного на р. Днепр.

Причем, стоит отметить, что уровень изменчивости по ДНК-локусам не всегда коррелировал с таковым по изоферментным маркерам. Например, наиболее оригинальной и гетерогенной группой, причем как в отношении генетических комбинаций аллозимов ($H_o=0,275\pm 0,038$; $H_e=0,300\pm 0,043$), так и конхиологических признаков, являлась интродуцированная колония из г. Пенза. Однако по ДНК-маркерам эта группа оказалась самой мономорфной из всех изученных нами групп этого вида ($H_e=0,112\pm 0,028$). В этой связи, полагаем, что этот случай хорошо демонстрирует различия генетических процессов, протекающих в кодирующей части генома, подверженных естественному отбору, и в остальной части «молчащей» ДНК, подчиняющихся генетико-автоматическим законам.

Оценка степени дифференциации шести популяций Среднерусской возвышенности с использованием F -статистики С. Райта, метода Нея и AMOVA (табл. 4) показала довольно значительную, но все же меньшую разобщенность групп в сравнении, например, с *H. striata*. Это связано с эвритопностью австрийской улитки, которая в районе исследования обитает в поймах, в меловых борах, нагорных дубравах и на остепненных склонах.

Кластерный анализ показал, что также как в случае с видами индикаторами *Br. fruticum* и *Ch. tridens*, географическое положение популяций не оказывает влияния на схожесть их в соотношении частот аллелей и генотипов. Анализ регрессии не выявил достоверной коррелятивной зависимости попарных оценок индексов подразделенности популяций с географической дистанцией между ними, а в случае с F_{st} было получено отрицательное значение коэффициента корреляции (табл. 4).

Стоит отметить, что юг Среднерусской возвышенности является крайней восточной точкой ареала этого вида. Результаты исследования показали, что уровень изменчивости популяций *C. vindobonensis* в этом районе, выявленный как по ДНК-маркерам, так и по аллозимам не уступает, а в некоторых случаях превосходит аналогичный уровень изменчивости в естественных группах,

обитающих западнее. Что, полагаем, является положительным сигналом в плане оценки жизнеспособности популяций этого особо охраняемого вида.

7.3 Оценка состояния популяционных генофондов особо охраняемого вида *Helix pomatia*

Средние показатели генетической изменчивости изученных популяций *H. pomatia* достоверно не отличаются от уровня полиморфизма других изученных видов моллюсков (табл. 3). Причем, как в случае с *C. vindobonensis*, изменчивость ДНК-локусов у виноградной улитки не коррелирует с аллозимной изменчивостью. Например, колония из г. Харьков по изоферментным системам оказалась наиболее мономорфной ($H_o=0,140\pm 0,124$, $H_e=0,173\pm 0,157$), а по уровню гетерозиготности ДНК-локусов ($H_e=0,302\pm 0,022$) превзошла две другие колонии из г. Белгорода ($H_e=0,275\pm 0,026$) и пос. Майский Белгородского района ($H_e=0,119\pm 0,026$).

Анализ уровня генетической дифференциации изученных групп *H. pomatia* показал самое низкое среди изученных видов моллюсков значение индексов подразделенности (табл. 4). С одной стороны это, вероятно, связано с небольшим количеством исследованных популяций, а с другой стороны показывает их общность, как по маркерам ДНК, так и по изоферментным локусам (особенно по локусу *SOD 2*, $F_{st}=0,087$). Анализ молекулярной дисперсии по ДНК-локусам, также как в случае с ферментными системами, показал относительно небольшую разобщенность между популяциями *H. pomatia* – 22-23 % изменчивости пришлось на межпопуляционные различия.

Оценки генетического расстояния продемонстрировали, что колонии «Харьков» и «Майский» более сходны по соотношению частот аллелей изоферментов. Причем аналогичную картину мы получили и по большинству конхиологических признаков. Однако анализ полиморфизма ДНК выявил иное соотношение – группа «Майский» дистанцировалась от кластера «Харьков» / «Белгород». Данный пример еще раз демонстрирует, что для получения объективной картины состояния популяционных генофондов необходимо использовать как можно больше признаков. Однокомпонентная диагностика сопряжена с большими ошибками наблюдения.

7.4 Оценка состояния популяционных генофондов особо охраняемого вида *Lucanus cervus*

Выборки из популяций *L. cervus*, для получения репрезентативной картины, были объединены нами в 4 группы по географической привязке: 1 - Центральная группа (долина р. Северский Донец), 2 - Западная группа (долина р. Ворскла), 3 - Северная группа (район, примыкающий к ГОК), 4 - Восточная группа (долина р. Оскол).

Анализ частот аллелей локуса эстераз (*LCEst3*) показал, что все исследуемые группы находятся в состоянии равновесия по данному гену, согласно закону Харди - Вайнберга. Кроме того, во всех группах отмечены высокие показатели генетической изменчивости и пониженные значения коэффициента инбридинга. Показатели генетической гетерогенности по 48 локусам ДНК также показали сходные высокие результаты по всем четырем

исследуемым группам. При этом наиболее полиморфными оказались первая и вторая группы.

Использование F -статистики Райта позволило выяснить, что индекс пространственной дифференциации у вида незначителен ($F_{st} = 0,005$). Об этом же говорит довольно высокий средний поток генов между популяциями ($N_m=50,1$). Оценка степени дифференциации популяций *L. cervus* на основе модели, предложенной М. Неем (1975) по локусам ДНК также показала низкую разобщенность изучаемых групп ($G_{st}= 0,040$). При этом средний поток генов оказался намного больше единицы ($N_m=11,98$). Анализ молекулярной дисперсии по изоферментам не выявил дифференциации, а по ДНК-локусам показал очень низкую разобщенность между группами *L. cervus*. Только 5 % изменчивости пришлось на межпопуляционные варианты, при этом $\Phi_{st}=0,047$, а $N_m=3,97$ (табл. 4).

Кластерный анализ генетических расстояний как по аллозимам, так и по ДНК-маркерам выявил большую генетическую близость сравниваемых групп, что позволяет рассматривать население этого вида в районе исследования как единую панмиктическую популяцию. А высокие показатели гетерогенности говорят о высокой жизнеспособности изученных групп.

Кроме того, в окрестностях г. Белгород нам удалось провести многолетний мониторинг генетической структуры существующих там популяций, показывающий перенос генов между, на первый взгляд, изолированными репродуктивными группами разных лет. Так, сопоставление частот аллелей в локусе *Est3* по точному критерию Фишера показал отсутствие достоверных отличий между различными генерациями, т. е. во всех случаях подтверждается нуль-гипотеза о пропорциональности аллельных частот в различные годы. При этом показатели изменчивости тоже были сходны. Индексы подразделенности продемонстрировали незначительную разобщенность ($F_{st}=0,012$, $G_{st}=0,024$). А анализ молекулярной дисперсии по ДНК локусам выявил только 1% отличий. Эти данные подтвердили результаты экспериментов Д. Харвей и ее коллег (Harvey et al., 2011), в ходе которых было установлено, что некоторые особи данного вида на личиночной стадии могут развиваться быстрее (три или четыре года вместо пяти или шести лет) и соответственно размножаться в другой генерации. Полагаем, что такой перенос генов между репродуктивными группами разных лет способствует поддержанию генетического единства популяции и вида и способствует более длительному его существованию.

Глава 8 ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ИЗУЧАЕМЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

В данной главе рассмотрены вопросы, касающиеся оценки жизнеспособности популяций изучаемых видов на основе демографических и генетических данных, полученных как на финальных этапах работы, так и за весь четырнадцатилетний период их изучения.

8.1 Эффективная численность и прогноз времени существования изучаемых популяций на территории района исследования

Расчет времени существования изучаемых популяций проводился с использованием формулы (Сулей, 1983, Soule, 1985): $t = 1,5Ne$, где t – количество поколений, Ne – эффективная численность.

1. В качестве первого варианта расчета эффективной численности мы использовали модель, основанную на изменчивости индивидуальной плодовитости (Wright, 1938, 1940):

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

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

Расчеты по 26 кладкам *B. fruticum* показывают, что количество яиц в одной кладке у этого вида варьирует от 3 до 152 и в среднем составляет $23,5 \pm 2,0$, $V \approx 25$ (расчеты проведены по данным И. М. Хохуткина, 1997). При этом отношение Ne/N составило 0,083. Продолжительность жизни одного поколения в среднем составляет 5 лет. Исходя из этих результатов и данных полевых наблюдений о численности половозрелых особей в изучаемых популяциях, был составлен прогноз времени их дальнейшего существования. Расчеты показали, что минимальный срок жизни имеют 9 популяций, обитающих на территории влияния Стойленского и Лебединского ГОК, а также одна группа, существующая в байрачной дубраве вблизи Яковлевского рудника. Предполагаемое время дальнейшего существования этих популяций не превышает 100 лет. Максимальный предполагаемый срок жизни имели многочисленные популяции из ООПТ (от 400 до 1900 лет).

У *C. vindobonensis*, в 26 кладках количество яиц колебалось от 31 до 166, и в среднем составило $85,6 \pm 5,5$, $V = 786,5$ (Крамаренко, Попов, 1997). Исходя из этих данных отношение эффективной численности к общей численности популяции получилось равной 0,005 (0,5 %), что существенно ниже, чем у *B. fruticum*. Исходя из полученных прогнозов наиболее жизнеспособной на юге Среднерусской возвышенности оказалась популяция, обитающая на территории памятника природы «Бекарюковский бор» (предполагаемый срок жизни 187 лет), немного ей уступила группа из окрестностей г. Купянск (150 лет). При этом оценка дальнейшего существования остальных групп находилась в диапазоне 15 – 37 лет. Такая низкая жизнеспособность у данного вида с одной стороны должна настораживать, т.к. вид является особо охраняемым. С другой стороны, эти результаты требуют более обширных исследований репродуктивной активности у австрийской улитки в природной обстановке.

Расчеты по 18 кладкам *H. pomatia* показывают, что количество яиц в одной кладке может варьировать от 16 до 80 шт., что в среднем составляет $50,5 \pm 12$, $V \approx 23,5$ (Румянцева, 2006). При этом $Ne/N = 0,079$. Учитывая, что продолжительность жизни одного поколения составляет в среднем восемь лет,

наиболее длительный предполагаемый период дальнейшего существования данная модель предсказывает для популяции из г. Харьков (1400 лет).

Размер кладки *H. striata*, по нашим наблюдениям, в среднем был $17,2 \pm 4,0$ яиц, $V \approx 91,5$ (данные по 82 кладкам). При этом эффективная численность популяции составила 4,2 % от общей численности половозрелых особей ($N_e/N = 0,042$). К сожалению, в связи с особенностями жизненного цикла этого вида (большую часть времени в летний сезон улитки проводят под землей) определить общую численность половозрелых особей нам удалось только в двух популяциях. Предполагаемый срок жизни большой группы из окрестностей г. Белгорода составил более 2000 лет, а малочисленной популяции из заповедного участка «Ямская степь» - 150 лет.

Безусловно, полученные прогнозы осуществимы 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 популяций изучаемых видов будет сокращено.

2. Расчет эффективной численности на основе соотношения полов был проведен нами только для популяций жука-оленя, т.к. все изучаемые нами виды моллюсков являются гермафродитами. Для расчетов использовали формулу С. Райта (Wright, 1922):

$$N_e = \frac{4Nm \times Nf}{(Nm + Nf)},$$

где Nm – количество половозрелых самцов; Nf – количество половозрелых самок

В целом для региона отношение N_e/N у *L. cervus* получилось равным 0,812. Стоит отметить, что по данным Дж. Кроу и Н. Мортон (Crow, Morton, 1955) в разных популяциях человека (наиболее процветающего ныне вида) соотношение эффективной численности к репродуктивному размеру популяций составляет 0,69-0,95. Таким образом, полученные нами значения для особо охраняемого вида *L. cervus* входят в данный диапазон, что говорит о благополучии его популяций.

В ходе полевых наблюдений было вычислено, что общее количество особей жука-оленя для отдельной дубравы ориентировочно составляет 1760 особей, а для территории района исследования – 8800000 особей. При этом эффективная численность популяций жука-оленя для отдельного леса в среднем составила 1429,1 особей. Ввиду того, что одно поколение исследуемого вида живет в среднем пять лет (четыре года - личинка, один год – имаго), то для отдельного леса срок существования популяции составит более 10000 лет. За это время уровень гетерозиготности, например, по ДНК-локусам, уменьшится с 0,317 до 0,0095.

3. Формула расчета эффективной численности с учетом коэффициента инбридинга (Ли, 1978) выглядит так: $N_e = N/(1+F)$, где F – коэффициент инбридинга. При сопоставлении усредненных данных, полученных по этой формуле у разных видов оказалось, что на территории юга Среднерусской

возвышенности достоверно высокие значения коэффициента инбридинга, и соответственно, низкая эффективная численность характерны для обитателей меловых склонов *Ch. tridens* и *H. striata* ($Ne/N=0,676\pm 0,013$ и $0,725\pm 0,039$ соответственно). По всем остальным видам получены более высокие значения Ne/N : *B. fruticum* - $0,799\pm 0,023$; *C. vindobonensis* - $0,868\pm 0,028$; *H. pomatia* - $0,828\pm 0,063$; *L. cervus* - $0,860\pm 0,029$. Кроме того, нужно отметить, что в тех популяциях, для которых определена общая численность половозрелых особей, наблюдалась слабая корреляция между значениями Ne , полученными на основе демографической формулы и вычисленными на основе коэффициента инбридинга ($R=0,335\pm 0,142$).

4. В так называемой «темпоральной» модели вычисления эффективной численности (Nei, Tajima, 1981), которая основывается на сравнении частот аллелей, полученных в разные годы, мы использовали данные по 10 популяциям кустарниковой улитки, для которых определены частоты аллелей фенов раковины и аллелей эстераз в 1996 г. и в 2010 г. Сама формула выглядит следующим образом:

$$Ne = \frac{t}{2 \cdot \left[Fk - \frac{1}{2N_0} - \frac{1}{2N_t} \right]}$$

где t – время между моментами сбора (в генерациях); N_0 , N_t – объемы выборок в моменты времени 0 и t ; Fk – стандартизированная вариация изменения частот аллелей.

Значения эффективной численности, вычисленные по динамике частот фенов раковины, варьировали в разных популяциях в диапазоне от 1,0 до 76,4, а по частотам аллелей эстераз – от 1,4 до 1045,3. При этом в одной группе, обитающей в окрестностях г. Белгород, в выборках разных лет частоты аллелей в локусе эстераз оказались очень близкими, поэтому эффективный размер этой популяции в предложенной модели стремился к бесконечности.

Стоит отметить, что в большинстве пунктов полученные значения эффективной численности по локусу эстераз и фенам раковины значительно отличаются. Это, вероятно, свидетельствует о различных векторах отбора и его интенсивности по разным системам.

5. Дальнейшие вычисления эффективной численности были проведены на основе интегральных оценок подразделенности популяций и уровня потока генов. Первая модель основывается на формуле (Wright, 1951):

$$Fst = \frac{1 - t_k}{1 + t_k}$$

$$t_k = \exp - \left\{ \left(\frac{1}{Ne} \right) [\ln(K - 0,5) + 0,5772] + \left(\frac{1}{2 \cdot Ne^2} \right) \left[1,6449 - \frac{2}{2 \cdot K - 1} \right] + \left(\frac{1}{3 \cdot Ne^3} \right) \left[1,202 - \frac{2}{(2 \cdot K - 1)^2} \right] \right\}$$

где K – количество использованных популяций.

В этой модели, для вычисления эффективной численности поочередно в формулу подставляли значения Fst , Gst и Φst . Результаты вычислений

показали, что наибольшие средние показатели эффективной численности среди видов моллюсков имели *Ch. tridens* ($Ne=9,2\pm 1,0$) и *Br. fruticum* ($Ne=7,4\pm 0,6$). В популяциях уязвимых видов улиток значения эффективной численности оказались достоверно ниже: *C. vindobonensis* - $Ne=6,3\pm 0,1$, *H. striata* - $Ne=4,4\pm 0,3$, *H. pomatia* - $4,5\pm 0,6$. У *L. cervus* по локусу эстераз индексы подразделенности популяций были минимальны среди исследуемых видов ($Fst=0,005$, $\Phi st=0,000$), поэтому эффективный размер его групп в этой модели значительно превзошел остальные популяции ($Ne=180$), а в случае с индексом Φst – стремился к бесконечности. По локусам ДНК эффективная численность у жука-олени составила 20-23 особи.

Еще один способ расчета эффективной численности основан на коэффициентах линейной функции между попарными оценками потока генов (Nm) и географического расстояния между популяциями ($Dist$) (Slatkin, 1993):

$$\lg Nm = a + b \cdot \lg Dist, \text{ при этом } Ne = 10^a.$$

В данной модели для вычисления эффективной численности мы использовали географические расстояния между популяциями, обитающими только на территории юга Среднерусской возвышенности. Согласно полученным данным средние значения эффективной численности по локусам ДНК и аллозимным локусам составили соответственно: *Br. fruticum* – 1,7 и 4,9; *Ch. tridens* - 1,2 и 3,8; *C. vindobonensis* – 1,5 и 1,2; *H. striata* – 1,9 и 7,9; *H. pomatia* - 0,09 и 5,3; *L. cervus* – 8,2 и $10^{8,3}$.

8.2 Временная динамика структуры генофондов популяций на примере *Bradybaena fruticum*

Сопоставление частот аллелей эстераз и уровней изменчивости в 10 популяциях *B. fruticum*, наблюдаемых в 1996 и 2010 годах, выявило достоверное изменение частот аллелей в пяти группах. Особенно значительные изменения наблюдались в популяции из памятника природы «Ясный колодец», расположенного в пойме р. Короча. Судя по данным 1996 года, эта популяция была полностью гомозиготной по аллелю *EST2-2* ($N=57$). Плотность особей составляла тогда 0,5 особей на 1 м^2 , а общая численность половозрелых особей была ориентировочно 30-40 шт. Принимая во внимание стопроцентную гомозиготность и пониженную плотность, можно было предположить быстрое вымирание этой группы. Например, по демографической модели ее эффективная численность тогда составляла 2,5-3,3 особи, а срок жизни 18-25 лет. Однако, спустя 14 лет на моменты сбора в 2010 мы застали совершенно иную картину. Плотность моллюсков увеличилась до 10 половозрелых особей на 1 м^2 . В популяционном генофонде с ощутимой частотой появились два других аллеля *EST2-1* (0,444) и *EST2-3* (0,365) этого трехаллельного локуса ($N=63$). При этом эффективное число аллелей увеличилось с 1,0 до 2,72, индекс Шеннона – с 0 до 1,044, уровень фактической гетерозиготности поднялся с 0 до 0,381, а коэффициент инбридинга снизился с 1 до 0,398. Но восстановить аллельный потенциал за столь короткий срок за счет мутаций невозможно. Обогащение генофонда, вероятно, шло за счет смежной популяции, располагавшейся в пойме в 1,5 км вверх по течению (в 1996 г. $H_0=0,381$; частоты аллелей *EST 2*: 1- 0,026, 2- 0,553, 3 – 0,421; $N=38$). При этом средний

поток генов (Nm) между группами увеличился с 0,683 до 1,859 особь за поколение. Стоит отметить, что, согласно «теории эволюции со смещающимся равновесием» (Wright, 1970), для поддержания панмиксии в метапопуляции требуется поток генов 1-2 особи за поколение. Подобную же картину мы наблюдали еще в четырех пойменных небольших изолированных группах. При этом в четырех крупных малоизолированных популяциях достоверных изменений частот аллелей не отмечено. Отсюда можно сделать вывод, что прямое наблюдение за изменениями структуры популяционных генофондов дает более достоверную картину, чем это получается по расчетным моделям.

В целом, если сопоставить результаты исследований генетической структуры популяций *Br. fruticum* в изучаемом районе проведенных нами в периоды с 1996 по 1998 гг. (тогда изучено 20 популяций) и с 2006 по 2010 гг. (изучено 37 популяций), то можно усмотреть стабильность генофонда популяции кустарниковой улитки как генеральной совокупности на юге Среднерусской возвышенности. Только по частоте фена Ц₃ во второй период исследований было получено достоверное увеличение с $0,108 \pm 0,039$ до $0,259 \pm 0,076$.

Приведенные данные подтверждают концепцию С. С. Четверикова (1926) и Ю. П. Алтухова (1995) и других исследователей, что популяционная структурированность вида на базе полиморфизма локусов генома обеспечивает его выживание в пространстве и во времени. Однако, вычисленные коэффициенты инбридинга на разных иерархических уровнях демонстрируют явное увеличение разобщенности групп кустарниковой улитки ко второму периоду исследования. Так индексы F_{st} и Φ_{st} за рассматриваемый временной промежуток увеличились в два раза (с 0,104 до 0,227 и с 0,137 до 0,227 соответственно), пропорционально этому произошло уменьшение среднего потока генов между популяциями (Nm). Интегральная оценка эффективной численности, рассчитанная по индексу F_{st} , за эти годы уменьшилась с 17,2 до 9,2.

Безусловно, метапопуляционная структура может обеспечить стабильное существование вида, но переколонизация возможна только в том случае, если биотопы сохраняются в неизменном состоянии. К сожалению, многие припойменные участки, где ранее нами отмечались многочисленные колонии *Br. fruticum*, за прошедшие 14 лет были уничтожены в ходе распашки территории, организации пляжей, строительства хозяйственных объектов и образования мусорных свалок. Ситуация усугубляется тем, что в эти антропогенно-измененные биотопы, с иными характеристиками микроклимата, проникли адвентивные и некоторые местные виды, которые в ходе конкурентного исключения ускорили вымирание исконных поселений кустарниковой улитки. Так, в настоящее время в измененных биотопах нами зафиксировано вытеснение кустарниковой улитки сетчатым слизнем (*Deroceras reticulatum* Mull.) и адвентивной северокавказской улиткой *Stenomphalia ravergeri* Fer.

К сожалению, исследовать временную динамику генофондов других изучаемых видов нам не удалось, но полагаем, что выводы, полученные по

кустарниковой улитке, могут быть с определенными оговорками проецированы на других моллюсков.

При этом считаем необходимым подчеркнуть, что полученные результаты можно считать отправной точкой для дальнейшего мониторинга исследуемых популяций с использованием как традиционных, так и более совершенных методик изучения генетической составляющей биообъектов, которые будут изобретены человечеством в будущем.

К ВОПРОСУ О СОЗДАНИИ РЕГИОНАЛЬНЫХ КРАСНЫХ КНИГ (ВМЕСТО ЗАКЛЮЧЕНИЯ)

Одной из важных сторон усиленной работы по сохранению среды жизни стало создание и ведение так называемых Красных книг растений и животных, в которые заносятся уязвимые виды. Причем, в последние десятилетия такая работа все больше проводится с упором на региональные системы мониторинга, т.к. особенности урбанизации и возникающие при этом экологические проблемы специфичны для различных ландшафтов.

Чтобы избежать декларативного и непрофессионального характера ведения региональных Красных книг, при их формировании нужно ответить на один важный вопрос: какие именно виды, помимо известных на мировом и федеральном уровне, нуждаются в охране. Сама по себе редкость встречаемости вида в регионе может служить только косвенным аргументом, т.к. она может быть вызвана случайным заносом особей из соседних благополучных частей ареала и может быть приравнена к попытке освоения новых территорий. Иной вариант возникает, когда дело касается исконных реликтовых популяций. Для оценки их жизнеспособности, помимо традиционных демографических характеристик, считаем необходимым получить глубокие знания о состоянии популяционных генофондов, включая оценку аллельного и генотипического разнообразия, степени мутагенной нагрузки и адаптационных перестроек на генетическом уровне. Полагаем, что эти сведения должны стать серьезным аргументом для принятия решений.

ВЫВОДЫ

1. В зонах влияния Стойленского и Лебединского ГОКов, по сравнению с контрольной точкой, более чем в восьмидесяти процентах раковин отмечено превышение по селену, марганцу и меди. При этом, образцы почвы из того же района по концентрации большинства элементов достоверно превзошли образцы раковин; противоположный результат получен только для цинка. Особенности биологии используемых нами видов моллюсков (*E. strigella*, *Ch. tridens*, *Br. fruticum*) не оказывают решающего влияния на концентрацию химических элементов в их раковине, которая преимущественно определяется расстоянием от комбинатов, особенностями рельефа и розой ветров. В ряде случаев отмечена корреляция между пониженным уровнем гетерозиготности популяций и повышенными значениями суммарного химического показателя.

2. Несмотря на сильную урбанизацию района исследования, уровень повреждения ДНК в исследуемых группах моллюсков незначителен. Это

говорит об отсутствии в пунктах сбора сильных генотоксичных факторов, а также демонстрирует активные репарационные процессы, протекающие в организме животных. Намечающиеся тенденции в разрушении ДНК исследуемых видов наблюдаются в условиях влияния ГОК, вблизи автомобильных дорог, в городских условиях, а также в естественных сообществах, включая ООПТ, примыкающих к сельскохозяйственным угодьям. Достоверный результат на основе метода ДНК-комет может быть получен при сопоставлении одновозрастных групп.

3. Достоверно высокие межпопуляционные различия конхиометрических признаков моллюсков и отсутствие корреляции этих показателей с географической дистанцией вызваны глубокой специфичностью и разнообразием микроусловий, сильной изоляцией и историческими факторами. Флуктуации частот цветовых вариантов окраски раковин также, как и размерных характеристик, имеют полифакторную природу, что налагает определенные ограничения на использование их в биоиндикационных целях.

4. Пониженная межпопуляционная изменчивость метрических показателей жука-олени определяется повышенной миграционной способностью этого вида. Основными источниками полифенизма у *L. cervus* являются кормообеспеченность и половой отбор.

5. Анализ генетической структуры популяций изучаемых видов на всех уровнях иерархии продемонстрировал высокую оригинальность по соотношению частот аллелей большинства изученных популяций моллюсков, возникшей вследствие повышенной разобщенности в условиях лесостепи. В промышленных районах такое разнообразие сменяется общим снижением уровня изменчивости по всем используемым показателям с уменьшением генетической дистанции между группами и появлением редких комбинаций, что можно расценивать в некоторых случаях как компенсаторные реакции видов на условия урбанизации.

6. *F*-статистика Райта и анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) в большей части случаев показывают сходные результаты, а приоритетная ПЦР-диагностика, совместно с изоферментным и морфологическим анализом, позволили более объективно оценить процессы, протекающие в генофондах изучаемых видов.

7. На территории юга Среднерусской возвышенности достоверно высокие значения коэффициента инбридинга и низкая эффективная численность характерна для уязвимых видов моллюсков *H. striata*, *C. vindobonensis*, *H. pomatia*, что подтверждает их охранный статус. *L. cervus*, судя по структуре популяционных генофондов и эффективной численности, обладает высокой жизнеспособностью. Чрезвычайная близость групп, как по локусу эстераз, так и по ДНК-локусам, позволяет рассматривать население *L. cervus* в районе исследования, как единую панмиктическую популяцию.

8. Эврибионтные виды, традиционно являющиеся индикаторами антропогенного воздействия, в силу своей биологии и метапопуляционной структуры демонстрируют мозаику приспособительных возможностей своих генофондов, по состоянию которых в некоторых случаях весьма сложно судить

о степени влияния человека. В этом отношении более стенобионтные и уязвимые виды, популяционная структура которых сохраняет первобытный характер, оказываются лучшими «контролерами» сукцессионных процессов.

9. Расчет эффективной численности, наравне с генетическими исследованиями, позволил выявить уязвимые популяции на юге лесостепи. При этом основными «проблемными точками» района исследования, судя по возрастающим значениям F_{st} и Φ_{st} , остаются чрезвычайная фрагментация ареалов (природная и антропогенная), непосредственное уничтожение биотопов и появление адвентивных видов. Оценку жизнеспособности популяций необходимо проводить с использованием разных методов, учитывающих различные стороны их биологии.

10. Прямое наблюдение за динамикой генофондов и демографической структурой популяций демонстрирует отклонение от прогнозов, построенных на основе интегральных показателей математических моделей, что позволяет использовать их только для определения основных векторов природоохранной деятельности.

11. Объективную оценку состояния среды жизни можно получить только на основании комплексного подхода к анализу живой материи на всех уровнях иерархии. Однокомпонентная экспресс-диагностика сопряжена с большими ошибками наблюдения, перекрывающими возможность ее применения.

12. Приведенные данные подтверждают концепцию, согласно которой популяционная структурированность вида на базе полиморфизма локусов генома обеспечивает его выживание в пространстве и во времени. При этом особо охраняемые природные территории выступают в качестве резервных генетических банков, обеспечивающих повторные заселения биотопов на месте погибших популяций, но при условии сохранения миграционных путей и целостности заселяемых местообитаний. Сопоставление полученных данных с результатами исследований, проведенных на других территориях, позволит проводить более грамотную работу по восстановлению и сохранению среды жизни в разных ландшафтах.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Монографии

1. Негрбов О. П., Селиванова О. В., Снегин Э. А. Наземные моллюски // Кадастр беспозвоночных животных Воронежской области – Воронеж: Изд-во Воронежский гос. ун-та, 2005. – С 134-139.

2. Снегин Э. А. Моллюски – Mollusca // Научные коллекционные фонды «Музея зоологии» при кафедре зоологии и экологии Белгородского государственного университета. Вып. 2. – Белгород: ИПЦ «Политерра», 2005 – 48 с.

3. Присный А. В., Колчанов А. Ф., Колчанов Р. А., Конорева Л. А., Сиротин А. А., Снегин, Э. А., Присный Ю. А., Вакуленко А. Г. Биологические ресурсы и биологическое разнообразие суши // Природные ресурсы и окружающая среда Белгородской области / Под ред. С. В. Лукина. – Белгород, 2007. – С. 267 – 424.

Учебные пособия

4. Снегин Э. А. Введение в генотоксикологию: курс лекций – Белгород: Изд-во ЛитКараВан, 2009. – 176 с.

Статьи в ведущих научных журналах, рекомендованных ВАК

5. Снегин Э. А. Эколого-генетические аспекты расселения *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pullmonata) в элементах лесостепного ландшафта // Экология. – 2005. – № 1. – С. 39-47.

6. Snegin E. A. Ecological and Genetic Characteristics of the Distribution of *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pullmonata) in a Forest-Steppe Landscape // Russian Journal of Ecology. – 2005. – Vol. 36, N 1. – P. 33-40.

7. Снегин Э. А. Содержание химических элементов в раковинах наземных моллюсков в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов // Проблемы региональной экологии – М: Изд-во Маджента, 2009. – № 1. – С. 22-27.

8. Снегин Э.А. Анализ популяционных генофондов особо охраняемых природных территорий в условиях лесостепного ландшафта (на примере наземного моллюска *Bradybaena fruticum* Müll (Gastropoda, Pulmonata) // Вестник КрасГАУ. – 2009. – № 12. – С. 123-129.

9. Снегин Э. А. Анализ жизнеспособности популяций особо охраняемых видов на примере *Helix pomatia* L. (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) // Теоретическая и прикладная экология. – 2010. – № 2. – С. 91-96.

10. Снегин Э. А. Оценка состояния популяционных генофондов наземных моллюсков в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов на примере *Bradybaena fruticum* Müll (Gastropoda, Pulmonata) // Экологическая генетика. – 2010. – Т. VIII, № 2. – С. 45-55.

11. Снегин Э. А. Морфогенетические параметры популяций наземного моллюска *Bradybaena fruticum* Müll в заповеднике «Галичья гора» // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2010. – № 3 (74), Вып. 10. – С.28 – 33.

12. Снегин Э. А. К вопросу о роли принципа основателя в формировании генофондов адвентивных колоний на примере *Chondrula tridens* (Gastropoda, Pulmonata) // Зоологический журнал. – 2011. – Т. 90, № 6. – С. 643-648.

13. Снегин Э. А., Сычев А. А. Оценка жизнеспособности популяций особо охраняемого вида *Helicopsis striata* Müller (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях юга Среднерусской возвышенности// Теоретическая и прикладная экология. – 2011. – № 2. – С. 84-93.

14. Снегин Э. А. Оценка жизнеспособности популяций жука-оленья *Lucanus cervus* L., 1758 в условиях лесостепного ландшафта // Евроазиатский энтомологический журнал. – 2010. – № 10 (2). – С. 137-142.

15. Снегин Э. А., Гребенников М. Е. Анализ изменчивости модельных видов наземных моллюсков в популяциях Урала и юга Среднерусской возвышенности // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2011. – № 9 (104), Вып. 15. – С. 67-75.

16. Снегин Э. А. Генетическая структура популяций модельных видов наземных моллюсков в условиях урбанизированного ландшафта на примере *Chondrula tridens* Müll. (Gastropoda, Pulmonata) // Экологическая генетика. – 2011. – Т. IX, № 2. – С. 54-64.

17. Snegin E. A. Assessment of the state of population gene pools of terrestrial mollusks in conditions of influence of ore dressing combines from the example of *Bradybaena fruticum* Mull. (Gastropoda, Pullmonata) // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2011. – Vol. 1, N. 5. – P. 379-389.

18. Снегин Э. А. Анализ генетической изменчивости популяций наземного моллюска *Bradybaena fruticum* Müll. с использованием *RAPD* и *ISSR* маркеров // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2011. – № 15 (110), Вып. 16. – С.37 – 43.

19. Снегин Э. А. Анализ динамики генетической структуры популяций жука-олени (*Lucanus cervus* L.) на основе аллозимной изменчивости и *RAPD*-маркеров // Известия ТулГУ. Естественные науки. – 2011. – Вып. 2. – С. 355 – 362.

20. Снегин Э. А. Оценка жизнеспособности популяций особо охраняемого вида *Serapea vindobonensis* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях юга лесостепи Среднерусской возвышенности // Вестник КрасГАУ. – 2011. – № 11. – С. 142-148.

21. Снегин Э. А., Ненашева Е. С., Артемчук О. Ю. Оценка степени повреждения ДНК в популяциях наземных моллюсков урбанизированных ландшафтов Среднерусской возвышенности. Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки. – 2011. – № 21 (116), Вып. 17. – С. 26-30.

22. Snegin E. A. The genetic structure of model species populations of terrestrial mollusks in conditions of urbanized landscape using the example of *Chondrula tridens* Müll (Gastropoda, Pulmonata) // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2012. – Vol. 2, N. 2. – P. 160–170.

Статьи в других рецензируемых журналах и изданиях

23. Матекин П. В., Ганцевич М. М., Жуковская Е. А., Ивановская Т. Н., Пахорукова Л. В., Снегин Э. А. Адаптация популяций // Информационный бюллетень РФФИ. – 1995. – Т. 3. № 4. – С. 417.

24. Присный А. В., Снегин Э. А. Таблицы для определения видов моллюсков // Практические работы школьников по экологии: ч. 2 Методические материалы к практическим работам (раздел 2.17). – Белгород: Изд-во БелГУ, 1999. – 19 с.

25. Снегин Э. А. Особенности генотипической структуры популяций кустарниковой улитки *Bradybaena fruticum* в условиях антропогенного влияния на ландшафты юга лесостепной зоны Русской равнины. // Биосфера и человечество: мат. науч. конф. посвященной памяти Н. В. Тимофеева-Ресовского. – Екатеринбург, 2000. – С. 242 -249.

26. Снегин Э. А. Наземная малакофауна заповедника "Белогорье"// Роль особо охраняемых территорий центрального Черноземья в сохранении и изучении биоразнообразия лесостепи: Материалы науч.-практ. конференции,

посвященной 75-летию Воронежского государственного природного биосферного заповедника. – Воронеж, 2002. – С.103 - 106.

27. Снегин Э.А. Использование видов наземных моллюсков в качестве индикаторов реликтовых ценозов // Вестник Житомирского педагогического ун-та. – 2002. – Вып. 10. – С.128-129.

28. Снегин Э. А. К вопросу об истории расселения видов наземных моллюсков в лесостепном ландшафте // Эколого-фаункціональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків, їх роль в біоіндикації стану навколишнього середовища / Збірник наукових праць. – Житомир: Видавництво "Волинь", 2004. – С. 186-188.

29. Снегин Э. А. Улитка виноградная (*Helix pomatia* L.) // Красная книга Белгородской области. Редкие и исчезающие растения, грибы, лишайники и животные. Официальное издание / под. ред. А. В. Присного. – Белгород, 2004. – С. 430.

30. Снегин Э. А. Цепея австрийская (*Cerpea vindobonensis* Fer.) // Красная книга Белгородской области. Редкие и исчезающие растения, грибы, лишайники и животные. Официальное издание / под. ред. А. В. Присного. – Белгород, 2004. – С. 431.

31. Снегин Э. А. Улитка степная ребристая (*Helicopsis striata* Müll) // Красная книга Белгородской области. Редкие и исчезающие растения, грибы, лишайники и животные. Официальное издание / под. ред. А. В. Присного. – Белгород, 2004. – С. 432.

32. Снегин Э. А. Оценка жизнеспособности популяций в условиях лесостепи // Научные ведомости БелГУ. Сер. Экология. – 2005. – № 1 (21), Вып. 3. – С. 64-66.

33. Снегин Э. А. Особенности генотипической структуры популяций кустарниковой улитки Трансильвании // Эколого-Функціональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Збірник наукових праць. 2-й вып. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2006. – С. 304-307.

34. Снегин Э. А. Роль генетического анализа популяций в оптимизации сети особо охраняемых территорий (постановка проблемы) // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2006. – № 3 (30), Вып. 2. – С. 39-44.

35. Снегин Э. А., Присный А. В. Новые сведения о наземных моллюсках Среднерусской возвышенности // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2008. – № 3 (43), Вып. 6. – Белгород, 2008. – С. 101-105.

36. Присный А. В., Снегин Э. А. Новые сведения о беспозвоночных животных Красной книги Белгородской области // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2008. – № 3 (43), Вып. 6. – С. 106 – 115.

37. Снегин Э. А., Артемчук О. Ю., Сычев А. А., Ненашева Е. С. К вопросу о генетической эрозии и генетической революции в популяциях урбанизированных территорий на примере наземных моллюсков // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені В. Гнатюка. Серія Біологія. – 2012. – №2 (51). – С. 245-249.

Работы в материалах конференций, семинаров и симпозиумов.

38. Снегин Э. А. Экологические аспекты изучения моллюсков // Проблемы экологии в практике педагогического образования и в производстве: Тез. докл. третьей межрегиональной экологической конференции. Ч. 2 – Белгород: Изд-во Белгородского гос. пед. ин-та им. М. С. Ольминского, 1994. – С. 70-71.

39. Снегин Э. А. Некоторые аспекты расселения кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum*) в пределах юга лесостепной зоны России // Экологические и генетические аспекты флоры и фауны Центральной России: Тез. докл. четвертой открытой региональной конференции. – Белгород: Изд-во Белгородского гос. ун-та., 1996. – С. 37-39.

40. Снегин Э. А. Краткая история развития лесостепного ландшафта Среднерусской возвышенности // Материалы науч.-прак. конференции, посвященной 270-летию Белгородской губернии. – Белгород: Изд-во Белгородского гос. ун-та. Белгород, 1997. – С. 53-54.

41. Снегин Э. А. Особенности расселения кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum* Mull) в условиях антропогенной инсуляризации // Региональные проблемы прикладной экологии: Материалы пятой международной открытой межвузовской научно-практической конференции. – Белгород: Изд-во Белгородского гос. ун-та., 1998. – С. 148-149.

42. Матекин П. В., Макеева В. М., Пахорукова Л. В., Снегин Э. А. Пространственные различия популяций *Bradybaena fruticum* по комбинационным фенотипам в пределах Русской равнины // Моллюски. Проблемы систематики, экологии и филогении. – СПб.: ЗИН РАН, 2000. – С. 86-87.

43. Снегин Э. А. Генетическая структура популяций *Bradybaena fruticum* в условиях антропогенного влияния на ландшафты лесостепной зоны юга России // Моллюски. Проблемы систематики, экологии и филогении. – СПб., ЗИН РАН, 2000. – С. 140-141.

44. Снегин Э. А. Реликтовая малакофауна - как аргумент в пользу организации особо охраняемых территорий // Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга: Материалы XI Международного симпозиума по биоиндикаторам. – Сыктывкар, 2001. – С. 176.

45. Ермаков А.М., Снегин Э.А. Особенности фенотипической изменчивости *Chondrula tridens* в условиях лесостепного ландшафта / Биология - наука XXI века: 6-я Пущинская школа конференция молодых ученых. Сб. тез. Том 2. –Тула: Изд-во Тульского гос. пед. ун-та им. Толстого, 2002. – С. 56-57.

46. Снегин Э. А. К вопросу об адаптации наземных моллюсков к условиям лесостепи // Приспособления организмов к действию экстремальных экологических факторов. Материалы VII Международной науч.-прак. экологической конференции. – Белгород: изд-во БелГУ, 2002, – С. 138.

47. Ермаков А.М., Снегин Э. А. К вопросу о видоспецифичности конхиологических и биохимических признаков наземных моллюсков // Биология - наука XXI века: 8-я Пущинская школа конференция молодых

ученых. Сб. тез. – Пушино: Изд-во Пушкинского научного центра, 2004. – С. 198.

48. Snegin E. A. To question about particularities of genotypic structure of overland mollusks population in wood-steppe landscape condition // International symposium of malacology. – Sibiu, 2004. – P. 66-67.

49. Снегин Э. А. Оценка жизнеспособности популяций в условиях лесостепи // Материалы VIII международной научной экологической конференции «Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем» – Белгород: Изд-во Везелица, 2004. – С. 206-207.

50. Snegin E. A. The relict molluscs of Central Russian Upland // Molluscs, Quaternary, faunal changes and enviromental dynamics: A symposium on occasion of 80th birthdays of Vojen Lozek. – Prague, 2005. – P. 30.

51. Снегин Э. А. Популяционно-генетическая структура реликтового вида *Cerpea vindobonensis* на территории заповедных участков лесостепи // Биоразнообразии и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах: Материалы III Международной научной конференции. – Днепропетровск: Изд-во ДНУ, 2005. – С. 218-219.

52. Снегин Э. А. К истории изучения наземной малакофауны заповедных участков лесостепи // История заповедного дела: Материалы международной научной конференции. – Борисовка, 2005. – С 178-179.

53. Иванова Е. В., Снегин Э. А. Особенности расселения видов наземных моллюсков, занесенных в Красную книгу Белгородской области // Биология: от молекулы до биосферы: сборник материалов первой международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Харьков, 2006. – С. 105.

54. Снегин Э. А. Использование изоферментных маркеров для оценки жизнеспособности исчезающих популяций // Современные проблемы популяционной экологии. Материалы IX Международной научно-практической экологической конференции – Белгород: Изд-во Политерра, 2006. – С. 197-198.

55. Снегин Э. А. Использование биохимической изменчивости для оценки жизнеспособности наземных моллюсков в уязвимых популяциях // Моллюски, морфология, таксономия, филогения, биогеография и экология. Сборник научных работ по материалам Седьмого (XVI) совещания по изучению моллюсков. —СПб.: ЗИН РАН, 2007. – С. 244-246.

56. Иванова Е.В. , Снегин Э. А Особенности использования наземных моллюсков в качестве индикаторов воздействия горно-промышленных предприятий // Урбоэкосистемы: Проблемы и перспективы развития: материалы II международной научно-практической конференции. – Ишим: Изд-во Ишимского гос. пед. ин-та им. Ершова, 2007. – С. 177-180.

57. Иванова Е.В., Снегин Э.А. Анализ генетической структуры популяций *Chondrula tridens* Müller (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях трансформированных экосистем // Биоразнообразии и роль животных в экосистемах: Материалы IV Международной научной конференции. – Днепропетровск: Изд-во ДНУ, 2007. – С.198-199.

58. Рогожа И. В., Снегин Э. А. Особенности кариотипов двух морф *Chondrula tridens* Müller (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) // Биоразнообразии и роль животных в экосистемах: Материалы IV Международной научной конференции. – Днепропетровск: Изд-во ДНУ, 2007. – С 211-212.
59. Снегин Э. А. Особенности микроэволюционных процессов в популяциях уязвимых животных // Современные проблемы биологической эволюции: материалы конференции. К 100-летию Государственного Дарвиновского музея. – М.: Изд-во ГДМ, 2007. – С. 193-194.
60. Снегин Э. А., Иванова Е. В. Некоторые аспекты генетической структуры популяций *Chondrula tridens* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata), обитающих в сети ООПТ Белгородской области // Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения: Материалы международной научной конференции, посвященной 135-летию со дня рождения И. И. Спрыгина. Часть II. – Пенза: Изд-во ПГПУ им. В. Г. Белинского, 2008. – С. 223.
61. Снегин Э. А., Иванова Е. В. Наземная малакофауна г. Белгорода и его окрестностей // Урбоэкосистемы: проблемы и перспективы развития: материалы III международной научно-практической конференции – Ишим: Издательство ИГПИ им. П. П. Ершова, 2008. – Вып. 3. – С. 205-206.
62. Снегин Э. А. Наземные моллюски населенных пунктов как потенциальные источники паразитарных инфекций // Живые объекты в условиях антропогенного пресса: Материалы X международной научно-практической конференции. – Белгород: ИПЦ «Политерра», 2008. – С. 202-203.
63. Снегин Э. А. Анализ популяционных генофондов как аргумент в пользу создания региональных Красных книг // Современное состояние и пути развития популяционной биологии: Материалы X Всероссийского популяционного семинара. – Ижевск: Изд-во КнигоГрад, 2008. – С. 373-374.
64. Иванова Е. В. Снегин Э. А. Анализ популяционных генофондов модельных видов животных ООПТ Белгородской области // Биология: от молекулы до биосферы. Материалы III Международной конференции молодых ученых – Харьков: СПД ФЛ Михайлов Г. Г., 2008. – С. 371-372.
65. Сычев А. А. Снегин Э. А. Изменчивость конхиологических признаков популяций моллюска *Helicopsis striata* юга Среднерусской возвышенности // Биология: от молекулы до биосферы. Материалы III Международной конференции молодых ученых – Харьков: СПД ФЛ Михайлов Г. Г., 2008. – С. 394-395.
66. Снегин Э. А., Горбачева А. А., Воробьева О. В., Иванова Е. В. Генетический криобанк в системе мониторинга популяций // Биоразнообразии и роль особо охраняемых природных территорий в его сохранении: Материалы международной научной конференции посвящ. 15-летию природного заповедника «Воронинский» – Тамбов: Издательский дом ТГУ им. Г.Р. Державина, 2009. – С. 71-72.
67. Снегин Э. А., Иванова Е. В. Оценка жизнеспособности популяций наземных моллюсков в условиях влияния горно-обогатительных комбинатов. / Экология, эволюция и систематика животных: Материалы всероссийской

научно-практической конференции с международным участием. – Рязань: НП «Голос губернии», 2009. – С. 133-134.

68. Иванова Е.В., Снегин Э.А. Анализ морфогенетических параметров организмов в популяциях модельных видов моллюсков, обитающих на территории ООПТ Белгородской области. // Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». – Пущино, 2009. – С. 229-230.

69. Иванова Е. В., Снегин Э. А. Анализ популяционных генофондов модельных видов моллюсков, обитающих в пределах антропогенно измененных экосистем Белгородской области // Биоразнообразие и роль животных в экосистемах: Материалы V Международной научной конференции. – Днепропетровск: Изд-во Лира, 2009 – С. 152-153.

70. Сычев А. А., Снегин Э. А. Конхологическая изменчивость и полиморфизм изоферментов в популяциях наземных моллюсков *Helicopsis striata* юга Среднерусской возвышенности // Биоразнообразие и роль животных в экосистемах: Материалы V Международной научной конференции. – Днепропетровск: Изд-во Лира, 2009. – С. 172-173.

71. Анисимова К. С., Орлова О. Н., Снегин Э. А. Изменчивость морфометрических признаков в популяциях жука-олени в условиях лесостепи // Биология: от молекулы до биосферы. Материалы IV Международной конференции молодых ученых – Харьков: ЧПИ «Новое слово», 2009. – С. 263-264.

72. Снегин Э. А. Особенности микроэволюционных процессов в популяциях животных в условиях лесостепного ландшафта // Проблемы экологии: чтения памяти проф. М. М. Кожова – Иркутск: Изд-во Иркутского гос. ун-та, 2010. – С. 234.

73. Снегин Э. А. Проблемы генетической эрозии популяций в природоохранном аспекте // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики: Материалы XI международной научно-практической конференции – Белгород: ИПЦ Политерра, 2010. – С. 12.

74. Анисимова К. С., Снегин Э. А. Морфогенетические параметры популяций жука-олени (*Lucanus cervus* L.) в условиях лесостепи Среднерусской возвышенности // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики: Материалы XI международной научно-практической конференции – Белгород: ИПЦ Политерра, 2010. – С. 15.

75. Артемчук О. Ю., Снегин Э. А. Оценка состояния популяций *Helix pomatia* L. в условиях юга среднерусской возвышенности // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики. Материалы XI международной научно-практической конференции – Белгород: ИПЦ Политерра, 2010. – С. 16.-17.

76. Иванова Е. В., Снегин Э. А. Анализ популяционных генофондов модельных видов моллюсков ООПТ Белгородской области // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах:

состояние и методы его диагностики: Материалы XI международной научно-практической конференции – Белгород: ИПЦ Политерра, 2010. – С. 205.

77. Сычев А. А., Снегин Э. А. Особенности внутри- и межпопуляционной изменчивости морфо-генетических показателей *Helicopsis striata* Muller 1774 (Gastropoda, Pulmonata) в условиях юго-востока Среднерусской возвышенности // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики: Материалы XI международной научно-практической конференции – Белгород: ИПЦ Политерра, 2010. – С. 127-128.

78. Снегин Э. А. К вопросу о «генетической революции» в адвентивных колониях животных // Эволюция жизни на земле: Материалы IV Международного симпозиума – Томск: ТМЛ-Пресс, 2010. – С. 150.

79. Снегин Э. А., Ненашева Е. С. К вопросу об оценке степени мутагенной нагрузки на экосистемы в урбанизированном ландшафте // Биоразнообразии и роль животных в экосистемах: Материалы VI Международной научной конференции. – Днепропетровск, 2011. – С. 216-217.

80. Снегин Э. А., Снегина Е. А. К вопросу о накоплении химических элементов в раковинах наземных моллюсков и в почве // Почва как связующее звено функционирования природных и антропогенно-преобразованных экосистем: материалы III Междунар. Научно-практической конференции. – Иркутск: ОТ «Перекресток», 2011. – С. 194-195.

81. Snegin E. A. Analysis of the dynamics of the genetic structure of population of stag beetle (*Lucanus cervus* L.) in forest-steppe landscape // 3rd meeting of the European Stag Beetle Group. – Florence: Natural History Museum University of Florence, 2011. – P. 11.

82. Сычев А. А., Снегин Э. А. Изменчивость, индивидуальная плодовитость и эффективная численность *Helicopsis striata* (Gastropoda, Pulmonata, Helicoidea) в условиях Среднерусской возвышенности // Тобольск научный-2011: Материалы VIII всероссийской научно-практической конференции. – Тобольск: Полиграфист, 2011. – С. 72-74.

83. Снегин Э. А. Генетические процессы в популяциях актуальных видов животных в условиях урбанизированного ландшафта // Проблемы популяционной и общей генетики: материалы международной конференции, посвященной памятной дате – 75-летию со дня рождения академика Ю. П. Алтухова – М., 2011. – С. 90-91.

84. Артемчук О. Ю., Снегин Э. А. Оценка жизнеспособности популяций *Helix pomatia* L. в условиях лесостепи Среднерусской возвышенности // Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования: Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Ч 1. – Нижний Тагил, 2012 г. – С. 38.