



УДК 575.22; 502.4

МОРФОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОПУЛЯЦИЙ НАЗЕМНОГО МОЛЛЮСКА *BRADYBAENA FRUTICUM* MÜLL. В ЗАПОВЕДНИКЕ «ГАЛИЧЬЯ ГОРА»

Э.А. Снегин*Белгородский
государственный
университет**Россия, 308015, г.Белгород,
ул. Победы, 85**E-mail: snegin@bsu.edu.ru*

В работе приведены результаты исследований популяций кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum* Müll.), обитающих на различных участках заповедника «Галичья Гора». Анализировалась изменчивость конхиологических признаков, включающих морфометрические показатели, наличие продольной полосы на раковине и варианты окраски раковины. В качестве генетических маркеров использовались четыре локуса мономерных эстераз. Показана оригинальность по частотам аллелей и повышенная гетерозиготность изучаемых групп улиток, выявлены векторы естественного отбора, высказывается гипотеза формирования генофонда популяции из урочища «Воргол» сохранившей горную специализацию.

Ключевые слова: наземный моллюск, популяции, заповедник.

Введение

Данная работа посвящена анализу внутривидовой изменчивости, которая дает очень важные представления о популяционной структуре вида. Изучение фенотипической и генотипической изменчивости признаков позволяет выявить особенности локальных и географических факторов среды обитания, выступающих в роли факторов естественного отбора и формирующих фенотипический облик популяции, оказывая селективное влияние, как на отдельных особей, так и на группы в целом. К тому же исследование полиморфизма популяций разных видов животных имеет сравнительно-эволюционное значение. Полиморфизм в популяциях наземных моллюсков – явление довольно распространенное, и полиморфные виды служат удобной моделью для изучения многих вопросов микроэволюции. Кроме того, работа в области генетического подхода очень важна для целей мониторинга, так как позволяет оценить степень антропогенного воздействия на природные популяции. Производимые человеком глобальные изменения в природе сильно сказываются на генетической структуре видов, что находит свое отражение во внешнем облике, как отдельных особей, так и целых популяций.

Объектом нашего исследования стал наземный брюхоногий моллюск кустарниковая улитка (*Bradybaena fruticum* Müll.), вид, который уже многие годы используется в качестве биоиндикатора влияния человека на экосистемы различных ландшафтов [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9].

Основная цель работы состояла в изучении особенностей изменчивости конхиологических и биохимических признаков в популяциях *Br. fruticum*, обитающих на трех участках заповедника «Галичья Гора»: на участке с одноименным названием «Галичья Гора», на участках «Воргол» и «Плющань».

Материал и методика

Материалом для исследования послужили коллекционные сборы раковин кустарниковой улитки из заповедника «Галичья Гора», а также образцы тканей особей изучаемого вида, хранящиеся в криобанке, созданном при зоологическом музее БелГУ. Выборки из популяций были сделаны во время экспедиции в 2006 году. Моллюски собирались вручную с поверхности почвы, со стеблей и листьев растений, иногда в подстилке.

Для морфометрического анализа использовались раковины взрослых особей, закончивших рост, о чем свидетельствовал отворот устья. Схема промеров раковины представлена на рисунке 1. Все параметры измерялись в миллиметрах с точностью до

десятых долей штангенциркулем. Кроме того, оценивалась частота встречаемости дискретных фенотипов, таких как наличие продольной полосы на раковине (П+ – гомозигота по рецессивному аллелю [10]) и желтый цвет раковины (Ц₃ – гомозигота по аллелю желтой окраски [6, 7]). Всего изучено 122 раковины.

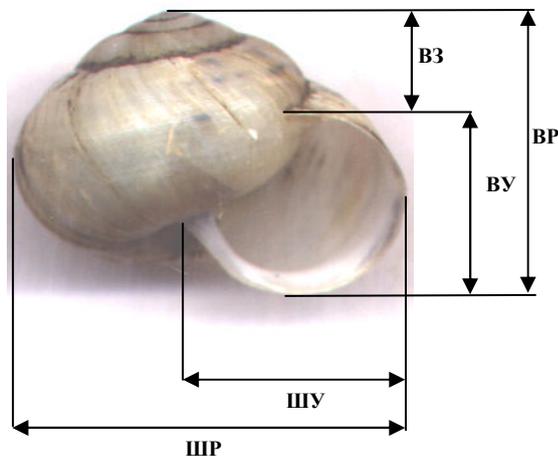


Рис. 1. Схема промеров раковины *Bradybaena fruticum* (ШП – ширина раковины, ВР – высота раковины, ВУ – высота устья, ШУ – ширина устья, ВЗ – высота завитка)

Для электрофоретического анализа было использовано 80 особей. Экстракцию водорастворимых белков проводили из ретрактора ноги моллюсков, путем замораживания при – 80°С с последующим оттаиванием и механическим измельчением тefлоновым гомогенизатором в 0.05 М трис-НСl-буфере (pH 6.7). Электрофорез изоферментов проводился в 10% полиакриламидном геле в камере *Protean II xi Cell 20* («Bio-Rad»). Гелевый трис-НСl-буфер (концентрирующий гель pH 6.7, разделяющий гель pH 8.9); электродный трис-глициновый-буфер (pH 8.3). Окрашивание блоков проводилось в субстратной смеси: трис-НСl (pH 7.4), α-нафтилацетат, прочный красный TR.

В качестве генетических маркеров нами использовались четыре локуса мономерных неспецифических эстераз: *Est2* (с тремя аллелями), *Est3* (с тремя аллелями), *Est 4* (с пятью аллелями) и *Est 5* (с пятью аллелями)¹. Наследование всех локусов идет по кодоминантному типу [5].

Обработка полученных данных проводилась с использованием программы *GenAlEx* [11].

Результаты исследований

Результаты морфометрического анализа представлены в табл. 1. Согласно полученным данным популяции улиток из заповедного участка «Галичья Гора» и «Плющань» достоверно превосходят ряду абсолютных показателей популяцию улиток из урочища «Воргол». Это, вероятно, является следствием более благоприятных условий для роста в биотопах первых двух участков. Здесь улитки обитают в пойме реки Дон, в зарослях ивы богатых основными кормовыми растениями, такими как крапива, лопух, хмель и т.д. Стоит отметить, что такие биотопы обычны для этого вида в условиях лесостепи Среднерусской возвышенности.

Что касается популяции, обитающей на участке «Воргол», то эта группа была отмечена в нетипичных для вида условиях – у подножья скальных выходов девонских известняков, в пойме реки Воргол, где фактически на открытом пространстве, отсутствовали крупные тенистые деревья и соответствующая пойменная растительность.

¹ В исследуемых группах не обнаружены аллели *Est4-4*, *Est4-5*, *Est5-4* и *Est4-5*.



Кроме того, юго-западная экспозиция способствовала быстрому нагреву поверхности почвы в дневные часы. Поэтому улиткам, чтобы избежать перегрева, приходилось уходить под известковые камни и забиваться в скальные трещины. Вероятно, это обстоятельство способствовало тому, что естественный отбор в этом биотопе шел в направлении более мелких размеров раковины. Кроме того, улитки данной группы имели достоверно более узкое устье, о чем говорит индекс ВУ/ШУ и более прижатый завиток (индекс ВЗ/ВР), что позволяет этим животным успешно прятаться в узких нишах и трещинах скальной породы.

Таблица 1

Показатели конхиологических признаков в популяциях кустарниковой улитки заповедника «Галичья Гора»

Параметры раковины	«Галичья Гора» (N=70)	«Воргол» (N=28)	«Плющань» (N=23)
Число оборотов	5.2±0.05	5.1±0.07	5.2±0.05
Ширина раковины (мм)	20.0±0.3	18.2±0.7	20.1±0.5
Высота раковины (мм)	16.2±0.3	15.1±0.5	16.2±0.5
Ширина устья (мм)	11.0±0.2	11.0±0.2	10.9±0.3
Высота устья (мм)	10.7±0.2	10.1±0.3	10.6±0.3
Высота завитка (мм)	6.4±0.2	5.5±0.4	6.8±0.4
Высота раковины/ширина раковины	0.8±0.01	0.8±0.001	0.78±0.02
Высота устья/ширина устья	0.97±0.01	0.68±0.02	0.94±0.02
Высота завитка/высота раковины	0.39±0.01	0.34±0.03	0.40±0.02
Частота фена П+	0	0.643	0.043
Частота фена Ц ₃	0	0.214	0

Оригинальность популяции из заповедного участка «Воргол» прослеживается и в отношении частот полиморфных морфологических и биохимических признаков. Так, в частности, здесь отмечена достоверно высокая доля полосатых особей и особей, имеющих желтую раковину (при среднем показателе для региона фена П+ = 0.133 ± 0.05, фена Ц₃ = 0.11 ± 0.04). Предыдущими исследованиями установлено, что особи с продольной полосой на раковине предпочитают тенистые и прохладные биотопы [5, 12]. В данном случае, необходимое затенение и оптимальный температурный режим в разное время суток, возможно, создают скальные выходы. Повышенная частота встречаемости улиток с желтой раковиной, вероятно, может указывать на повышенный радиационный фон в этом биотопе, т.к. подобная корреляция неоднократно отмечалась нами ранее в различных популяциях кустарниковой улитки юга лесостепи, обитающих в местах тектонических разломов с выходом радона [6, 7]. Стоит отметить также, что эти два фена являются гомозиготными, и увеличение их частоты может являться следствием генетико-автоматических процессов.

По результатам анализа генетической изменчивости, представленным в таблице 2, можно сказать следующее.

Во-первых, хотелось бы отметить отсутствие двух аллелей в локусах *Est4* и *Est5*, а также фиксацию аллеля *Est2-2* в популяциях из участков «Галичья Гора» и «Воргол». Но вместе с тем, в исследуемых группах присутствует высокий уровень гетерозиготности и низкий уровень инбридинга по другим локусам. Данный факт свидетельствует о благополучном состоянии генофондов изучаемых популяций, чему, вероятно, способствует сохранение режима охраны и отсутствие в этом районе явных возмущающих факторов со стороны человека. Для сравнения, в изученных нами ранее в за-

поведных участках «Ямская степь» и «Стенки-Изгорья» (заповедник «Белогорье»), располагающихся на юге Среднерусской возвышенности, средняя гетерозиготность по четырем локусам эстеразы в популяциях кустарниковой улитки составила 0.244 ± 0.035 ($N = 127$) и 0.266 ± 0.042 ($N = 76$) соответственно [9], что достоверно ниже аналогичных данных, полученных для заповедника «Галичья Гора» (0.365 ± 0.18).

Во-вторых, в популяции из урочища «Воргол» отмечены достоверно высокие частоты аллелей *Est5-1* и *Est5-3*, представленные в основном в гетерозиготах. По результатам предыдущих исследований частота этих аллелей в популяциях лесостепи колеблется для *Est5-1* в диапазоне 0.013 до 0.091, а для *Est5-3* – от 0.006 до 0.008¹ [9].

Таблица 2

Показатели генетической изменчивости в изучаемых популяциях кустарниковой улитки заповедника «Галичья Гора»

Популяция	Локус	Частоты аллелей	<i>A_e</i>	<i>I</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>F</i>
«Галичья Гора» (<i>N</i> = 40)	<i>Est2</i>	<i>Est2-2</i> = 1	1.000	0.000	0.0	0.0	-
	<i>Est3</i>	<i>Est3-1</i> = 0.4 <i>Est3-2</i> = 0.6	1.923	0.673	0.800	0.480	-0.667
	<i>Est4</i>	<i>Est4-1</i> = 0.213 <i>Est4-2</i> = 0.763 <i>Est4-3</i> = 0.025	1.594	0.628	0.475	0.373	-0.274
	<i>Est5</i>	<i>Est5-1</i> = 0.025 <i>Est5-2</i> = 0.975	1.051	0.117	0.050	0.049	-0.026
«Воргол» (<i>N</i> = 20)	<i>Est2</i>	<i>Est2-2</i> = 1	1.000	0.000	0.0	0.0	-
	<i>Est3</i>	<i>Est3-1</i> = 0.05 <i>Est3-2</i> = 0.95	1.105	0.199	0.100	0.095	-0.053
	<i>Est4</i>	<i>Est4-1</i> = 0.3 <i>Est4-2</i> = 0.7	1.724	0.611	0.200	0.420	0.524
	<i>Est5</i>	<i>Est5-1</i> = 0.475 <i>Est5-3</i> = 0.525	1.995	0.692	0.950	0.499	-0.905
«Плещань» (<i>N</i> = 20)	<i>Est2</i>	<i>Est2-1</i> = 0.15 <i>Est2-2</i> = 0.725 <i>Est2-3</i> = 0.125	1.774	0.778	0.400	0.436	0.083
	<i>Est3</i>	<i>Est3-1</i> = 0.125 <i>Est3-2</i> = 0.85 <i>Est3-3</i> = 0.025	1.354	0.490	0.300	0.261	-0.148
	<i>Est4</i>	<i>Est4-1</i> = 0.35 <i>Est4-2</i> = 0.65	1.835	0.647	0.700	0.455	-0.538
	<i>Est5</i>	<i>Est5-1</i> = 0.2 <i>Est5-2</i> = 0.8	1.471	0.500	0.400	0.320	-0.250

Примечание: *A_e* – эффективное число аллелей; *H_o* – наблюдаемая гетерозиготность; *H_e* – ожидаемая гетерозиготность; *I* – индекс Шеннона, *F* – коэффициент инбридинга.

Такое явное увеличение частоты редких для лесостепи аллелей подчеркивает уникальность этой группы. Вероятно, упомянутые выше, неспецифические условия обитания на участке «Воргол» определили вектор естественного отбора в направлении формирования столь оригинального генофонда, достоверно отличного не только от генофондов соседних популяций, но и от генофондов популяций этого вида в лесостепи в целом. Этот вывод подтверждает кластерный анализ, проведенный с использованием генетических расстояний [13]. Согласно представленной схеме популяция из заповедного участка «Воргол» значительно дистанцировалась от сравниваемых групп, которые образовали отдельный кластер, соответствующий донскому бассейну (рис.2).

¹ В большинстве изученных популяций лесостепи локус *Est5* представлен гомозиготным фенотипом 22.

Стоит отметить, что согласно наиболее вероятной гипотезе центром возникновения (и расселения) семейства *Bradybaenidae* считают горные районы Азии [14]. Кустарниковая улитка является единственным видом этого обширного семейства, освоившего европейский континент¹, где предпочитает избегать горных биотопов. Таким образом, реликтовая популяция из урочища «Воргол», возможно, несет в себе тот исходный генофонд, который мог быть унаследован от предковой группы в период расселения, что помогло ей сохранить горную специализацию.

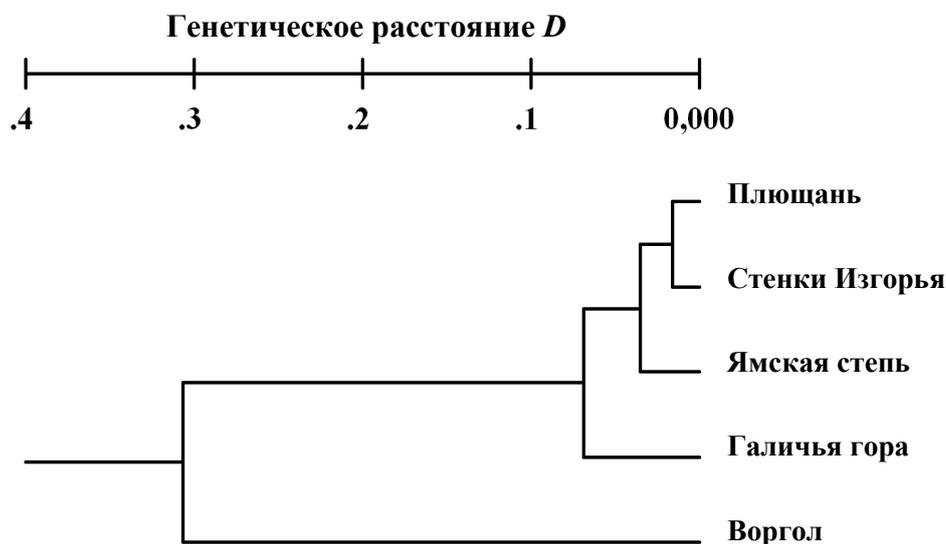


Рис. 2. Дендрограмма генетических расстояний по Неи [13](UPGMA)

Безусловно, этот вывод требует определенной доли осторожности. Но, тем не менее, обнаруженное своеобразие популяций кустарниковой улитки в заповеднике «Галичья Гора» лишний раз подчеркивает уникальность этого природного наследия и диктует необходимость его дальнейшего сохранения.

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

Литература

1. Матекин П.В., Макеева В.М. Полиморфная система эстераз и пространственная структура вида у кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum* Mull.) // Журн. общей биологии. – 1977. – Т.38, № 6. – С. 908-913.
2. Зейферт Д.В., Действие естественного отбора на генетическую структуру популяций наземного моллюска *Bradybaena fruticum* (Mull.) // Журн. общей биологии. – 1987. – Т. 48, № 4. – С. 549-554.
3. Хохуткин И.М. Структура изменчивости видов на примере наземных моллюсков. – Екатеринбург: УрО РАН, 1997. – 175 с.
4. 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. Тезисы докладов. – СПб.: ЗИН, 2000. – С. 86-87.
5. Макеева В.М., Белоконов М.М., Малюченко О.П. Оценка состояния генофонда природных популяций беспозвоночных животных в условиях фрагментарного ландшафта Москвы и Подмосковья (на примере кустарниковой улитки *Bradybaena fruticum* (Müll) // Генетика. – 2005. – № 11. – С.1495-1510.

¹ Самостоятельность другого вида из этого семейства *Bradybaena schrencky* (Midd.), также зашедшего на территорию Европы в настоящее время оспаривается.

6. Снегин Э.А. Структура расселенности *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях юга лесостепной зоны Русской равнины: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М.: Изд-во МГУ, 1999. – 22 с.
7. Снегин Э.А. Эколого-генетические аспекты расселения *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pullmonata) в элементах лесостепного ландшафта // Экология. – 2005. – № 1. – С. 39-47.
8. Снегин Э.А. Особенности генотипической структуры популяций кустарниковой улитки Трансильвании // Эколого-Функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навоклишнього середовища: Збірник наукових праць. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2006. – Вып. 2. – С. 304-307.
9. 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.
10. Хохуткин И.М. О наследовании признака «опоясности» в естественных популяциях наземного брюхоногого моллюска *Bradybaena fruticum* (Mull.) // Генетика. – 1979. – Т. 15, № 5. – С. 868-871.
11. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and reseach. Australion National University, Canberra, Australia. – 2001. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>
12. Рункова Г.Г., Максимов В.Н., Ковальчук Л.А., Хохуткин И.М. Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах двух морф *Bradybaena fruticum* (Mull.) в условиях разных температур // Докл. АН СССР. – 1974. – Т. 219, № 2. – С. 471-472.
13. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a smoll numba of individuals // Genetics. – 1978. – Vol. 89. – P. 583-590.
14. Матекин П. В. Наземные моллюски семейства Bradybaenidae Средней Азии // Тр. Зоол. музея МГУ: Исследования по фауне Советского союза. – М., 1972. – Т. 12. – С. 112-114.

MORPHOLOGY-GENETIC PARAMETERS OF POPULATIONS OF TERRESTRIAL MOLLUSK *BRADYBAENA FRUTICUM*MÜLL. IN RESERVATION «GALICHJA GORA»

E.A. Snegin

Belgorod State University
Pobedy Str., 85,
Belgorod, 308015, Russia

E-mail: snegin@bsu.edu.ru

Research results of bush snail populations (*Bradybaena fruticum* Müll), dwelling on various fields of reservation «Galichja Gora» are described in the work. Variability of the conchiological attributes including morphometric parameters, presence of a longitudinal strip on a concha and variants of concha colouring are analyzed. Four locuses monomeric esterases were used as genetical markers. Originality on frequencies alleles and a high degree of heterozygosity of investigated of bunches snails is shown, vectors of natural selection are revealed, the hypothesis of formation of a gene pool of a population from reserved field «Vorgol» kept mountain specialization expresses.

Key words: a terrestrial mollusk, populations, reservation.