

Анализ изменчивости морфогенетических признаков в популяциях *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) из Белгородской и Луганской областей

О.Ю. АРТЕМЧУК, Э.А. СНЕГИН

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, 308015, РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ. E-mail: artemchuk@bsu.edu.ru

РЕЗЮМЕ. В работе исследовано состояние трёх популяций адвентивного вида *H. pomatia* на основе конхиометрических, фенетических и генетических методов. Согласно полученным результатам, две вновь описанные популяции из Белгородской и Луганской областей отличаются оригинальностью, как по метрическим и морфологическим показателям, так и по частотам аллелей изоферментных локусов. Причиной такой оригинальности могут выступать генетико-автоматические процессы, естественный отбор на вновь освоенных территориях, а также хаотичная инвазия из различных точек, либо нативного ареала, либо из близлежащих биотопов.

[https://doi.org/10.35885/ruthenica.2022.32\(4\).2](https://doi.org/10.35885/ruthenica.2022.32(4).2)

The analysis of the variability of morphogenetic traits in the populations of *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) from Belgorod and Lugansk regions

O.Yu. ARTEMCHUK, E.A. SNEGIN

Belgorod State National Research University, Belgorod, 308015, RUSSIAN FEDERATION. E-mail: artemchuk@bsu.edu.ru

ABSTRACT. The state of three populations of the adventitious species *H. pomatia* was studied on the basis of conchiometric, phenetic and genetic methods. According to the obtained data, the two newly described populations from the Belgorod and Lugansk regions differ both in metric and morphological indicators, as well as in the frequencies of alleles of isoenzyme loci. The reason for such disparity may be genetic-automatic processes, natural selection in newly developed territories, as well as chaotic invasion from various localities, either from native range, or from nearby biotopes.

Введение

Виноградная улитка *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) – наземный брюхоногий моллюск, изучение которого важно в контексте исследований фауны регионов. Для большинства из них появление этого вида имеет характер антропогенной инвазии. Улитка, исходный ареал которой приходится на Центральную Европу [Shileyko, 1978], активно

расширяет границы своего ареала, продвигаясь на север и восток Европейского континента [Shikov, 2007]. Например, даже в пределах Белгородской области прослеживается определенная тенденция к расселению виноградной улитки. Так, в первом издании Красной книги [Red Data Book of the Belgorod Region, 2004] Белгородской области указаны две географические точки, в которых встречается *H. pomatia*, а во втором издании таких точек задокументировано уже пять [Red Data Book of the Belgorod Region, 2019]. По собственным неопубликованным данным, по состоянию на 2021 год таких колоний только в пределах города Белгород и его окрестностей насчитывалось более десяти. В настоящее время сложно провести четкую восточную границу ареала данного вида. Ориентировочно она проходит в районе Поволжья [Sachkova, 2006]. Поступают также новые сведения о находках данного вида в Мордовии [Lobachev *et al.*, 2015] и Ульяновской области [Artem'yeva, Semenov, 2004].

На Рис. 1 изображена карта, иллюстрирующая современные представления об экспансии виноградной улитки в европейской части РФ [Egorov, 2015]. При этом Белгородскую область можно условно принять за границу естественного ареала *H. pomatia*, поскольку здесь на территории в Валуйском районе обитает натурализовавшаяся популяция, известная как минимум с начала XX века [Velichkovsky, 1910]. На сопредельных территориях, где вид считается не редким, он обычно



РИС. 1. Карта интродукции *H. pomatia* [Egorov, 2015].

FIG. 1. Introduction map of *H. pomatia* [Egorov, 2015].

встречается в антропогенных ландшафтах. При этом, исследователи считают целесообразным охрану некоторых его популяций [Balashov, 2016]. В данном случае затронут важный аспект охраны локальных популяций, который диктует необходимость ведения региональных Красных книг. Такими изданиями, в которые внесены известные в регионах популяции виноградной улитки, являются Красная книга Белгородской области [Red Data Book of the Belgorod Region, 2019] и Красная книга Воронежской области [Red Data Book of the Voronezh Region, 2011], в которых отмечено, что на протяжении долгого времени численность и тенденции её изменений для *H. pomatia* неизвестны.

Особенно важным для сохранения вида является охрана его краевых популяций, находящихся на границе нативного ареала, поскольку такие периферийные группы, генетически разобщены, уязвимы и испытывают воздействие иных векторов отбора, чем в ядре ареала, т.к. пограничные микросреды отличны от микросред внутренней части ареала, и характеризуются большими колебаниями уровней освещенности, температуры, влажности и скорости ветра [Primak, 2002]. Такие краевые популяции потенциально могут быть «горячими точками», в которых изменяется селективная ценность многих генов, порой на

противоположное значение. В этом заключается представление об «эффекте основателя» и «генетических революциях» [Maug, 1954; Maug, 1968]. Итогом действия перечисленных факторов может стать гомозиготизация аллелофонда таких периферийных популяций и, как следствие, более бедный генофонд и фенофонд по сравнению с группами из ядра ареала. Но, появление иных генов и их комбинаций в периферийных группах создает предпосылки для дальнейших эволюционных адаптаций вида.

Еще один важный аспект изучения *H. pomatia* заключается в том, что данный вид активно используется в качестве биоиндикатора степени антропогенной нагрузки на окружающую среду [Damshel' et al., 2008], что делает его удобным объектом биомониторинга состояния экосистем. Например, с использованием ювенильных особей *H. pomatia* проводят оценку степени загрязнения почвенных систем ионами тяжелых металлов, полициклическими ароматическими углеводородами и иными поллютантами [Malygina et al., 2015].

Цель данной работы – изучить морфогенетическую структуру ранее известных и недавно обнаруженных локальных популяций *H. pomatia* L. в Белгородской и Луганской областях для оценки их состояния и уровня жизнеспособности с точки зрения дальнейшего выживания и расселения на смежные территории.

Материалы и методы

Сбор моллюсков осуществляли в трех пунктах (в двух из них *H. pomatia* найдена впервые – это хутор Ржавец и г. Кадиевка) (Рис. 2 А-С):

1. Город Кадиевка, Луганская область: 48.575227°N, 38.660903°E. Особи обитают в условиях урбанизированного ландшафта. Данная популяция, имеет, по-видимому, антропохорное происхождение, что в современных условиях встречается довольно часто [Balashov, 2016]. По свидетельству местного жителя, группа была основана примерно 10-15 особями, привезенными им на это место 14-15 лет назад с берега реки Лозовая (пос. Ломоватка). Животные занимают тенистый биотоп в черте города, в зарослях культурного винограда, произрастававшего около гаражных построек. Также встречается хмель обыкновенный *Humulus lupulus* Linnaeus, 1753, чистотел большой *Chelidonium majus* Linnaeus, 1753, пырей ползучий *Elytrigia repens* ((L.) Desv. ex Nevski, 1933) и лебеда раскидистая *Atriplex patula* Linnaeus, 1753.

2. Село Хотмыжск, Борисовский район, Белгородская область: 50.588768°N, 35.875597°E. Улитки в этой местности известны на протяжении более 10 лет [Snegin, Artemchuk, 2014]. В биотопе присутствовали робиния *Robinia pseudoacacia*

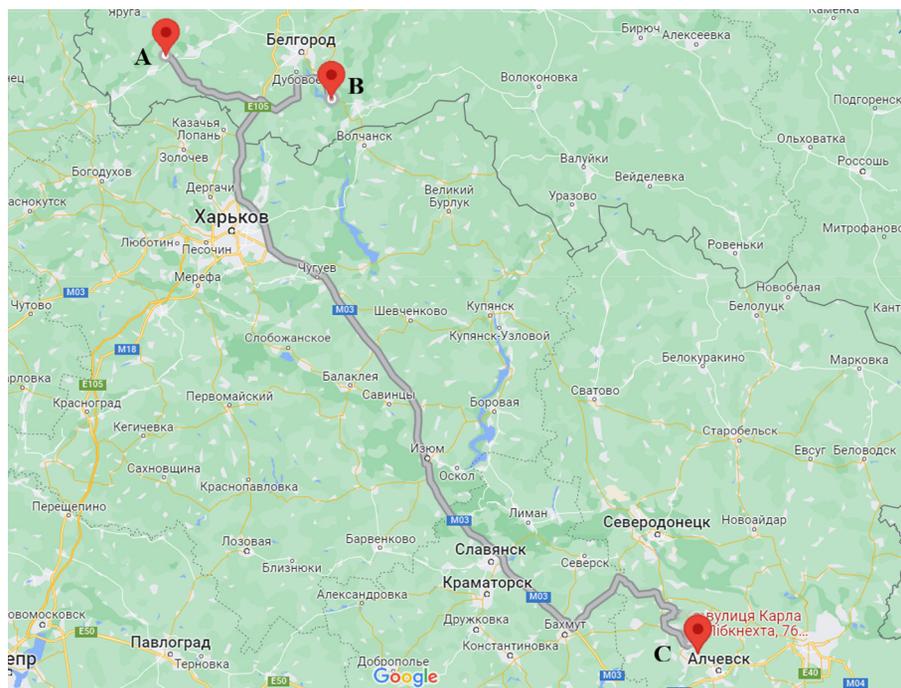


РИС. 2. Пункты сбора *H. pomatia*: А. Хотмыжск; В. Ржавец; С. Кадиевка.

FIG. 2. Collecting sites of *H. pomatia*: А. Hotmyzhsk; В. Rzhavets; С. Kadievka.

Linnaeus, 1753, крапива двудомная *Urtica dioica* Linnaeus, 1753, подмаренник цепкий *Galium aparine* Linnaeus, 1753, зверобой продырявленный *Hypericum perforatum* Linnaeus, 1753, чистотел большой *Chelidonium majus* Linnaeus, 1753, сныть обыкновенная *Aegopodium podagraria* Linnaeus, 1753 и лопух *Arctium lappa* Linnaeus, 1753.

3. Хутор Ржавец, Шебекинский район, Белгородская область, 50.442474°N, 36.761836°E. Улитки регистрируются местными жителями на протяжении 15 лет. На участке произрастают дуб черешчатый *Quercus robur* Linnaeus, 1753, крапива двудомная *U. dioica*, пырей ползучий *Elytrigia repens* Linnaeus, 1753, тополь обыкновенный *Populus nigra* Linnaeus, 1753.

Фенетический анализ проводили на основании изучения комбинаций продольных коричневых лент, встречающихся на раковинах данного вида с использованием методики, применяемой и для видов рода *Helix* [Kramarenko, Kramarenko, 2009; Snegin *et al.*, 2014]. Ленты нумеровали с 1 по 5 по направлению от вершины раковины к пупку. Наличие ленты обозначали соответствующей цифрой, отсутствие ленты обозначали числом 0, слитые между собой ленты обозначали их номерами, взятыми в круглые скобки. В рамках фенетического анализа оценивалась внутри- и межпопуляционная изменчивость, частота каждой морфы в популяции, вычислено среднее число морф (μ), частота редких морф (h), и показатель сходства популяций по фенетическим признакам (r) [Zhivotovskiy, 1979, 1991]:

$$r = \sum_{i=1}^m \sqrt{p_i q_i}$$

$$\mu = (\sqrt{q_1} + \sqrt{q_2} + \dots + \sqrt{q_m})^2,$$

$$S_m = \sqrt{\mu(m - \mu) / N}$$

$$h = 1 - (\mu / m), S_h = \sqrt{h_\mu(1 - h_\mu) / N},$$

где p и q – частота i -морфы в сравниваемых популяциях, S_m , S_h – ошибки соответствующих показателей μ и h ; q_1 , q_2 , q_m – частоты соответствующих морф (m), N – объем выборки. Всего анализу подвергли 92 экземпляра, среди которых отмечено 7 вариантов комбинаций полос (Рис. 3).

Для морфометрического анализа использовали только раковины половозрелых особей, образовавших отворот устья (Рис. 4). Измерения проводили по стандартной схеме [Artem'yeva, Semenov, 2004]. Измеряли ширину раковины (БДР), высоту раковины (ВР), высоту устья (ВУ), ширину устья (ШУ), высоту завитка (ВЗ), ширину завитка (ШЗ). На основании полученных промеров рассчитывали площадь устья ($S = (\pi \times ВУ \times ШУ) / 4$) и объем раковины ($V = (БДР^2 \times ВР) / 2$), а также индексы ВР/БДР, ВУ/ШУ, ВЗ/ВР, ВЗ/ШЗ и V/S .

Генетический анализ популяций осуществляли с помощью электрофореза изоферментных локусов в полиакриамидном геле (ПААГ). Для экстракции ферментов отщипывали небольшой фрагмент ноги, чтобы избежать гибели животного. Образцы подвергались заморозке при -80°C с последующим оттаиванием. Электрофорез проводили в камере Helicon VE-20. Фракционное разделение всех ферментов (неспецифические эстеразы, супероксиддисмутаза, малатдегидрогеназа) проводили в 10% ПААГ. Буфер для геля

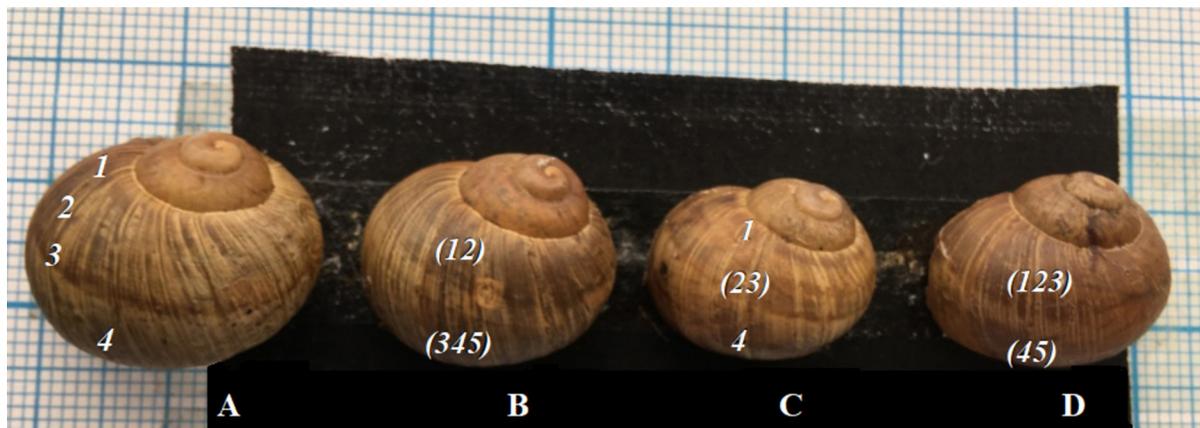


РИС. 3. Некоторые фенотипические варианты *H. pomatia*: А. 12345; В. (12)(345); С. 1(23)45; D. (123)(45). Пятая лента на экземплярах 1 и 3 не обозначена, поскольку не видна по причине ракурса.

FIG. 3. Some phenotypic variants of *H. pomatia*: А. 12345; В. (12)(345); С. 1(23)45; D. (123)(45). The fifth band on copies 1 and 3 is not marked, because it is not visible due to the angle.

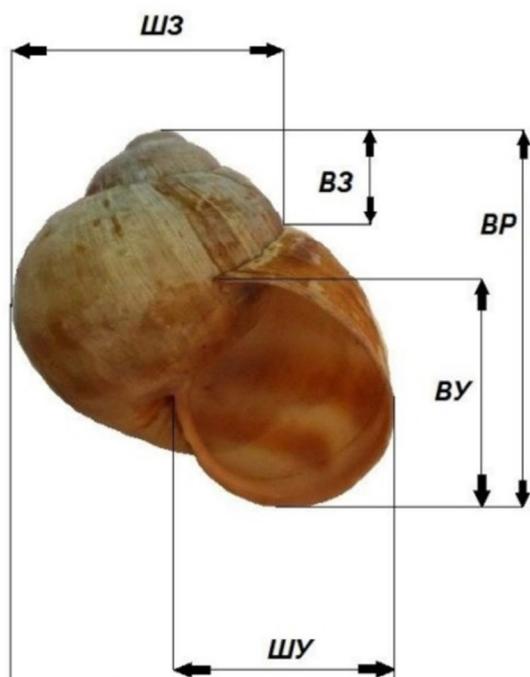


РИС. 4. Схема промеров раковины *H. pomatia*.

FIG. 4. Scheme of shell measurements *H. pomatia*.

Трис-НСI имел следующий рН: концентрирующий гель рН 6.7, разделяющий гель рН 8.9; электродный трис-глициновый буфер имел рН 8.3. Выявление неспецифических эстераз проводили в буферном растворе Трис-НСI рН=7.4 в присутствии α -нафтилацетата и прочного красного TR (Рис. 5А). Для выявления локусов супероксиддисмутазы использовали калий-фосфатный буфер (рН=7.8). В состав красящей смеси входили НТС, ФМС, $MgCl_2$ (Рис. 5С). Для выявления малатдегидрогеназы использовали Трис-НСI буфер (рН=8.4), в состав смеси входили: малат натрия, НАД, НТС, ФМС (Рис. 5В).

Статистическая обработка данных включала в

себя ряд показателей. Оценку меры генетической дифференциации между популяциями (Φ_{st}), как по окрасочным признакам раковины, так и по изоферментным маркерам проводили на основе анализа молекулярной дисперсии (АМОВА) в программе GenAlEx v.6.5 [Peakall, Smouse, 2006]. При этом данные по окрасочным признакам вносились в программу в виде бинарной матрицы.

$$\Phi_{st} = V_{AP} / (V_{AP} + V_{WP}),$$

где Φ_{st} – мера генетической дифференциации между популяциями, где в свою очередь V_{AP} – молекулярная дисперсия между популяциями, V_{WP} – молекулярная дисперсия внутри популяций.

На основе индекса Φ_{st} при проведении анализа молекулярной изменчивости (АМОВА) оценивалась интенсивность потока генов (N_m):

$$N_m = 1/4 \cdot [(1/\Phi_{st}) - 1],$$

Также вычисляли такие показатели, как N_a – среднее число аллелей, N_e – эффективное число аллелей,

$$N_e = 1 / (1 - H_e),$$

где H_e – ожидаемая гетерозиготность;

H_0 – наблюдаемая гетерозиготность рассчитана по формуле:

$$H_0 = \frac{1}{L} \cdot \frac{\sum_{i=1}^L n_i}{N_i}$$

где L – число изученных локусов, n_i – число гетерозиготных особей по i -му аллелю;

F – индекс фиксации (Fixation index, коэффициент инбридинга) вычисляли по формуле:

$$F = H_0 / H_e$$

I – индекс Шеннона-Уивера вычисляли по формуле:

$$I = \sum p_i \ln p_i,$$

где p_i – частота i -аллеля.

Результаты

Частоты фенотипов и показатели фенотического разнообразия представлены в Табл. 1-2. Согласно полученным данным в популяциях на территории Белгородской области преобладают фенотипы 12345 и 1(23)45, в популяции из Луганской области – (123)45 и (123)(45), что нашло свое отражение в показателях фенотипического сходства. Группы из Белгородской области больше дистанцировались от группы из Луганской области, чем между собой. Наиболее мономорфной оказалась популяция из пос. Хотмыжск, хотя это может быть обусловлено небольшим количеством проанализированных особей. При сравнении анализируемых групп с ранее изученными нами популяциями, оказалось, что среднее число морф в популяциях из пунктов Кадиевка и Ржавец достоверно ($p < 0.05$) выше, чем во всех известных нам группах (Табл. 4.). Обращает на себя внимание и тот факт, по ранее полученным материалам из пункта Хотмыжск ($N=35$), оценка μ составляла $3,122 \pm 0,588$ [Artemchuk, Snegin, 2018], что также достоверно уступает разнообразию во вновь описанных группах. При этом, достоверных отличий по уровню фенотипического разнообразия между группами из пос. Хотмыжск, собранных в разные годы не установлено ($\chi^2=0,533$, $p > 0,05$).

Результаты анализа дисперсии окрасочных признаков раковины между тремя изученными группами, показал, что индекс подразделенности популяций Φ_{st} составил 0,348, что так же свидетельствует о достоверных ($p < 0.05$) отличиях между ними. При этом на долю межпопуляционной дисперсии пришлось 35% изменчивости (Табл. 3.).

Результаты конхиометрического анализа представлены в Табл. 5. Наибольшие абсолютные показатели морфометрических признаков раковины зафиксированы в популяции «Ржавец» (Белгородская область) (сопоставление велось с помощью

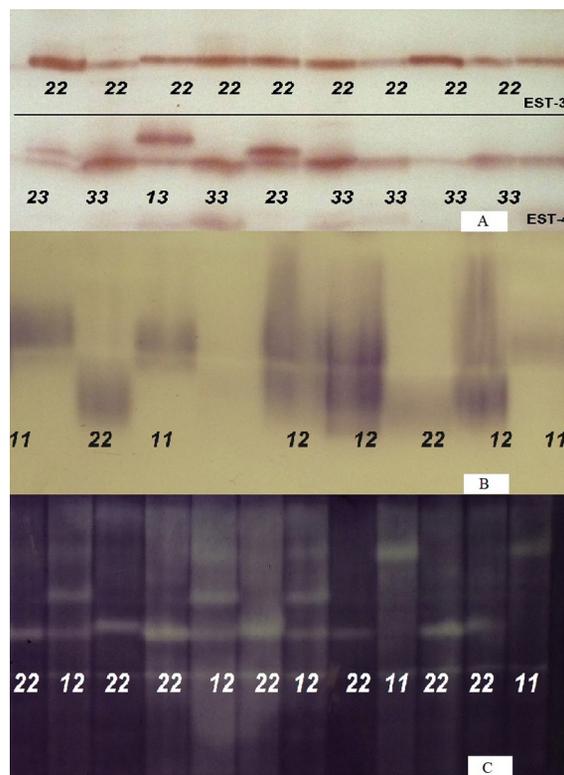


РИС. 5. Участок электрофореграммы с изображением некоторых аллельных вариантов. А. Локусы EST-3 и EST-4. В. Локус MDH-1. С. Локус SOD-1.

FIG. 5. Section of an electropherogram showing some allelic variants. A. Loci of the EST-3 and EST-4. B. Locus of the MDH-1. C. Locus of the SOD-1.

Табл. 2. Показатели фенетического сходства популяций (r) по Животовскому [1979].

Table 2. Indicators of phenetic similarity of populations (r) after Zhivotovsky [1979].

Пункты	1. Кадиевка (Стаханов)	2. Хотмыжск	3. Ржавец
1. Кадиевка	-		
2. Хотмыжск	0,634	-	
3. Ржавец	0,494	0,830	-

Табл. 1. Показатели фенетического разнообразия популяций по Животовскому [1979].

Table 1. Indicators of phenetic diversity of populations according to Zhivotovsky [1979].

Пункт	Фенотип							$\mu \pm S\mu$	$h \pm Sh$	N
	12345	1(23)45	(123)45	10345	0(23)45	(12)340	(123)(45)			
1.Кадиевка	0,089	0,179	0,339	0	0,018	0	0,375	4,202±0,458	0,160±0,050	56
2.Хотмыжск	0,571	0,357	0,071	0	0	0	0	2,627±0,453	0,124±0,089	14
3.Ржавец	0,318	0,455	0	0,091	0,091	0,046	0	4,221±0,458	0,156±0,077	22

Примечание: μ - среднее число морф, h - частота редких морф $S\mu$ – ошибка среднего числа морф, Sh – ошибка частоты редких морф, N -объём выборки. Полужирным шрифтом выделены наибольшие частоты фенотипов.

Табл. 3. Результаты анализа дисперсии окрасочных признаков раковины *H. pomatia*.Table 3. The results of analysis of the dispersion of the color characteristics of the shell of *H. pomatia*.

Источник изменчивости	Сумма квадратов (SS)	Число степеней свободы (df)	Средний квадрат (MS)	Дисперсия (V)	%	Индекс подразделенности популяций (Φst)	P
Между популяциями	36,387	2	18,198	0,671	35	0,348	0,010
Внутри популяций	111,842	89	1,257	1,257	65		
Итого	148,239	91		1,927	100		

Табл. 4. Показатели фенетического разнообразия популяций по Животовскому [1979] в ранее изученных нами популяциях *H. pomatia* [Artemchuk, Snegin, 2018].Table 4. The indicators after Zhivotovsky [1979] of phenetic diversity of populations in previously studied colonies of *H. pomatia* [Artemchuk, Snegin, 2018].

Показатели	Пункты												
	р. Донец (г. Белгород)	Мордовия	Тверь	Курск	Яблоново (Белгородская обл.)	Киев	Харьков	р. Везёлка (г. Белгород)	Шопино (Белгородская обл.)	Быково (Московская обл.)	Майский (Белгородская обл.)	Хотмыжск (Белгородская обл.)	Житомир
N	50	11	7	31	35	45	71	111	34	21	68	35	38
12345	0,220	0,000	0,286	0,226	0,200	0,222	0,085	0,315	0,059	0,095	0,191	0,229	0,132
1(23)45	0,660	0,818	0,428	0,774	0,800	0,689	0,831	0,676	0,833	0,857	0,809	0,657	0,842
10345	0,120	0,000	0,000	0	0	0	0,014	0	0	0	0	0,057	0
(123)45	0	0,091	0,286	0	0	0	0,070	0	0	0,048	0,000	0,057	0,026
1(234)5	0,000	0,091	0,000	0	0	0,044	0	0	0,083	0	0	0	0
0(23)45	0	0	0	0	0	0,022	0	0	0	0	0	0	0
2345	0	0	0	0	0	0,022	0	0,009	0	0	0	0	0
(12)340	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(123)(45)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
$\mu \pm S\mu$	2,650 $\pm 0,136$	2,273 $\pm 0,388$	2,971 $\pm 0,111$	1,836 $\pm 0,089$	1,800 $\pm 0,101$	3,277 $\pm 0,354$	2,516 $\pm 0,229$	2,186 $\pm 0,127$	2,085 $\pm 0,237$	2,110 $\pm 0,299$	1,786 $\pm 0,075$	3,122 $\pm 0,280$	2,081 $\pm 0,224$
$h \pm Sh$	0,117 $\pm 0,045$	0,242 $\pm 0,129$	0,010 $\pm 0,037$	0,082 $\pm 0,049$	0,100 $\pm 0,051$	0,345 $\pm 0,071$	0,371 $\pm 0,057$	0,271 $\pm 0,042$	0,305 $\pm 0,079$	0,297 $\pm 0,100$	0,107 $\pm 0,037$	0,220 $\pm 0,070$	0,306 $\pm 0,075$

Примечание: обозначения те же, что и в таблице 1.

критерия Краскела-Уоллиса, $p=1,315 \times 10^{-5}$). Кроме того, в выборке из Луганской области отмечен наибольший индекс ВР/БДР (выборки достоверно различаются между собой по критерию Краскела-Уоллиса, $p < 0.05$, попарное сравнение выборок по критерию Манна-Уитни также показало достоверное отличие выборки из Кадиевки, $p < 0.05$), что свидетельствует о том, что в данной

популяции преобладают особи с более вытянутыми раковинами.

Результаты генетического анализа на основе локусов изоферментов представлены в Табл. 6–8. Во всех трёх популяциях локус EST3 оказался мономорфным по второму аллелю. При этом, по другим локусам наибольшее генетическое разнообразие зафиксировано в популяции из

Табл. 5. Результаты конхиометрического анализа популяций *H. pomatia* (мм, М ±m).Table 5. The results of conchiometric analysis of the *H. pomatia* populations (mm, M ±m).

Пункты	N	ВР	БДР	ВУ	ШУ	ВЗ	ШЗ	ВЗ/ШЗ	ВЗ/ВР	ВР/БДР	ВУ/ШУ	V	S	V/S
1	30	35,8 ±0,17	34,2 ±0,62	26,7 ±0,22	22,6 ±0,43	11,9 ±0,31	27,5 ±0,13	0,434 ±0,013	0,332 ±0,185	1,053 ±0,014	1,185 ±0,013	21122,4 ±858,4	476,72 ±12,85	44,06 ±0,61
2.	14	32,8 ±0,70	34,95 ±0,81	26,05 ±0,39	22,0 ±0,76	10,2 ±0,68	28,2 ±0,85	0,358 ±0,013	0,310 ±0,973	0,940 ±0,002	1,189 ±0,023	20278,1 ±1361,6	451,5 ±22,3	44,62 ±0,81
3.	22	40,5 ±0,23	40,95 ±0,29	28,5 ±0,36	25,5 ±0,72	13,05 ±0,04	30,15 ±0,07	0,433 ±0,003	0,322 ±0,200	0,990 ±0,001	1,123 ±0,018	34046,7 ±665,3	572,7 ±23,4	60,02 ±1,29

пос. Хотмыжск. В этой же группе отмечено и наибольшее значение коэффициента инбридинга.

Результаты анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) (Табл. 8) демонстрируют значительную генетическую дифференциацию между изученными группами. Уровень потока генов (N_m) оказался 0,228 особи за поколение. При этом 52% изменчивости пришлось на долю межпопуляционной дисперсии и 48% на внутривидовую дисперсию различия.

Обсуждение

Во вновь описанных группах (из х. Ржавец и г. Кадиевка) зафиксирован наибольший индекс фенотипического разнообразия. При этом у особей из г. Кадиевка преобладающим фенотипом оказался (123)(45), который редко встречается на территории Среднерусской возвышенности. Данный факт свидетельствует о генетической оригинальности этой популяции, что, вероятно, является следствием либо эффекта основателя, либо результатом инвазии из других регионов, не связанной с ранее описанными популяциями.

Об этом же свидетельствуют конхиометрические показатели. Известно, что вариации размера раковины зачастую определяются особенностями популяционных генофондов, и наследуемость межпопуляционной изменчивости размеров раковины у наземных моллюсков может составлять 50–70% [Goodfriend, 1986]. Более вытянутые

Табл. 6. Частоты аллелей и уровни гетерозиготности локусов в популяциях *H. pomatia*.Table 6. Allele frequencies and loci heterozygosity levels in populations of *H. pomatia*.

	1.Кадиевка	2.Хотмыжск	3.Ржавец
SOD1-1	0,321	0,464	0,705
SOD1-2	0,679	0,536	0,295
Ho	0,393	0,929	0,591
He	0,436	0,497	0,416
F	0,099	0,476	-0,419
MDH1-1	0,098	0,643	0,727
MDH1-2	0,902	0,357	0,273
Ho	0,161	0,286	0,273
He	0,177	0,459	0,208
F	0,093	0,378	-0,867
EST4-1	0,063	0,071	0,045
EST4-2	0,188	0,250	0,068
EST4-3	0,750	0,679	0,886
Ho	0,393	0,643	0,227
He	0,398	0,472	0,208
F	0,014	-0,362	-0,095
EST3-2	1,000	1,000	1,000

Примечание: *He* – ожидаемая гетерозиготность; *Ho* – наблюдаемая гетерозиготность; *F* – индекс фиксации (коэффициент инбридинга)

раковины в популяции из г. Кадиевка, которой около 15 лет, могут быть следствием наследия от родительской популяции, генофонд которой сформировался в иной климатической зоне. Од-

Табл. 7. Показатели генетической изменчивости и значения эффективной численности в изучаемых популяциях *H. pomatia*.Table 7. Indicators of genetic variability and values of effective abundance in the studied populations of *H. pomatia*.

Пункты	N	Na	Ne	I	Ho	He	F
Кадиевка	56	2,000±0,408	1,413±0,183	0,413±0,161	0,237±0,096	0,253±0,102	0,069±0,024
Хотмыжск	14	2,000±0,408	1,683±0,230	0,535±0,181	0,464±0,203	0,357±0,119	0,284±0,313
Ржавец	22	2,000±0,408	1,408±0,169	0,406±0,141	0,273±0,122	0,255±0,097	0,067±0,183

Примечание: *N* – объем выборки, *Na* – среднее число аллелей, *Ne* – эффективное число аллелей, *I* – индекс Шеннона, *He* – средняя ожидаемая гетерозиготность; *Ho* – средняя наблюдаемая гетерозиготность; *F* – индекс фиксации (коэффициент инбридинга).

Табл. 8. Результаты анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) популяций *H. pomatia* на основе изоферментных маркеров.
Table 8. The molecular dispersion analysis (AMOVA) results of the *H. pomatia* populations based on the isozyme markers.

	df	SS	MS	дисперсия	%	Φ_{st}	P	Nm (поток генов между популяциями)
Между популяциями	2	42,291	21,146	1,173	52%	0,523	0,010	0,228
Внутри популяций	89	95,231	1,070	1,070	48%			
Итого	91	137,522		2,243	100%			

нако, учитывая тот факт, что Луганская область относится к засушливой степной зоне, более плотный грунт мог способствовать отбору особей с более вытянутой формой раковины. Известно, что повышение ксеротермности влияет на тенденцию увеличения в популяциях доли особей с более высокой раковиной [Gural-Sverlova, 2008; Snegin, Artemchuk, 2014].

Однако, определенные отклонения в строении раковины могут быть вызваны болезнью или травмами, в особенности инвазией паразита. В результате жизнедеятельности паразита и не вполне сформировавшейся раковины улитки дальнейший ее рост часто нарушается. Это может изменить форму раковины, сделать ее менее правильной, а скульптуру – более резкой [Balashov, 2016].

Наибольшее влияние на метрические характеристики раковины наземных моллюсков оказывают температурный режим и влажность. Остальные климатические условия либо влияют на раковины слабее, либо сказываются не прямо, а через изменения влажности и температуры [Likharev, Rammelmeyer, 1952]. Есть мнение некоторых авторов [Khilus *et al.*, 2001], что в условиях урбанизированных ландшафтов размеры *H. pomatia* уменьшаются. В нашем случае абсолютные средние значения размеров раковины оказались ниже в популяциях из г. Кадиевка, где улитки обитают в черте города, в частном секторе, около гаражных построек, и в популяции из пос. Хотмыжск, где наблюдается усиленная рекреационная нагрузка. Особи, обитающие на открытом пространстве в менее измененном биотопе возле пос. Ржавец, имеют более крупные размеры.

Также более крупные улитки, как правило, связаны с более влажными условиями. Выявлено, что с ростом влажности наблюдается тенденция к набору веса виноградными улитками, вне зависимости от используемого ими рациона [Tkachenko *et al.*, 2018]. Стоит отметить, что биотоп возле х. Ржавец находится рядом с Белгородским водохранилищем, что вероятно также могло сказаться на размерах, обитающих там особей *H. pomatia*.

В некоторых работах, посвященных феногеографическому анализу, показано, что в направлении расширения ареала вида (Запад — Северо-Восток и Запад — Восток) наблюдается тенденция к увеличению размерных характеристик раковины *H. pomatia* [Molodoy, 2004]. Однако, учитывая данные наших предыдущих исследований [Snegin, Artemchuk, 2014] и результаты данной работы такой тенденции нами не отмечено.

Генетический анализ на основе локусов изоферментов демонстрирует, как уже было сказано, большую оригинальность изученных групп. Например, наибольшая частота по локусу SOD1-1 (0,705) отмечена в популяции Ржавец, по локусу MDH1-2 наибольшая частота (0,902) зарегистрирована в популяции из г. Кадиевка, а по эстеразному локусу EST4-3 наибольшая частота 0,886 наблюдается в х. Ржавец. Полная мономорфность во всех популяциях наблюдается только по аллелю EST3-2.

Возможно, такая оригинальность является следствием дрейфа генов из-за низкой численности и эффекта основателя. Кроме того, столь значительные генетические различия свидетельствуют в пользу хаотичного заселения новых территорий на основе инвазии из разных регионов нативного ареала или из вновь освоенных биотопов. Вместе с тем, стоит отметить, что в природных популяциях отбором сохраняются те животные, у которых имеются различия в устойчивости и активности изоферментов в пределах адаптивной нормы реакции, так как именно они будут увеличивать шансы приспособления вида к постоянно меняющимся условиям среды. Аллели, детерминирующие наличие белков с вариациями активности в зависимости от интенсивности того или иного фактора, дополняют друг друга, тем самым, расширяя норму реакции и у активно расселяющихся видов, к которым относится *H. pomatia*, позволяют им успешно осваивать новые местообитания, включая урбанизированные территории [Gederaas *et al.*, 2012, Järvinen *et al.*, 1976].

Литература

- Artemchuk O.Yu. 2017. Conchological features of the populations of the Roman snail (*Helix pomatia* L.) in the southeast of its modern range. *Evolutionary and ecological aspects of the study of living matter: Proceedings of the I All-Russian Scientific Conference. 8–9 February. Cherepovets: Cherepovetskii gosudarstvennyi universitet*, 28–38 [In Russian].
- Artemchuk O.Yu., Snegin E.A. 2018. The analysis of the population structure of the adventive species *Helix pomatia* (Mollusca, Pulmonata) on the basis of the shell phenetic features. *Problemy regionalnoi ekologii*, No. 3: 44–47 [In Russian].
- Artem'yeva E.A., Semenov D.Yu. 2004. Roman snail *Helix pomatia* L. (Mollusca: Gastropoda: Helicidae) is a reacclimatized species of the malacofauna of the Ulyanovsk region. *Priroda Simbirskogo Povolzhia*, 5: 60–62 [In Russian].
- Balashov I. 2016. *Conservation of terrestrial molluscs in Ukraine*. Kiev: Institute of Zoology NAS Ukraine, 272 p. [In Russian].
- Balashov I.A. 2016 *Fauna of Ukraine. Mollusks. Stylommatophora*, 29(5). Kyiv: Naukova dumka, 600 p. [In Russian].
- Cain A.J., Sheppard P.M. 1950. Selection in the polymorphic land snail *Cepaea nemoralis*. *Heredity*, 4(3): 275–294.
- Damshel' A.V., Kurilo O.I., Karevsky A.E. 2008. Biochemical level of indication of pollution of terrestrial ecosystems using Roman snail. *Actual problems of ecology: materials of the IV International scientific and practical conference, 29–31 October 2008. Grodno, Yanka Kupala Grodno State University*: 217–221 [In Russian].
- Egorov R. 2015: *Helix pomatia* Linnaeus, 1758: the history of its introduction and recent distribution in European Russia. *Malacologica Bohemoslovaca*, 14: 91–101.
- Gederaas L., Moen T.L., Skjelseth S., Larsen L.–K. 2012. *Alien species in Norway – with the Norwegian Black List 2012*. Norway: The Norwegian Biodiversity Information Centre, 213 pp.
- Goodfriend G.A. 1986. Variation in land–snail shell form, size, and its causes: a review. *Systematic Biology*, 35(2): 204–223.
- Gural-Sverlova N. 2008. Variability of the conchological parameters of *Helix pomatia* in the urban environment on the example of Lviv. *Materials of the X International Scientific and Practical Conference Living objects in the conditions of anthropogenic press. September 15–18*. Belgorod: 193–194 [In Russian].
- Järvinen O., Sisula H., Varvio–Aho S.–L., Salminen P. 1976. Genetic variation in isolated marginal populations of the Roman Snail, *Helix pomatia* L. *Hereditas*, 82(1): 101–109.
- Khlus, L.M., Khlus K.M., Gritsyuk S.V. 2001. Variability of conchological features of *Helix pomatia* L. in connection with the level of anthropogenic load. *Naukovij visnik Uzhgorods'kogo nacional'nogo universitetu. Seriya: Biologiya*, 10: 90–93 [In Ukrainian].
- Kramarenko S.S., Kramarenko A.S. 2009. Spatial-temporal variability of the phenetic structure of the metapopulation of the terrestrial mollusk *Helix albens* Rossmassler, 1839 (Gastropoda: Pulmonata: Helicidae). *Scientific Bulletins of the BelSU. Series: Natural Sciences*, 11(66): 55–61 [In Russian].
- Likharev I.M., Rammelmeier E.S., 1952. Land mollusks of the fauna of the USSR. *Opredeliteli po faune SSSR*, 43. Moscow-Leningrad: Publishing house of the Academy of Sciences of the USSR: 1–512 pp. [In Russian].
- Lobachev E.A., Lobacheva E.V., Petrova E.S., Zyuzina A.V. 2015. Roman snail *Helix pomatia* L. is a non-native species in Mordovia. *Mordovia University Bulletin*, 25(2): 139–151 [In Russian].
- Malygina N.M., Lyanguzov A.Yu., Petrova T.A. 2015 Terrestrial pulmonate molluscs as bioindicators of environmental pollution. Biochemical aspect. *Rational use of natural resources and problems of biodiversity conservation. Materials of the X Annual Youth Ecological School-Conference in the estate «Sergievka». 26–27 November 2015*. St. Petersburg: 50–54 [In Russian].
- Mayr E. 1954. Change of genetic environment and evolution. In: Huxley J., Hardy A., Ford E. (Eds). *Evolution as a process*. London: Allen and Unwin, 157–180.
- Mayr E. 1965. *Animal species and evolution*. London: Oxford University Press, 797 p.
- Mayr E. 1968. Theory of biological classification. *Nature*, 220(5167): 545–548.
- Molodoy E.G. 2011. Conchiometric variability of *Helix pomatia* L. (Gastropoda, Pulmonata, Helicidae) in the Bug-Polesye region. *Biomonitoring of the state of the natural environment of Polesye (Belarus – Ukraine – Russia): materials of the international scientific and practical conference. November 10–11*. Brest: 35–38 [In Russian].
- Peakall R., Smouse P. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288–295.
- Primack R.B. 2002. *Essentials of Conservation Biology*. Moscow: House of the scientific and educational center publishing, 256 p. [In Russian].
- Red Data Book of the Belgorod Region. Rare and endangered plants, fungi, lichens and animals. Belgorod: Belgorod State University, 1-d official edition. 2004. 532 p. [In Russian]
- Red Data Book of the Belgorod Region. Rare and endangered plants, fungi, lichens and animals. Belgorod: Belgorod State University, 2-d official edition. 2019. 668 p. [In Russian]
- Red Data Book of the Voronezh Region. Vol. 2: Animals. Voronezh: MODEK, 2011, 424 p. [In Russian].
- Sachkova Yu.V. 2006. *Fauna and ecology of terrestrial mollusks (Gastropoda, Pulmonata) of forest–stepe of Povolzh'ye (by example of Samara oblast)*, Extended Abstract of Cand. Sci. Dissertation, Tolyatti, 21 p [In Russian].
- Shikov E.V. 2007. New finds of terrestrial molluscs (Gastropoda, Pulmonata) in the Russian Plain. *Vestnik TvGU, Series: Biology and Ecology*, 6: 119–123.
- Shileyko A.A. 1978 Terrestrial mollusks of the superfamily Helicoidea. *Fauna SSSR, Molluski*. 3(6). Leningrad: Nauka Publishing House: 1–384.
- Snegin E.A., Artemchuk O.Yu. 2014. Morphogenetic analysis of populations of *Helix pomatia* L. (Pulmonata, Helicidae) on the south-eastern and eastern

- part of the current area. *Russian Journal of Genetics*, 4: 25–37.
- Snegin E.A., Lisetsky F.N., Artemchuk O.Yu. 2014. Morphogenetic analysis of multitemporal populations of *Helix albescens* (Rossmassler, 1839) in the conditions of the Northwestern Crimea based on the archaeological excavations of the Kelsheikh settlement. *Scientific Bulletins of the BelSU. Series: Natural Sciences*, 10(181): 83–87 [In Russian].
- Tkachenko I.A., Dedkov V.P., Tkachenko S.N. 2018. The effect of diet and environmental parameters on the weight of the snail *Helix pomatia* (Linnaeus 1758) under artificial breeding conditions. *Vestnik of North-Eastern Federal University*, 6(68): 34–42 [In Russian].
- Velichkovsky V. 1910. *Mollusks. Essay on the fauna of the Valuysky district of the Voronezh province*. Kharkov, 111 p. [In Russian].
- Zhivotovsky L.A. 1979. Index of population similarity in polymorphic traits. *Zhurnal Obshchei Biologii*, 40(4): 587–602 [In Russian].
- Zhivotovsky L.A. 1991. *Population biometrics*. Moscow: Nauka, 272 p [In Russian].

