

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ГЕНОФОНДОВ МАЛОПОДВИЖНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ НАЗЕМНОГО МОЛЛЮСКА *BRADYBAENA FRUTICUM* MÜLL. (GASTROPODA, PULMONATA) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ

© Э.А. Снегин, Е.А. Снегина

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород

Для цитирования: Снегин Э.А., Снегина Е.А. Оценка состояния популяционных генофондов малоподвижных видов животных на примере наземного моллюска *Bradybaena fruticum* Müll. (Gastropoda, Pulmonata) с использованием ДНК-маркеров // Экологическая генетика. – 2017. – Т. 15. – № 3. – С. 4–19. doi: 10.17816/ecogen1534-19.

Поступила в редакцию: 03.05.2017

Принята к печати: 15.07.2017

С использованием *RAPD*- и *ISSR*-маркеров ДНК была исследована популяционная структура наземного моллюска *Bradybaena (Fruticola) fruticum* Müll. на юге Среднерусской возвышенности. Уровень ожидаемой гетерозиготности (H_e) колебался в диапазоне 0,133–0,262. Анализ мультилокусных генотипов (методами Chao1-bc и 1st order jackknife) позволил выявить группы с потенциально большим и низким количеством генетических комбинаций. Пониженный уровень изменчивости отмечен в группах из антропогенно нарушенных биотопов. Показатели генетической разобщенности популяций составили $\Phi_{st} = 0,298$, $G_{st} = 0,254$, $N_m = 0,708$ при отсутствии достоверной связи между географическим и генетическим расстоянием между популяциями ($R_m = -0,024$). Эффективная численность, вычисленная с помощью формулы Слаткина, оказалась самой низкой из фоновых видов моллюсков ($N_e = 0,39-0,83$), а рассчитанная с помощью индексов подразделенности Φ_{st} и G_{st} (6,2 и 7,3 соответственно) была сопоставима с другими видами улиток.

Ключевые слова: наземный моллюск; ДНК-маркеры; популяционная структура; эффективная численность; урбанизированный ландшафт.

ASSESSMENT OF THE STATE OF POPULATION GENE POOLS OF THE SLIGHTLY MOBILE ANIMAL SPECIES ON THE EXAMPLE OF THE LAND SNAIL *BRADYBAENA FRUTICUM* MÜLL. (GASTROPODA, PULMONATA) BASED ON THE DNA MARKERS

© E.A. Snegin, E.A. Snegina

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

For citation: Snegin EA, Snegina EA. Assessment of the state of population gene pools of the slightly mobile animal species on the example of the land snail *Bradybaena fruticum* Müll. (Gastropoda, Pulmonata) based on the DNA markers. *Ecological genetics*. 2017;15(3):4-19. doi: 10.17816/ecogen1534-19.

Received: 03.05.2017

Accepted: 15.07.2017

Using the polymorphic DNA markers (*RAPD* and *ISSR*), the genetic structure was examined and the viability of 26 populations of the terrestrial gastropod *Bradybaena (Fruticola) fruticum* Müll., most of which lives in the south of the Central Russian Upland, was estimated. Samples from Romania, the Urals and Vyatka regions for comparison were taken. In total, 1153 individuals were examined. The level of expected heterozygosity averaged $H_e = 0.208 \pm 0.028$, the Shannon index $I_{sh} = 0.320 \pm 0.039$. The lowered level of variability, both actual and theoretically expected (estimated by the methods of Chao1-bc and 1st order jackknife) in groups of anthropogenically disturbed biotopes inhabiting the zones of industrial enterprises is noted. The indices of the genetic disunity of the populations were $F_{st} = 0.298$, $G_{st} = 0.254$, and the level of the gene flow $N_m = 0.708$. The cluster analysis and the Mantel correlation coefficient $R_m = -0.024$ showed the absence of a reliable relationship between the geographic and genetic distance between populations, which indicates the violation of the isolation model by distance and confirms the thesis advanced earlier that the urbanized forest-steppe landscape disrupts the natural migration processes, leads to the strong isolation and of the genetic drift in populations of snails. At the same time, the observed phenomenon of increasing the degree of subdivision of populations against the background of a decrease in the allelic diversity noted by us in many groups of bush snail can be regarded as the shift of genetic equilibrium toward increasing interpopulation diversity (according to Wright's model). The calculation of the effective population size with the help of the Slatkin model turned out to be the lowest of the background mollusks in the study area ($N_e = 0.39-0.83$). However, the level of the effective population size calculated with the subdivision index (F_{st} and G_{st}) was equal to 6.2 and 7.3, respectively, which is comparable with other species of mollusks.

Keywords: terrestrial mollusk; DNA markers; population structure; effective population size; urbanized landscape.

Оценка состояния популяционных генофондов различных видов в настоящее время является важной составляющей мониторинга экосистем в природоохранном

аспекте, так как наравне с демографическими и цитогенетическими данными служит одним из ключевых показателей жизнеспособности популяций [1]. Известно,

что такой контроль удобнее всего проводить на фоновых видах животных, которые реагируют на различные нарушения среды изменением генетической структуры своих популяций, что приводит к дрейфу генов, нарушению онтогенеза и появлению различных аномальных форм. 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, так как последние требуют дешифровки на основе реального состояния живых систем.

Стоит отметить, что выбор в качестве таких индикаторов наземных моллюсков является весьма удачным. Эти животные, обладая пониженной миграционной способностью, привязаны своей биологией к конкретным биотопам с определенной растительностью и почвой. Поэтому в случае изменений биотопических условий популяции улиток чутко реагируют на них перестройкой своего генофонда, что делает их хорошими моделями для изучения микроэволюционных и гомеостатических процессов.

В настоящей работе приводятся данные по оценке жизнеспособности фонового вида наземных моллюсков *Bradybaena fruticum* Müll. (кустарниковая улитка) с помощью анализа состояния его популяционных генофондов в условиях лесостепного ландшафта южного макросклона Среднерусской возвышенности. В некоторых источниках вид относят к роду *Fruticola* [2, 3]. Он распространен на большей части территории Европы. На западе доходит до Франции, Бельгии, Нидерландов, юго-восточной части Великобритании, присутствует в предгорьях Пиренеев, Альп, Карпат, на Северном Кавказе, в Крыму [4]. Восточная граница, вероятно, проходит в Западной Сибири (Томская область) [5]. На территории Среднерусской возвышенности вид предпочитает микропонижения рельефа. Обитает в глубине и опушках смешанных лесов, байрачных, водораздельных и нагорных дубравах, в старых парках, осинниках и сырых кустарниковых лугах, по берегам рек, ручьев, прудов. Вид обычен в подстилке смешанных лесов, под камнями известняка и мела. Кормовые растения в районе исследования представлены крапивой, лопухом, хмелем. В условиях засухи улитки концентрируются в пазухах листьев борщевика, дудника и лопуха [6].

На протяжении последних сорока лет на территории Европы проводились исследования популяционной структуры этого модельного вида с использованием конхиологических признаков и аллозимов [3, 6–10]. Несмотря на значимость результатов, полученных в предыдущих работах, проанализированная в них изменчивость касается только кодирующей части генома, тогда как остальная часть «молчащей» ДНК осталась вне поля зрения. Вместе с тем эти области содержат множество селективно нейтральных сайтов, по которым можно проследить за генетико-автоматическими процессами

в популяциях. Кроме того, эти участки ДНК окружают многие селективно значимые гены и могут использоваться как якорные последовательности к ним. Наиболее удобным способом решение данной задачи является использование *RAPD*- [11] и *ISSR*-маркеров ДНК [12], которое основано на применении одного праймера, имеющего множественные комплементарные участки, разбросанные по всему геному.

В наших предыдущих публикациях мы также изучали структуру популяционных генофондов и оценивали эффективность численность кустарниковой улитки, задействовав полиморфные признаки раковины и аллозимы [13–15]. В одной публикации был проведен предварительный анализ изменчивости шестнадцати популяций этого вида по указанным маркерам ДНК [16]. В дальнейшем эти исследования были продолжены.

Цель настоящей работы — оценить состояния популяционных генофондов *Br. fruticum* в условиях антропогенно измененного лесостепного ландшафта юга Среднерусской возвышенности на основе маркеров, включающих случайные фрагменты генома и межмикросателлитные участки ДНК.

В своей оценке состояния популяций мы исходили из двух основных представлений.

Согласно первому представлению критерием стабильного существования популяции является уровень ее аллельного и генотипического разнообразия. Известно, что если в изолированной малочисленной популяции длительное время отсутствует обмен генетической информации с другими внутривидовыми группировками, то аллельное разнообразие такой популяции уменьшается вследствие инбридинга. Этот эффект у гермафродитных видов моллюсков, к которым относится *Br. fruticum*, может быть усилен самооплодотворением, которое иногда встречается в изолированных группах [17]. Кроме того, из-за увеличения частоты близкородственных скрещиваний в такой популяции повышается вероятность выщепления рецессивных мутаций. А это, в свою очередь, значительно понижает жизнеспособность этой группы, так как определенный уровень генетической изменчивости, будучи «мобилизационным резервом», обеспечивает устойчивость популяции как системы [18]. Экспериментально доказано, например, что увеличение гомозиготности в популяциях некоторых видов на 10 % приводит к снижению их репродуктивной способности не менее чем на 25 % [19].

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

Таким образом, оценивая степень гомозиготности (или гетерозиготности), которая отражает общие свойства генотипа и весь комплекс взаимодействий организма со средой, можно оценить степень устойчивости популяций в каждый данный момент времени (причем при изучении природных популяций достаточно зафиксировать гомозиготизацию по определенным локусам). А так как судьба каждого вида, включая и виды, используемые в качестве индикаторов, связана не только с физико-географическими условиями, но и с сообществом других видов, с которыми данный вид сосуществует, то его дальнейшая эволюционная судьба в значительной мере отражает судьбу всего этого биологического сообщества.

Однако стоит отметить также, что никакого объективного стандарта, по которому можно было бы сравнивать уровень гетерозиготности, не существует, так как в реальных популяциях гетерозиготность сильно отличается у разных таксонов, и эволюционное значение ее до конца не понятно [20, 21].

Согласно второму представлению о жизнеспособности популяций в условиях антропогенного прессинга усиливаются ответные компенсаторные реакции со стороны популяционных генофондов. Это касается направленного повышения уровня гомозиготности в малочисленных изолированных группах. Согласно Э. Майру [22], превращение популяции из открытой в замкнутую может значительно изменить селективную ценность генов. В частности, в более выгодном положении в такой ситуации оказываются так называемые «гены-солисты», наиболее жизнеспособные в гомозиготном состоянии в отличие от «хорошо смешивающихся генов», которые доминируют в открытых группах. Причем, по мнению автора, это изменение может носить характер настоящей «генетической революции», так как одновременно может затронуть большое количество локусов.

Еще один момент связан с особенностью лесостепного ландшафта Среднерусской возвышенности, где исследуемый нами вид моллюсков издавна обитает в условиях фрагментации ареала. В районе исследования естественные популяции кустарниковой улитки, приуроченные к более влажным микропонижениям рельефа или лесным ценозам, были разделены обширными степными сообществами. В таких изолированных или полуизолированных популяциях длительное время шел отбор против рецессивных аллелей, отсюда отрицательное воздействие инбридинга в них намного меньше, чем в группах, которые сравнительно недавно оказались в условиях изоляции [23–25]. Известно также, что при увеличении степени фрагментации местообитаний увеличивается уровень миграции между популяциями, что значительно уменьшает вероятность возникновения инбридинговой депрессии [26–28]. Даже если в малочисленной популяции благодаря инбридингу произошло закрепление вредных мутаций с большим фенотипическим эффектом, то последствия их деятельности могут быть нейтрализо-

ваны полигенными модификаторами [1]. В этом контексте уместно вспомнить также гипотезу компенсаторного комплекса генов, который нейтрализует отрицательные эффекты высокого уровня гомозиготности [29].

Кроме того, стоит отметить, что согласно демографическим наблюдениям Рэя [30], для метапопуляций, состоящих из большого числа мелких популяций, что, собственно, мы и наблюдаем в случае с кустарниковой улиткой в исследуемом регионе, фрагментация может оказаться не столь значимой, так как размеры демов невелики и случайные отклонения в успешности размножения в них будут приближаться к таковым в больших популяциях.

Важным аспектом в контексте наших рассуждений являются также положения «теории эволюции со сдвигающимся равновесием» (shifting balance theory of evolution) [31]. Согласно этой теории в подразделенной метапопуляции наблюдается увеличение изменчивости на фоне снижения гетерогенности в субпопуляциях. При этом изменчивость в субпопуляциях переходит в изменчивость между популяциями, что находит свое отражение в увеличении индекса подразделенности популяций F_{st} . Райт полагает, что этот процесс имеет положительные последствия и для поддержания оптимальной панмиксии достаточно 1–2 размножающихся эмигрантов за поколение.

Безусловно, дробление ареала и сокращение численности может привести к сильной разобщенности, инбридингу, гомозиготизации и в конечном счете к гибели группы. Но, как нам видится, это с большей вероятностью может произойти только в условиях дополнительного дестабилизирующего воздействия, в том числе и со стороны человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы тканей особей *Br. fruticum*, хранящиеся в криобанке, созданном при лаборатории популяционной генетики и генотоксикологии НИУ «БелГУ». Выборки из популяций были сделаны во время экспедиций с 2004 по 2012 г. Основная часть выборок со Среднерусской возвышенности была сделана в период 2007–2010 гг. Всего было исследовано 1153 особи *Br. fruticum* из 26 популяций (табл. 1, рис. 1). Из них на территории Среднерусской возвышенности было изучено 23 популяции (903 особи).

Часть выборок была взята из групп, обитающих в зоне влияния горно-обогатительных комбинатов Курской магнитной аномалии (КМА) и Оскольского электрометаллургического комбината (ОЭМК) (пункты 1–7). Сопоставлялись выборки из популяций, обитающих на территории Вятского региона, Урала и Румынии.

Методика сбора. На участке 2 × 2 м с поверхности почвы и с растений собирали живых особей и пустые раковины. В сырую погоду проводили кошение энтомологическим сачком в местах обитания улиток. При этом

Таблица 1

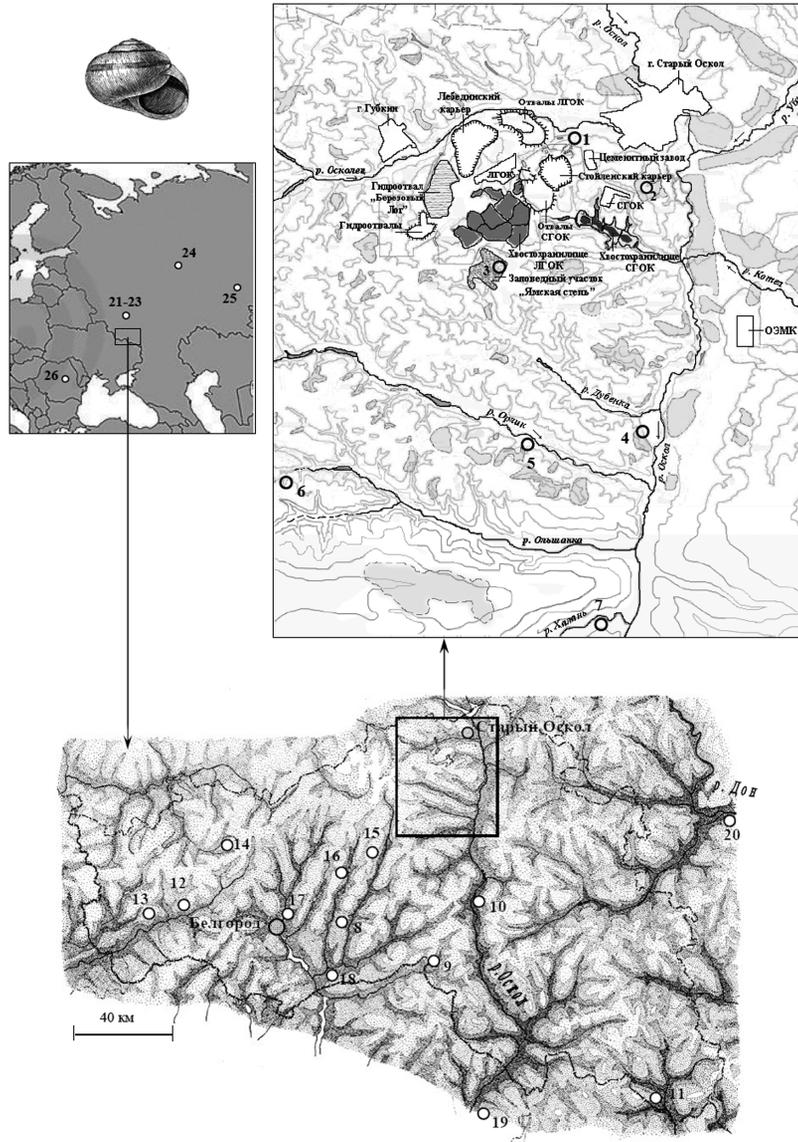
Описание пунктов сбора моллюсков

Description of the collection points of the mollusks

Пункт	Название	Описание биотопа	Координаты
1	Стойло	Пойма р. Осколец, д. Стойло. Заросли ивы, в подлеске лопух и крапива. Территория Стойленского горно-обогатительного комбината (ГОК)	51°17'24.75" 37°44'05.57"
2	Сорокино	Долина р. Оскол, дубрава возле с. Сорокино. Заросли крапивы и лопуха. Территория влияния Стойленского и Лебединского ГОК	51°12'35.34" 37°51'09.74"
3	Ямская Степь	Заповедный участок «Ямская Степь». Смешанный лес, заросли крапивы. Территория влияния Стойленского и Лебединского ГОК	51°11'04.66" 37°39'31.97"
4	Дубенка	Пойма р. Дубенка (Белгородская область). Пойменная дубрава, в подлеске крапива, лопух, хмель. Территория влияния Стойленского и Лебединского ГОК	51°03'26.75" 37°50'00.50"
5	Орлик	Пойма р. Орлик возле пос. Орлик. Заросли лопуха, борщевика и крапивы. Территория влияния Стойленского и Лебединского ГОК	51°03'51.41" 37°41'34.03"
6	Коньшино	Долина р. Ольшанка. Байрачная дубрава возле с. Коньшино. Заросли крапивы. Территория влияния Стойленского и Лебединского ГОК	51°02'05.47" 37°24'34.49"
7	Красный Остров	Пойма р. Халань возле с. Красный Остров. Заросли ивы, лопух, крапива, хмель	50°56'34.06" 37°46'51.71"
8	Дмитриевка	Пойма р. Короча возле с. Дмитриевка. Пойменный лес из ивы и клена, заросли крапивы. Окрестности памятника природы «Дуб-долгожитель»	50°30'12.47" 36°59'39.62"
9	Борки	Памятник природы «Борки». Пойма р. Козинка, ивовый лес, заросли лопуха, крапивы и хмеля	50°08'16.39" 37°53'02.28"
10	Стенки Изгорья	Заповедный участок «Стенки Изгорья». Заболоченный биотоп, заросли ольхи, в подлеске лопух и крапива	50°41'23.25" 37°49'12.22"
11	Ровеньки	Природный парк Ровеньский. Пойма р. Айдар, окрестности п. Ровеньки. Умеренно увлажненный открытый участок. Заросли лопуха, борщевика с примесью крапивы	49°54'33.31" 38°52'55.29"
12	Борисовка	Пойма р. Ворскла, территория пос. Борисовка, под автомобильным мостом	50°36'35.86" 36°00'25.06"
13	Хотмыжск	Пойма р. Ворскла возле пос. Хотмыжск. Заросли лопуха с примесью крапивы	50°35'05.99" 35°52'24.83"
14	Сырцево	Пойма р. Пена, окрестности пос. Сырцево (Ивнянский район). Заросли ивы и клена	50°53'48.79" 36°15'32.43"
15	Ясный Колодец	Памятник природы «Ясный Колодец», пойма р. Короча, окрестности г. Короча. Опушка черноольшаника	50°49'34.23" 37°12'34.24"
16	Корень	Пойма реки Корень, окрестности пос. Алексеевка (Корочанский район). Заросли ивы	50°45'19.01" 37°01'30.91"
17	Сев. Донец	Пойма р. Северский Донец, окрестности г. Белгорода. Заросли ивы и клена	50°36'38.40" 36°37'19.19"
18	Нежеголь	Пойма р. Нежеголь, территория г. Шебекино. Ивовый лес	50°24'32.93" 36°52'38.38"
19	Купянска	Купянск. Пойма р. Оскол возле г. Купянска (Харьковская область, Украина). Пойменный ивовый лес	49°42'37.60" 37°37'26.18"
20	Дивногорье	Памятник природы «Дивногорье» (Воронежская область). Пойма р. Тихая Сосна. Лопух, крапива, хмель	50°57'48.99" 39°17'40.35"
21	Галичья Гора	Заповедный участок «Галичья Гора» (Липецкая область). Пойма р. Дон. Заросли крапивы, борщевика, лопуха и хмеля	52°36'07.54" 38°55'03.95"
22	Воргол	Заповедный участок «Воргольское» (Липецкая область). Скальные выходы девонских известняков в пойме р. Воргол	52°34'25.32" 38°21'05.34"
23	Плющань	Заповедный участок «Плющань» (Липецкая область). Лесное урочище на правом берегу р. Дон. Нагорный березняк и дубовый лес. Заросли крапивы и лопуха	52°50'00.11" 38°59'26.66"

Окончание табл. 1

Пункт	Название	Описание биотопа	Координаты
24	Киров	Пойма р. Вятка. Территория городского парка г. Киров. Заросли крапивы и таволги	58°34'57.11" 49°41'50.75"
25	Оленьи Ручьи	Средний Урал. Природный парк «Оленьи Ручьи» (Свердловская область, Нижнесергинский район) — сосново-еловый лес с березой и лиственницей, поляна, заросли таволги, малины	56°31'01.00" 59°14'49.00"
26	Авриг	Долина р. Олт, предгорье Трансильванских Альп возле пос. Авриг (Румыния). Пойменный лес из ивы и клена, каменистый грунт, сильное увлажнение, заросли крапивы, лопуха и хмеля	45°43'36.87" 24°20'30.12"

Рис. 1. Пункты сбора *Br. fruticum* (описание пунктов в таблице 1)Fig. 1. Collection points *Br. fruticum* (description of items in table 1)

в сачок попадались разновозрастные особи, сидящие на стеблях трав. Затем на этом же участке вручную с почвы собирали моллюсков, упавших при кошении, а также находящихся во время сбора в прикорневом ярусе.

При небольшой плотности моллюсков размер участка увеличивали в два раза. Ввиду неравномерного распределения улиток в каждом исследуемом биоценозе делали три или четыре выборки.

Для экстракции ДНК использовали образцы мантии моллюсков, тщательно отжатых от слизи. ДНК выделяли согласно протоколу набора реактивов *Silica uni* на основе сорбента (Биокот, Россия). Для анализа использовали три праймера: *OPF 8* — 5'-GGGATATCGG-3' (метод *RAPD*), *IT1* — 5'-(CA)₈GT-3' и *UBC 827* — 5'-(AC)₈G-3' (метод *ISSR*). Амплификацию выполняли в термоджелеках MJ Mini и MyCycler (Bio-Rad, США).

ПЦР-реакцию проводили в 20 мкл смеси, содержащей 20 нг геномной ДНК, ПЦР-буфер (10 мМ трис-HCl (pH 8,3), 50 мМ KCl, 2 мМ MgCl₂), 0,25 мМ dNTP, 0,5 мкМ праймера, 1 единица Taq ДНК-полимеразы (ингибированной для горячего старта). Реакция проходила в следующих условиях: «горячий старт» — 2 мин/94 °С, 35 циклов (денатурация — 45 с/94 °С, отжиг праймера для *RAPD* — 15 с/36 °С, 15 с/45 °С, для *ISSR* — 30 с/55 °С; синтез — 2 мин/72 °С), дополнительный синтез — 10 мин/72 °С, охлаждение до 4 °С.

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле с использованием ТАЕ-буфера (охлажденного до +4 °С), 100 В — 45 мин. Блоки окрашивали бромистым этидием.

По картинам амплифицированных фрагментов, полученных в ходе электрофореза, составляли бинарные матрицы, где присутствие полосы обозначалось как «1» (аллель *p*), отсутствие — «0» (аллель *q*). Ввиду того что при использовании метода *RAPD* могут появляться неспецифические продукты амплификации, для анализа мы использовали четко просматриваемые и воспроизводимые ампликоны. Критерием воспроизводимости было повторное проявление ампликонов после ПЦР у одних и тех же исследуемых особей.

У данного вида нами обнаружено 44 локуса: по 14 локусов с использованием праймеров *OPF8* и *It1* и 16 локусов с использованием праймера *UBC 827*. Полученные фингерпринты и расшифровка ДНК-паттернов по трем праймерам приводятся в нашей предыдущей публикации [16].

Анализ молекулярной дисперсии AMOVA [32] и показатели генетического разнообразия популяций рассчитывали в программе GenAlEx.6.5 [33]. Кроме того, в этой программе оценивали связь между уровнем парных межгрупповых потоков генов и уровнем парных географических дистанций с помощью мантел-теста (Mantel test) [34, 35]. Оценку степени дифференциации популяций с помощью модели Неи [36] осуществляли в программе POPGENE32 [37]. Расчет генетических расстояний по Неи и Ли [38], кластеризацию выборок методом ближайшего связывания (NJ) [39] и бутстреп-оценку (1000 генераций) осуществляли в программе TREECON ver. 1.3b [40]. При этом бинарный вектор каждой популяции, состоявший из 44 фрагментов, характеризовал наличие или отсутствие фрагмента определенной длины хотя бы у одной особи из всей популяции. Полигоны Дебеца были построены при помощи программы Statistica 6.0. Мультилокусные генотипы анализировали в программе SPADE [45].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровни ожидаемой гетерозиготности по различным праймерам, а также графические полигоны исследуемых популяций, построенные по частотам *q*-аллеля, отражены на рисунках 2, 3 соответственно. Усредненные

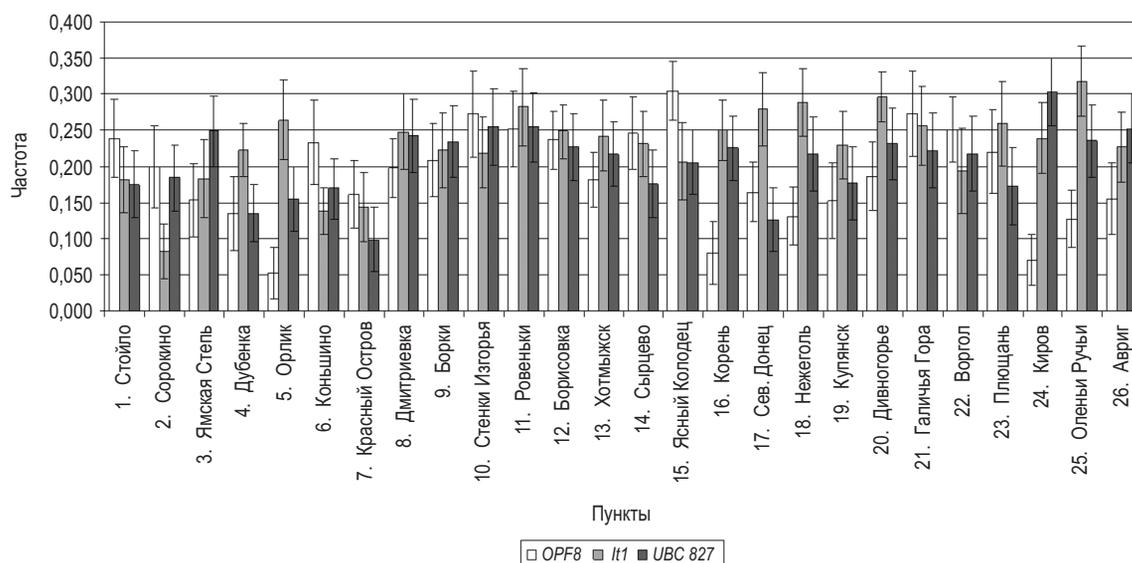


Рис. 2. Показатели ожидаемой гетерозиготности (H_e) в популяциях *Br. fruticum* по различным локусам

Fig. 2. Indicators of expected heterozygosity (H_e) in populations *Br. fruticum* at various loci

Таблица 2

Усредненные по совокупности ДНК-локусов меры генетической гетерогенности в популяциях *Br. fruticum*
Measures of genetic heterogeneity in the *Br. fruticum* populations averaged by the total DNA-loci

Пункт	<i>N</i>	<i>P</i> , %	<i>A</i>	<i>A_e</i>	<i>I_{sh}</i>	<i>H_e</i>
1. Стойло	26	77,27	1,77 ± 0,06	1,32 ± 0,05	0,308 ± 0,039	0,198 ± 0,028
2. Сорокино	22	65,91	1,61 ± 0,07	1,26 ± 0,05	0,243 ± 0,038	0,156 ± 0,027
3. Ямская Степь	21	61,36	1,66 ± 0,07	1,33 ± 0,05	0,300 ± 0,040	0,197 ± 0,028
4. Дубенка	65	72,73	1,72 ± 0,06	1,25 ± 0,04	0,263 ± 0,034	0,163 ± 0,023
5. Орлик	15	79,55	1,50 ± 0,07	1,26 ± 0,05	0,239 ± 0,039	0,157 ± 0,027
6. Коньшино	71	50,00	1,79 ± 0,06	1,28 ± 0,05	0,285 ± 0,035	0,179 ± 0,025
7. Красный Остров	50	59,09	1,59 ± 0,07	1,21 ± 0,05	0,210 ± 0,038	0,133 ± 0,027
8. Дмитриевка	50	79,55	1,79 ± 0,06	1,38 ± 0,05	0,354 ± 0,038	0,230 ± 0,028
9. Борки	30	84,09	1,79 ± 0,06	1,37 ± 0,05	0,342 ± 0,037	0,222 ± 0,027
10. Стенки Изгорья	25	72,73	1,73 ± 0,07	1,43 ± 0,05	0,371 ± 0,040	0,249 ± 0,028
11. Ровеньки	43	72,73	1,81 ± 0,05	1,45 ± 0,05	0,395 ± 0,037	0,262 ± 0,027
12. Борисовка	67	77,27	1,95 ± 0,03	1,37 ± 0,04	0,376 ± 0,030	0,237 ± 0,022
13. Хотмыжск	30	72,73	1,82 ± 0,05	1,34 ± 0,04	0,338 ± 0,033	0,214 ± 0,024
14. Сырцево	40	79,55	1,77 ± 0,06	1,35 ± 0,05	0,336 ± 0,036	0,216 ± 0,025
15. Ясный Колодец	65	81,82	1,84 ± 0,05	1,39 ± 0,05	0,366 ± 0,035	0,238 ± 0,025
16. Корень	40	63,64	1,72 ± 0,06	1,30 ± 0,05	0,294 ± 0,036	0,187 ± 0,026
17. Сев. Донец	42	81,82	1,72 ± 0,06	1,30 ± 0,05	0,293 ± 0,036	0,187 ± 0,025
18. Нежеголь	33	95,45	1,77 ± 0,06	1,35 ± 0,05	0,327 ± 0,037	0,212 ± 0,027
19. Купянск	17	77,27	1,64 ± 0,07	1,31 ± 0,05	0,286 ± 0,038	0,186 ± 0,027
20. Дивногорье	56	88,64	1,89 ± 0,05	1,38 ± 0,05	0,370 ± 0,036	0,238 ± 0,026
21. Галичья Гора	54	79,55	1,79 ± 0,06	1,44 ± 0,06	0,370 ± 0,043	0,249 ± 0,031
22. Воргол	29	68,18	1,68 ± 0,07	1,37 ± 0,06	0,333 ± 0,042	0,221 ± 0,030
23. Плющань	12	56,82	1,57 ± 0,08	1,38 ± 0,06	0,316 ± 0,046	0,215 ± 0,032
Среднее		73,81 ± 1,24	1,74 ± 0,06	1,34 ± 0,05	0,318 ± 0,039	0,206 ± 0,028
24. Киров	81	70,45	1,70 ± 0,07	1,35 ± 0,05	0,318 ± 0,041	0,209 ± 0,029
25. Оленьи Ручьи	84	81,82	1,82 ± 0,06	1,38 ± 0,05	0,347 ± 0,040	0,227 ± 0,029
26. Авриг	85	75,00	1,75 ± 0,07	1,35 ± 0,05	0,328 ± 0,040	0,213 ± 0,028
Общее среднее		74,0 ± 2,0	1,74 ± 0,06	1,34 ± 0,05	0,320 ± 0,039	0,208 ± 0,028

Примечание: *N* — количество проанализированных особей, *P* — процент полиморфных локусов, *A* — среднее число аллелей на локус, *A_e* — эффективное число аллелей, *I_{sh}* — индекс Шеннона, *H_e* — ожидаемая гетерозиготность

показатели генетической гетерогенности приведены в таблице 2.

Согласно полученным данным уровень гетерозиготности в ряде популяций по различным праймерам неодинаков. Например, по *RAPD*-локусам достоверно низкие значения гетерозиготности отмечены в пунктах 5, 16, 24. Популяция 2 отличается наименьшей гетерозиготностью по праймеру *H1*, а в популяциях 7 и 17 отмечены самые низкие показатели гетерозиготности по праймеру *UBC 827*. В целом по 44 локусам ДНК среди популяций Среднерусской возвышенности наибольшие показатели генетической изменчивости отмечены в группах, обитающих

на особо охраняемых природных территориях, это «Стенки Изгорья» (№ 10), «Ровеньки» (№ 11), «Ясный Колодец» (№ 15), «Дивногорье» (№ 20), «Галичья Гора» (№ 21).

Наиболее мономорфными оказались популяции, обитающие в зонах влияния Стойленского и Лебединского горно-обогатительных комбинатов (№ 1–7). Среди них наименьшие значения изменчивости отмечены в пункте «Красный Остров» (№ 7). Пониженные значения изменчивости зафиксированы также в пунктах «Корень» (№ 16) и «Сев. Донец» (№ 17). Сходный уровень изменчивости зафиксирован в популяциях Вятского региона (№ 24), Урала (№ 25) и Румынии (№ 26).

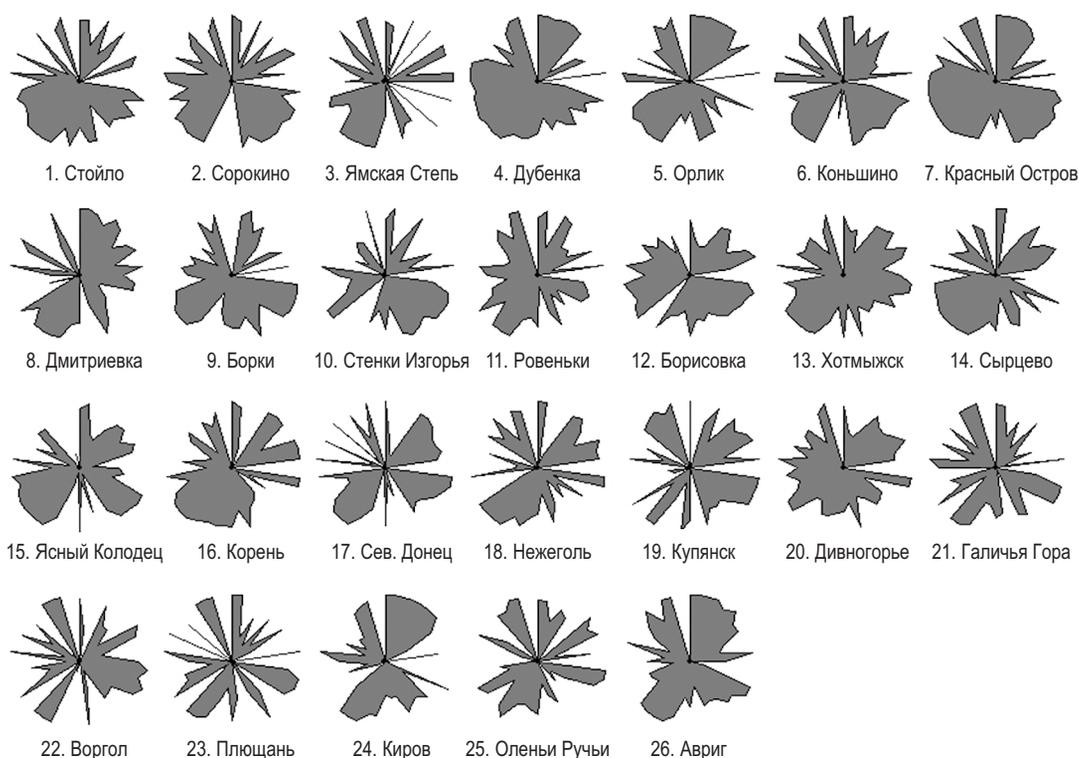


Рис. 3. Полигоны Дебета, построенные по совокупности частот q -аллеля 44 локусов ДНК в популяциях *Br. fruticum*
Fig. 3. Debets polygons, constructed from the q -allele aggregate frequencies of the 44 loci

Степень дифференциации изучаемых популяций в пределах Среднерусской возвышенности (популяции с 1-й по 23-ю) оценивали с помощью характеристик генного разнообразия, предложенных М. Неем [36], а также с помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) [32] (табл. 3). Для выяснения степени различий между отдельными популяциями были вычислены значения попарных показателей генетической дифференциации (Φ_{st}) между исследуемыми группами кустарниковой улитки, которые приведены в таблице 4.

Ожидаемая доля гетерозиготных генотипов во всей популяции Среднерусской возвышенности как в генеральной совокупности (H_t) составила $0,277 \pm 0,025$, а ожидаемая доля гетерозигот в субпопуляциях (H_s) — $0,206 \pm 0,018$. При этом коэффициент межпопуляционного разнообразия G_{st} оказался на довольно высоком уровне ($0,254$).

Известно, что средние величины G_{st} соответствуют уровню генетической дифференциации при селективно-нейтральном процессе. В таком случае локусы с большими значениями G_{st} , вероятнее всего, могут испытывать действие дизруптивного отбора, а локусы с низкими показателями индекса подразделенности подвержены влиянию стабилизирующего отбора [41]. Согласно полученным данным наибольшие отличия между популяциями зафиксированы по локусам *OPF8-13*, *It1-11* и *UBC 827-5* ($G_{st} = 0,456; 0,329$ и $0,413$ соответственно). Наименьшая генетическая дифференциация отмечена по локусам *OPF8-11*, *It1-14* и *UBC 827-16* ($G_{st} = 0,109; 0,035$ и $0,014$ соответственно).

Результаты AMOVA показали картину, во многом сходную с аналогичной картиной, полученной нами ранее по изоферментным локусам [42]. До 30 % генетической

Таблица 3

Результат анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) по ДНК-локусам в популяциях *Br. fruticum* (по 23 популяциям)

The results of the analysis of molecular variance (AMOVA) by the DNA loci in the *Br. fruticum* populations (for 23 populations)

Источник изменчивости	df	SS	MS	V	%	Φ_{st}	P	N_m
Между популяциями	22	2022,457	91,930	2,228	30	0,298	0,010	0,708
Внутри популяций	880	4613,663	5,243	5,243	70			
Итого	902	6636,120	97,173	7,471				

Таблица 4

Попарные оценки генетической дифференциации (Φ_{st}) между исследованными популяциями *Br. fruticum* по ДНК-локусам
 Pairwise genetic differentiation estimates (Φ_{st}) between populations of *Br. fruticum* at DNA loci

Попу- ляция	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26				
1		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
2	0,275		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
3	0,316	0,451		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
4	0,265	0,370	0,368		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
5	0,400	0,450	0,464	0,279		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
6	0,246	0,212	0,380	0,303	0,286		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
7	0,372	0,399	0,523	0,125	0,442	0,391		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
8	0,356	0,429	0,363	0,344	0,346	0,412	0,428		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
9	0,284	0,330	0,389	0,242	0,312	0,332	0,267	0,299		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
10	0,281	0,330	0,373	0,297	0,358	0,307	0,339	0,298	0,134		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
11	0,220	0,269	0,240	0,209	0,214	0,255	0,307	0,213	0,195	0,171		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
12	0,162	0,247	0,345	0,251	0,347	0,289	0,291	0,269	0,224	0,193	0,209		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
13	0,203	0,332	0,395	0,323	0,399	0,363	0,371	0,255	0,256	0,241	0,202	0,068		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
14	0,239	0,359	0,295	0,339	0,363	0,373	0,439	0,300	0,335	0,281	0,205	0,151	0,182		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
15	0,253	0,317	0,436	0,363	0,406	0,355	0,395	0,389	0,335	0,273	0,271	0,126	0,163	0,182		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
16	0,317	0,465	0,458	0,368	0,458	0,460	0,438	0,313	0,343	0,331	0,275	0,151	0,096	0,256	0,323		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
17	0,375	0,449	0,506	0,394	0,469	0,452	0,420	0,384	0,347	0,311	0,304	0,190	0,142	0,317	0,238	0,196		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
18	0,315	0,433	0,402	0,399	0,466	0,442	0,491	0,295	0,365	0,308	0,241	0,170	0,131	0,252	0,329	0,124	0,266		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
19	0,345	0,406	0,394	0,391	0,424	0,401	0,473	0,334	0,279	0,306	0,211	0,287	0,258	0,388	0,369	0,365	0,324	0,318		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010			
20	0,159	0,223	0,284	0,234	0,303	0,268	0,271	0,231	0,192	0,165	0,135	0,082	0,041	0,179	0,198	0,126	0,152	0,116	0,187		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010		
21	0,297	0,326	0,334	0,259	0,270	0,249	0,342	0,304	0,217	0,246	0,151	0,280	0,312	0,336	0,360	0,353	0,322	0,374	0,262	0,259		0,010	0,030	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010		
22	0,372	0,333	0,463	0,408	0,411	0,403	0,457	0,384	0,307	0,341	0,241	0,303	0,324	0,404	0,379	0,392	0,305	0,389	0,294	0,226	0,227		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	
23	0,361	0,416	0,413	0,320	0,357	0,367	0,424	0,320	0,247	0,270	0,184	0,280	0,304	0,362	0,357	0,363	0,292	0,397	0,305	0,250	0,034	0,206		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010		
24	0,381	0,442	0,396	0,318	0,128	0,340	0,415	0,259	0,352	0,359	0,249	0,380	0,393	0,348	0,407	0,440	0,434	0,440	0,365	0,332	0,294	0,414	0,344		0,010	0,010	0,010	0,010		
25	0,373	0,440	0,379	0,412	0,404	0,452	0,477	0,308	0,283	0,323	0,178	0,316	0,266	0,360	0,397	0,320	0,375	0,280	0,269	0,213	0,333	0,316	0,327	0,393		0,010	0,010	0,010	0,010	
26	0,318	0,365	0,332	0,239	0,167	0,286	0,348	0,288	0,315	0,321	0,193	0,307	0,324	0,295	0,329	0,401	0,403	0,353	0,326	0,279	0,294	0,414	0,347	0,150	0,368		0,010	0,010	0,010	0,010

Примечание: поддиагональю приведены оценки Φ_{st} , а наддиагональю — уровень их значимости

изменчивости приходится на межпопуляционные различия. Уровень дифференциации популяций оказался довольно высоким ($F_{st} = 0,298$), а средний поток генов N_m составил 0,708 особи за поколение (табл. 3). При этом между некоторыми, даже близко расположенными, группами (например, между № 3 и 7) степень генетических различий достигла значений $F_{st} = 0,523$ (табл. 4).

Результаты кластерного анализа на основе генетических расстояний методом ближайшего связывания (NJ) представлены на рисунке 4. Построенная дендрограмма показывает, что географическая близость между популяциями кустарниковой улитки может только отчасти вызывать близость генетическую. Так, в один кластер вошли группы из заповедника «Галичья Гора» (пункты № 21–23). Также в одну группу вошли некоторые популяции из зоны ГОК (№ 1, 2 или 3, 6). Остальные выборки кластеризовались независимо от местоположения популяции. При этом бустреп-оценка показала недостоверную кластеризацию большинства исследуемых популяций (< 50 %).

Ввиду того что для оценки состояния популяционных генофондов *Br. fruticum* были использованы выборки ограниченной численности, содержащие лишь небольшую часть популяционного аллелофонда, в каждой группе было оценено общее количество мультилокусных генотипов (N_{MLG}) и число уникальных мультилокусных генотипов (N_{MLG-1}), то есть тех комбинаций, которые были отмечены в одной-единственной выборке. В дальнейшем, основываясь на распределении частот мультилокусных генотипов, для каждой популяции было вычислено потенциальное генетическое разнообразие, ожидаемое при увеличении объема выборки до бесконечности (N_{max}). Анализ проводили с помощью двух непараметрических методов: метода Chao1-bc (bias-corrected form for the Chao1) [43] и метода «складного ножа» первого порядка (1st order jackknife) [44]. Все расчеты были выполнены с помощью программы SPADE [45].

Результаты анализа мультилокусных генотипов представлены в таблице 5. Анализ показал, что по *RAPD*-локусам (*OPF8*) наибольшее генотипическое разнообразие, как реальное, так и потенциальное, характерно для двух популяций района исследования № 12 («Борисовка») и 15 («Ясный Колодец»). А по *ISSR*-локусам выделяются группы из других регионов, взятые для сопоставления (№ 24–26). На юге Среднерусской возвышенности по количеству генетических комбинаций к ним наиболее приближены группы № 4, 7, 16.

График зависимости уровня потока генов (N_m) между популяциями от географических дистанций между ними (D_g) (рис. 5) демонстрирует отсутствие достоверной связи между этими показателями (коэффициент корреляции Мантеля $R_m = -0,024$; $p = 0,409$; 9999 пермутаций).

На заключительном этапе мы оценивали эффективную численность популяций *Br. fruticum* с использованием различных моделей. Первый способ расчета

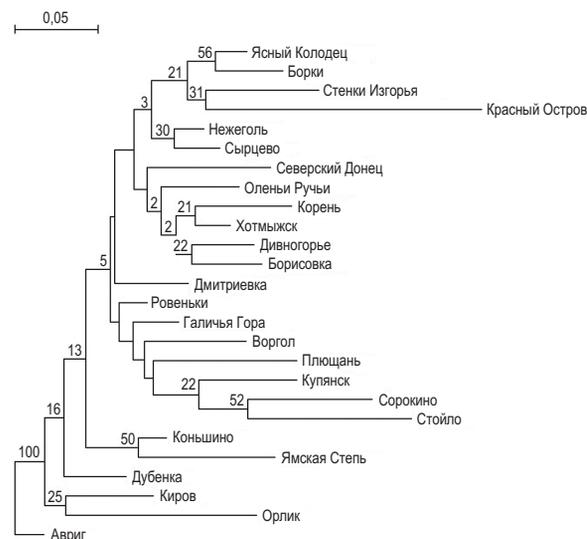


Рис. 4. Дендрограмма генетических расстояний, построенная методом ближайшего связывания (NJ) между популяциями *Br. fruticum* по локусам ДНК

Fig. 4. Dendrogram of genetic distances, constructed by the neighbor-joining method (NJ) between populations *Br. fruticum* by DNA-loci

был проведен на основании коэффициента линейной функции между попарными оценками потока генов (N_m) и географического расстояния между популяциями (D_g): $\log N_m = a + b \cdot \log D_g$.

Эффективную численность популяции (для всех исследованных популяций в целом) вычисляли как $N_e = 10^a$, где a — коэффициент, полученный в уравнении, которое представлено на рисунке 5 [46]. Результаты приведены в таблице 6. Кроме того, в данной таблице указаны значения эффективной численности, вычисленные нами ранее для других видов наземных

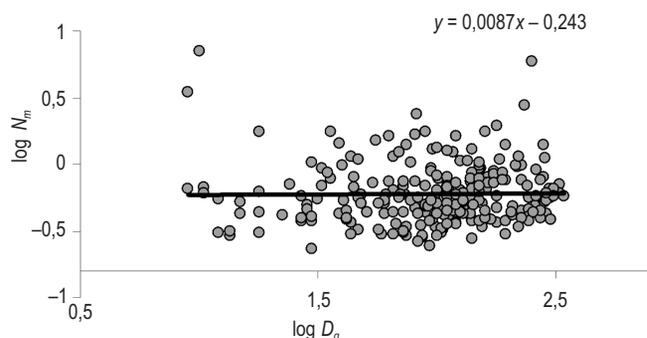


Рис. 5. Зависимость уровня потока генов N_m между парами популяций *Br. fruticum* от географического расстояния между ними D_g (км)

Fig. 5. Dependence of the level of gene flow N_m between pairs of populations of *Br. fruticum* on the geographical distance between them D_g (km)

Таблица 5
 Количество отмеченных мультислоковых генотипов и оценки потенциального генетического разнообразия, полученные разными методами для исследованных популяций *Br. fruticum* (жирным шрифтом выделены наибольшие значения)
 Estimates of the potential genetic diversity for the studied *Br. fruticum* populations obtained by different methods (the highest values are highlighted)

Популяция	Примеры																	
	OPF8						И1						UBC827					
	Метод			Метод			Метод			Метод			Метод			Метод		
	N_{MLG-1}	Chao1-bc	95 % CI	$N_{max} \pm SE$	1 st order jackknife	95 % CI	N_{MLG-1}	Chao1-bc	95 % CI	$N_{max} \pm SE$	1 st order jackknife	95 % CI	N_{MLG-1}	Chao1-bc	95 % CI	$N_{max} \pm SE$	1 st order jackknife	95 % CI
1	11	3	14,6 ± 4,1	11,6–32,3	16,8 ± 3,4	13,0–27,7	17	5	27,9 ± 9,9	20,3–65,8	28,5 ± 4,8	22,3–42,1	12	3	33,6 ± 18,6	17,0–105,2	21,6 ± 4,3	16,1–34,4
2	12	5	16,0 ± 4,2	12,7–33,5	18,7 ± 3,6	14,5–30,0	10	2	20,1 ± 10,2	12,0–62,4	16,8 ± 3,6	12,5–28,2	16	6	53,2 ± 29,1	25,6–160,1	28,4 ± 4,9	21,9–42,3
3	5	2	7,9 ± 4,2	5,4–28,3	7,9 ± 2,4	5,7–16,8	15	9	28,1 ± 10,7	18,2–68,1	25,5 ± 4,5	19,7–38,6	20	12	101,4 ± 56,7	43,8–292,2	38,1 ± 5,9	29,7–53,9
4	22	3	47,6 ± 19,7	28,7–119,7	34,8 ± 5,0	28,1–48,9	54	28	266,9 ± 106,8	138,1–592,8	100,3 ± 9,6	85,0–123,2	36	15	105,1 ± 39,6	60,3–232,4	62,6 ± 7,3	51,7–81,0
5	3	0	3,0 ± 0,4	3,0–3,0	3,9 ± 1,3	3,1–10,4	14	9	50,4 ± 28,5	23,4–154,9	26,1 ± 4,8	19,7–39,8	10	4	11,6 ± 2,1	10,2–21,3	14,7 ± 3,0	11,5–24,8
6	38	15	95,7 ± 32,1	58,8–197,7	64,6 ± 7,3	53,7–83,0	30	14	64,5 ± 20,9	41,5–133,3	50,7 ± 6,4	41,4–67,5	27	10	50,7 ± 16,2	34,0–106,8	42,8 ± 5,6	35,0–58,0
7	25	11	54,4 ± 20,5	33,5–126,2	40,7 ± 5,6	33,0–55,8	30	6	324,0 ± 120,1	166,2–664,8	54,5 ± 7,0	44,2–72,3	13	4	22,1 ± 8,7	14,9–57,1	20,8 ± 3,9	16,1–32,9
8	32	14	94,0 ± 38,5	52,2–221,8	54,5 ± 6,7	44,8–71,8	40	17	143,5 ± 56,2	78,2–320,2	72,3 ± 8,0	60,1–92,1	28	24	96,6 ± 45,3	49,1–251,3	48,6 ± 6,4	39,4–65,3
9	26	13	70,7 ± 27,3	40,8–160,6	47,3 ± 6,5	37,9–64,1	26	14	107,5 ± 52,6	51,6–285,1	48,2 ± 6,6	38,6–65,3	25	13	55,6 ± 18,9	35,0–118,4	44,3 ± 6,2	35,5–60,6
10	18	12	47,1 ± 21,9	25,8–126,1	31,4 ± 5,1	24,5–45,7	23	16	90,2 ± 44,4	43,6–241,8	43,2 ± 6,3	34,1–59,6	22	14	63,0 ± 27,0	34,6–155,2	40,2 ± 6,0	31,8–56,1
11	31	21	75,9 ± 26,0	46,7–159,9	54,4 ± 6,8	44,4–71,9	38	18	124,0 ± 45,1	70,7–264,0	70,2 ± 8,0	58,0–90,0	35	21	114,3 ± 44,5	63,4–256,4	63,3 ± 7,5	52,0–82,1
12	60	39	294,9 ± 109,9	158,3–621,6	113,2 ± 10,3	96,6–137,4	52	21	153,0 ± 47,3	94,2–298,7	92,4 ± 9,0	78,3–114,0	50	37	159,8 ± 53,1	94,7–319,7	89,4 ± 8,8	75,5–110,8
13	22	16	59,0 ± 24,8	33,2–144,1	39,4 ± 5,8	31,2–55,0	24	9	69,9 ± 29,8	38,4–170,6	137,9 ± 95,6	51,2–500,8	25	14	75,8 ± 32,4	41,1–184,6	45,3 ± 6,3	36,2–61,8
14	27	17	64,0 ± 23,4	38,9–142,2	46,5 ± 6,2	37,6–62,8	24	4	57,1 ± 22,7	33,8–135,6	40,6 ± 5,7	32,6–56,0	29	8	126,5 ± 61,6	60,3–332,6	53,4 ± 6,9	43,1–71,1
15	58	41	275,6 ± 102,5	148,5–581,3	109,2 ± 10,1	92,9–133,0	29	14	59,1 ± 19,7	38,3–126,1	46,7 ± 5,9	38,4–62,6	41	23	85,4 ± 22,8	58,2–155,7	69,6 ± 7,5	58,2–88,5
16	9	2	11,9 ± 4,1	9,4–31,5	12,9 ± 2,8	10,1–22,7	31	17	79,8 ± 27,8	48,2–169,1	55,4 ± 6,9	45,1–73,1	32	21	216,3 ± 117,1	90,9–608,9	59,3 ± 7,3	48,3–77,8
17	26	6	52,6 ± 17,8	34,1–113,5	42,6 ± 5,7	34,6–58,0	34	19	166,1 ± 80,7	77,8–432,1	62,3 ± 7,5	51,0–81,1	17	6	34,9 ± 14,7	21,4–90,4	27,7 ± 4,6	21,8–41,0
18	13	6	17,1 ± 4,2	13,8–34,7	19,8 ± 3,7	15,5–31,3	31	19	162,2 ± 80,1	74,5–426,5	59,1 ± 7,4	47,9–77,8	28	23	94,9 ± 41,1	50,1–230,6	51,3 ± 6,8	41,3–68,7
19	11	7	17,6 ± 6,7	12,3–45,6	17,6 ± 3,6	13,4–28,8	14	5	45,1 ± 25,0	21,8–138,0	25,3 ± 4,7	19,2–38,7	12	7	54,4 ± 28,3	24,9–151,3	21,4 ± 4,3	16,0–34,0
20	26	10	35,6 ± 7,1	28,6–61,0	38,8 ± 5,0	32,1–52,9	45	31	122,3 ± 37,6	76,3–235,9	80,4 ± 8,4	67,4–100,9	39	17	130,3 ± 50,4	72,3–289,8	69,4 ± 7,8	57,6–88,8
21	39	15	130,3 ± 50,4	72,2–289,7	69,4 ± 7,8	57,6–88,8	44	10	216,5 ± 94,7	107,1–515,7	81,3 ± 8,6	67,9–102,3	32	13	58,6 ± 16,2	40,9–112,1	51,6 ± 6,2	42,7–68,0
22	20	10	45,3 ± 18,2	27,2–109,5	34,5 ± 5,3	27,2–49,1	21	11	50,0 ± 20,3	29,4–120,8	36,4 ± 5,5	28,8–51,4	10	2	11,0 ± 1,8	10,1–20,4	12,9 ± 2,4	10,7–21,9
23	8	2	11,1 ± 3,8	8,5–28,5	12,6 ± 3,0	9,4–22,6	10	0	18,6 ± 8,2	11,8–51,5	17,3 ± 3,7	12,9–28,9	10	0	18,6 ± 8,2	11,8–51,5	17,3 ± 3,7	12,9–28,9
24	7	1	7,5 ± 1,3	7,0–15,2	9,0 ± 2,0	7,4–17,1	67	31	264,0 ± 85,0	154,7–509,6	123,3 ± 10,6	106,1–148,1	65	40	248,3 ± 79,7	146,1–479,3	119,3 ± 10,4	102,5–143,8
25	27	17	64,8 ± 25,3	38,5–151,7	44,8 ± 5,9	36,4–60,7	74	47	438,1 ± 163,7	231,0–918,4	140,2 ± 11,5	121,3–166,7	49	37	180,6 ± 69,5	98,8–396,8	85,6 ± 8,5	72,3–106,4
26	24	13	36,8 ± 9,5	27,5–71,1	36,8 ± 5,1	30,1–51,0	69	28	256,9 ± 78,2	154,9–480,1	127,3 ± 10,8	109,7–152,5	66	54	285,1 ± 71,2	142,6–439,4	121,3 ± 10,5	104,3–146,0

Таблица 6

Значения эффективной численности, рассчитанные на основе коэффициентов линейной функции между попарными оценками потока генов (N_m) и географического расстояния между популяциями различных видов наземных моллюсков
Effective size values calculated based on the coefficients of the linear function between pairwise estimations of the gene flow (N_m) and the geographic distance between populations of different species of land mollusks

Вид	N_e	95 %, Δ
<i>Helix pomatia</i>	3,1	2,0–4,9
<i>Helicopsis striata</i>	1,9	1,3–2,7
<i>Chondrula tridens</i>	1,2	0,8–1,8
<i>Cepaea vindobonensis</i>	0,96	0,36–2,6
<i>Bradybaena fruticum</i>	0,57	0,39–0,83

Примечание: данные по *C. vindobonensis*, *Ch. tridens*, *H. striata* и *H. pomatia* взяты из наших предыдущих публикаций [42, 48–52]. То же и для таблицы 7

моллюсков, обитающих в районе исследования. Представленные данные позволяют более объективно оценить уровень эффективного размера популяций кустарниковой улитки.

Еще один примененный нами способ вычисления эффективного размера популяций основан на модели, в которой учитываются значения индекса подразделенности популяции [47]:

$$F_{st} = \frac{1 - t_k}{1 + t_k},$$

где

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

где K — количество использованных популяций.

Ввиду того что для определения степени подразделенности популяций в данной работе нами вместе с индексом F_{st} было задействовано два других интегральных и взаимозаменяемых показателя — G_{st} и Φ_{st} , мы сочли возможным модифицировать указанную формулу, внося в нее поочередно значения этих индексов. Результаты представлены в таблице 7.

ОБСУЖДЕНИЕ

Приведенная оценка уровня генетической гетерогенности популяций кустарниковой улитки, как реального, так и потенциального, подтверждает наши предположения, согласно которым на промышленных территориях в силу чрезмерного дробления ареала и, как следствие,

появления узколокальных поселений и дрейфа генов идет обеднение генофонда и увеличение гомозиготных комбинаций [14]. Этот процесс, вероятно, усиливается естественным отбором в сторону доминирования генетических факторов, наиболее адаптивных к условиям изоляции и к обитанию в импактных зонах. Например, ранее нами было показано, что гомозиготизация различных популяций исследуемого вида в районе исследования идет по одним и тем же аллелям изоферментов [13, 14, 42].

Кроме того, данные о генетической подразделенности исследуемых групп улиток также подтверждают выдвинутый нами ранее тезис, что урбанизированный лесостепной ландшафт, в условиях которого обитает большинство изучаемых популяций *Br. fruticum*, нарушает естественные миграционные процессы, приводит к сильной изолированности, дрейфу генов и ведет к формированию своеобразных популяционных генофондов. Дополнительным аргументом в пользу этого вывода являются особенности кластеризации выборок и отсутствие корреляции между генетическими и географическими дистанциями, что свидетельствует о нарушении модели изоляции расстоянием.

Таблица 7

Значения эффективной численности в популяциях различных видов наземных моллюсков, вычисленные на основе индексов подразделенности G_{st} и Φ_{st} (K — количество популяций)
Effective size values in the populations of different species calculated based on subdivision indices (G_{st} , and Φ_{st}) (K — quantity of the population)

Показатель	<i>Br. fruticum</i> ($K = 26$)	<i>Ch. tridens</i> ($K = 25$)	<i>H. striata</i> ($K = 19$)	<i>H. pomatia</i> ($K = 12$)	<i>C. vindobonensis</i> ($K = 11$)
$N_e (G_{st})$	7,3	10,3	4,9	5,9	6,6
$N_e (\Phi_{st})$	6,2	9,9	4,4	3,8	6,3

Стоит отметить, что эти данные согласуются с нашими предположениями, высказанными ранее, согласно которым популяционная структура *Br. fruticum* в районе исследования соответствует метапопуляционной модели, когда часто вымирающие немногочисленные группы улиток, обитающие в пойменных биотопах, пополняются новыми особями из крупных лесных популяций [48]. Вместе с тем нами ранее было продемонстрировано, что такая реколонизация все чаще становится проблематичной, так как естественные биокоридоры, по которым может происходить миграция улиток, разрушаются в ходе необдуманного антропогенного вмешательства [42]. Кроме того, за пятнадцатилетний период наблюдения (с 1995 по 2010 г.) нами установлено, что уровень разобщенности популяций, вычисленный на основе индексов Φ_{st} и F_{st} в районе исследования, увеличился в два раза, что свидетельствует о сохраняющейся тенденции роста степени антропогенной инсультации естественных популяций на юге лесостепи Среднерусской возвышенности, что ведет к образованию сильно изолированных групп [48]. При этом все эти явления на фоне снижения аллельного разнообразия, отмеченного нами во многих группах кустарниковой улитки, можно расценивать как смещение генетического равновесия в сторону увеличения межпопуляционного разнообразия (согласно модели Райта).

Сопоставление полученных оценок эффективного размера популяций *Br. fruticum*, вычисленных на основе уравнения линейной регрессии, с аналогичными данными по другим видам наземных моллюсков, обитающих в районе исследования, демонстрирует явное уменьшение этого показателя в группах кустарниковой улитки (см. табл. 6), хотя рассчитанные доверительные интервалы показывают, что достоверные отличия присутствуют только с *H. striata* и *H. pomatia*.

Несколько иной результат был получен нами при вычислении эффективной численности с учетом уровня подразделенности популяций (см. табл. 7). Согласно полученным данным эффективный размер популяций *Br. fruticum* уступил только популяциям другого фонового вида *Ch. tridens*. Данный факт свидетельствует о том, что для получения достоверной картины состояния природных систем необходимо использовать многокомпонентную диагностику, основанную на различных методах и моделях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании изложенных результатов можно говорить о сохраняющейся тенденции сокращения аллельного разнообразия и изменения соотношения частот генотипов в популяциях кустарниковой улитки в районе исследования, что отчасти отражает изменения в структуре всего лесостепного ландшафта юга Среднерусской возвышенности под влиянием антропогенного

пресса. Данная картина с учетом интенсивного развития экономической составляющей региона диктует необходимость более пристального внимания к естественным сообществам с точки зрения сохранения их биопотенциала, создания биокоридоров и расширения сети особо охраняемых природных территорий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ланде Р., Бэрроуклаф Д. Эффективная численность популяций, генетическая изменчивость и их использование для управления популяциями // Жизнеспособность популяций: Природоохранные аспекты. — М.: Мир, 1989. — С. 117–157. [Lande R, Barroclough D. Effective Population Number, Genetic Variability and Their Use for Population Management. In Viability of Populations: Environmental Aspects. Moscow: Mir; 1989. P. 117-157. (In Russ.)]
2. Кантор Ю.И., Сысоев А.В. Каталог моллюсков России и сопредельных стран. — М.: Т-во научных изданий КМК, 2005. — 627 с. [Cantor YI, Sysoev AV. Mollusks catalog of Russia and neighboring countries. Moscow: The Association of Scientific Publications KMK; 2005. 627 p. (In Russ.)]
3. Зейферт Д.В., Хохуткин И.М. Экология кустарниковой улитки *Fruticicola fruticum*. — М.: Т-во научных изданий КМК, 2010. — 92 с. [Seifert DV, Khokhutkin IM. Ecology of the bush snail *Fruticicola fruticum*. Moscow: The Association of Scientific Publications KMK; 2010. 92 p. (In Russ.)]
4. Шилейко А.А. Наземные моллюски надсемейства Helicoidea. Фауна СССР. Моллюски. — Л.: Наука, 1978. — Т. 3. — Вып. 6. — 384 с. [Shileiko AA. Terrestrial mollusks superfamily Helicidae. Fauna of the USSR. Shellfish. Leningrad: Nauka, 1978. Vol. 3. Issue 6. P. 384. (In Russ.)]
5. Удалой А.В. К вопросу о распространении кустарниковой улитки *Fruticicola fruticum* (Müller, 1774) на юге Западной Сибири / Материалы 4-й международной науч.-практ. конференции «Сохранение разнообразия животных и охотничье хозяйство России». — М., 2011. — С. 104–106. [Udaloy AV. On the distribution of the bush snail *Fruticicola fruticum* (Müller, 1774) in the south of Western Siberia. (Proceedings of the 4th international scientific-practical conference.) "Conservation of animal diversity and hunting in Russia". Moscow; 2011. P. 104-106. (In Russ.)]
6. Снегин Э.А. Структура расселенности *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях юга лесостепной зоны Русской равнины: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1999. [Snegin EA. Structure of the settlement of *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) in the conditions of the south of the forest-steppe zone of the Russian Plain. [dissertation] Moscow; 1999. (In Russ.)]

7. Хохуткин И.М. Структура изменчивости видов на примере наземных моллюсков. — Екатеринбург: УрО РАН, 1997. — 175 с. [Khokhutkin IM. Species Variability Structure as Exemplified by Terrestrial Snails: UrB RAS; 1997. 175 p. (In Russ.)]
8. Матёкин П.В., Макеева В.М. Полиморфная система эстераз и пространственная структура вида у кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum* Müll.) // Журнал общей биологии. — 1977. — Т. 38. — № 6. — С. 908–913. [Matekin PV, Makeeva VM. Polymorphic Esterase System and the Spatial Structure of the Species in the bush snail (*Bradybaena fruticum* Müll.). *Zh Obshch Biol.* 1977;38(6):908-913. (In Russ.)]
9. Макеева В.М., Белоконь 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. — Т. 41. — № 11. — С. 1495–1510. [Makeeva VM, Belokon MM, Malyuchenko OP. Estimating the Gene Pool Condition in Natural Populations of Invertebrates in the Fragmented Landscape of Moscow and Moscow Region with Special Reference to Bush Snail *Bradybaena fruticum* Müll. *Russian Journal of Genetics.* 2005;41(11):1230-1244. (In Russ., Eng.)]
10. Falniowski A, Szarowska M, Witkowska-Pelc E. Intra- and interpopulation genetic differentiation and gene flow in a group of isolated populations of *Bradybaena fruticum* (Müller, 1774) in South Poland. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research.* 2004;42(1):70-80.
11. Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using CR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 1990;18(22):7213-7219. doi: 10.1093/nar/18.24.7213.
12. Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) — anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics.* 1994;20(2):176-181. doi: 10.1006/geno.1994.1151.
13. Снегин Э.А. Эколого-генетические аспекты расселения *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в элементах лесостепного ландшафта // Экология. — 2005. — № 1. — С. 39–47. (Snegin EA. Ecological and Genetic Characteristics of the Distribution of *Bradybaena fruticum* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) in a Forest-Steppe Landscape. *Russian Journal of Ecology.* 2005;36(1):33-40. (In Russ., Eng.)]
14. 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. [Snegin EA. 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* Müll. (Gastropoda, Pulmonata). *Russian J of Genetics: Applied Research.* 2011;1(5):379-389. (In Russ., Eng.)]. doi: 10.1134/S2079059711050133.
15. Снегин Э.А. Временная динамика частот полиморфных признаков раковины в популяциях *Bradybaena fruticum* Müll (Gastropoda, Pulmonata) на юге Среднерусской возвышенности // Научные ведомости БелГУ. — Серия «Естественные науки». — 2013. — № 10(153). — Вып. 20. — С. 87–91. [Snegin EA. Temporal dynamics of frequencies of polymorphic features of the shell in the populations of *Bradybaena fruticum* Müll (Gastropoda, Pulmonata) in the south of the Central Russian Upland. *Scientific Bulletins of BelSU. Ser. of Natural Sciences.* 2013;10(153)(20):87-91. (In Russ.)]
16. 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. [Snegin EA. Analysis of the genetic variability of populations of terrestrial mollusk *Bradybaena fruticum* Müll. Using RAPD and ISSR markers. *Scientific Bulletins of BelSU. Ser. Natural Sciences.* 2011;15(110)(16):37-43. (In Russ.)]
17. Baur B, Klemm M. Absence of isozyme variation in geographically isolated populations of the land snail *Chondrina clienta*. *Heredity.* 1989;63(2):239-244. doi: 10.1038/hdy.1989.97.
18. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. — М.: Наука, 1968. — 451 с. [Shmalgauzen II. Factors of evolution. The theory of stabilizing selection. Moscow: Science; 1968. 451 p. (In Russ.)]
19. Frankel OH, Soule ME. Conservation and Evolution. Cambridge: Cambridge University Press; 1981.
20. Nevo E. Genetic variation in natural population: patterns and theory. *Theor Pop Biol.* 1978;13:121-177. doi: 10.1016/0040-5809(78)90039-4.
21. Левонтин Р. Генетические основы эволюции. — М.: Мир, 1978. — 351 с. [Lewontin RC. The genetic basis of evolutionary change. New York: Columbia University Press; 1974. (In Russ., Eng.)]
22. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. — М.: Мир, 1968. — 398 с. [Mayr E. Animal species and evolution. London: Oxford University Press; 1965. 797 p. (In Russ., Engl.)]
23. Haikola S, Fortelius W, O'Hara RB, et al. Inbreeding depression and the maintenance of genetic load in *Melilotae cinxia* metapopulation. *Conservation Genetics.* 2001;2:325-335. doi: 10.1023/A:1012538329691.
24. Tomimatsu H, Ohara M. Effects of forest fragmentation on seed predation of the understory herb *Trillium*

- comschatcense. Conserv Biol.* 2002;16:1277-1285. doi: 10.1046/j.1523-1739.2002.00412.x.
25. Хански И. Ускользающий мир: Экологические последствия утраты местообитаний. — М.: Т-во научных изданий КМК, 2010. — 340 с. [Hanski I. The shrinking world: Ecological consequences of habitat loss. International Ecology Institute, Oldendorf/Luhe, Germany; 2005. 307 p. (In Russ., Engl.)]
26. Hanski I. Metapopulation dynamics. *Nature.* 1998;396:41-49. doi: 10.1038/23876.
27. Hanski I. Metapopulation Ecology. Oxford: Oxford University Press; 1999.
28. Heino M, Hanski I. Evolution of migration rate in a spatially realistic metapopulation model. *Am Nat.* 2001;157:495-511. doi: 10.1086/319927.
29. Струнников В.А. Возникновение компенсаторного комплекса генов одна из причин гетерозиса // Журнал общей биологии. — 1974. — Т. 35. — С. 666–677. [Strunnikov VA. The origin of the compensatory complex of genes is one of the causes of heterosis. *Zhurnal obshhej biologii.* 1974;35:666-677. (In Russ.)]
30. Ray C. Maintaining genetics diversity despite local extinctions: effects of population scale. *Biol Conserv.* 2001;100:3-14. doi: 10.1016/S0006-3207(00)00202-0.
31. Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution. *Mathematical Topics in Population Genetics.* Berlin: Springer Verlag; 1970. P. 1-31.
32. Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics.* 1992;131:479-491.
33. Peakall R, Smouse PE. GenA1Ex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes.* 2006;6:288-295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x.
34. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research.* 1967;27:209-220.
35. Diniz-Filho JAF, Soares TN, Lima JS, et al. Mantel test in population genetics. *Genetics and Molecular Biology.* 2013;36(4):475-485. doi.org/10.1590/S1415-47572013000400002
36. Nei M. Molecular population genetics and evolution. Amsterdam; 1975.
37. Yeh FC, Yang R, Boyle TJ, Ye Z, Xiyang JM. POPGENE32, Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, Version 1.32; Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta: Edmonton, Canada. 2000. http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html. (cited 12.04.2008).
38. Nei M, Li WH. Mathematical model for studying genetic variation in terms restriction endonucleases. *Proceedings the National Academy Sciences. USA.* 1979;76:5269-5273. doi: 10.1073/pnas.76.10.5269.
39. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution.* 1987;4(4):406-425.
40. Van de Peer Y, De Wachter Y. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. *Computer Applications in the Biosciences.* 1994;10(5):69-70. doi: 10.1093/bioinformatics/10.5.569
41. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. Ю.П. Алтухова. — М.: Наука, 2004. — 619 с. [The dynamics of population gene pools under anthropogenic influences. Ed by Yu.P. Altukhov. Moscow: Nauka; 2004. 619 p. (In Russ.)]
42. Снегин Э.А. Пространственные и временные аспекты эколого-генетической структуры популяций беспозвоночных животных (на примере наземных моллюсков и насекомых юга Среднерусской возвышенности): дис. ... д-ра биол. наук. — Белгород: НИУ БелГУ, 2012. — 394 с. [Snegin EA. Spatial and temporal aspects of the ecological and genetic structure of populations of invertebrates (for example, terrestrial mollusks and insects of Southern Central Russian Upland. [dissertation] Belgorod: BSU; 2012. 394 p. (In Russ.)]
43. Chao A, Species richness estimation. In: Balakrishnan N, Read CB, Vidakovic B, editors. *Encyclopaedia of Statistical Science.* New York: Wiley; 2005. P. 7907-7916.
44. Burnham KP, Overton WS. Estimation of the size of a closed population when capture probabilities vary among animals. *Biometrika.* 1978;65:625-633. doi: 10.1093/biomet/65.3.625
45. Chao A, Shen TJ. 2009. SPADE. <http://chao.stat.nthu.edu.tw>. (cited 12.03.2015).
46. Slatkin M. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution.* 1993;47(1):294-79. doi: 10.1111/j.1558-5646.1993.tb01215.x.
47. Wright S. The genetical structure of populations. *Ann Eugenics.* 1951;15:323-354. doi: 10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x.
48. Снегин Э.А. Временная динамика генетической структуры и эффективная численность популяций *Bradybaena fruticum* Müll. (Mollusca, Gastropoda, Pullmonata) в условиях юга Среднерусской возвышенности // Экология. — 2015. — № 3. — С. 198–205. doi: 10.7868/S0367059715020110. [Snegin EA. Temporal dynamics of the genetic structure and effective size of *Bradybaena fruticum* Müll. (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) populations in the south of the Central Russian Upland. *Russian Journal of Ecology.* 2015;46(3):260-266. (In Russ., Engl.).] doi: 10.1134/S1067413615020113.
49. Снегин Э.А. Анализ генетической изменчивости популяций наземного моллюска *Chondrula tridens* Müll. (Gastropoda, Pulmonata) с использованием RAPD- и ISSR-маркеров // Экологическая генети-

- ка. — 2013. — Т. XI. — № 3. — С. 37–47. [Snegin EA. Analysis of genetic variability in populations of a terrestrial snail *Chondrula tridens* Müll. (Gastropoda, Pulmonata), based on the *RAPD* and *ISSR* markers. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2014;4(5):444-454. (In Russ., Engl.). doi: 10.1134/S207905971405013X.
50. Снегин Э.А. Оценка состояния популяционных генофондов особо охраняемого вида *Helicopsis striata* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) на основе ДНК-маркеров // Экологическая генетика. — 2015. — Т. XIII. — № 3. — С. 28–39. [Snegin EA. Estimating the State of Population Gene Pools of the Specially Protected *Helicopsis striata* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) Species Based on DNA Markers. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2017;7(2):135-144. (In Russ., Engl.). doi: 10.1134/S2079059717020113.
51. Снегин Э.А., Снегина Е.А. Генетическая структура популяций особо охраняемого моллюска *Cerpea vindobonensis* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) в условиях северо-восточной части современного ареала // Экологическая генетика. — 2016. — Т. XIV. — № 3. — С. 13–27. [Snegin EA, Snegina EA. Genetic structure of the populations of the specially protected mollusk *Cerpea vindobonensis* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) in the north-eastern part of the present range. *Ecologicheskaja genetika*. 2016;14(3):13-27. (In Russ.). doi: 10.17816/ecogen14313-27.
52. Снегин Э.А., Артемчук О.Ю. Генетическая структура популяций *Helix pomatia* L. (Mollusca, Pulmonata) юго-восточной и восточной части ареала // Генетика. — 2017. — Т. 53. — № 3. — С. 334–344. doi: 10.7868/S0016675817030122. [Snegin EA, Artemchuk OYu. Population Genetic Structure of *Helix pomatia* L. (Mollusca, Pulmonata) from the Southeastern and Eastern Parts of the Range. *Russian Journal of Genetics*. 2017;53(3):348-357. (In Russ., Engl.). doi: 10.1134/S1022795417030127.

✿ Информация об авторах

Эдуард Анатольевич Снегин — д-р биол. наук, доцент, директор научно-исследовательского центра геномной селекции. ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». E-mail: snegin@bsu.edu.ru.

Елена Андреевна Снегина — научный сотрудник научно-исследовательского центра геномной селекции. ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». E-mail: snegina@bsu.edu.ru.

✿ Information about the authors

Eduard A. Snegin — Dr. Biol. Sci., the senior lecturer, the director of the research center of genomic selection. Belgorod national research university, Belgorod, Russia. E-mail: snegin@bsu.edu.ru.

Elena A. Snegina — Researcher of the research center of genomic selection. Belgorod national research university, Belgorod, Russia. E-mail: snegina@bsu.edu.ru.