

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ЧУЖЕРОДНОГО ВИДА *HELIX POMATIA* LINNAEUS, 1758 (HELICIDAE) НА ЮГЕ СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

©2026 Снегин Э.А.*, Сычёв А.А., Артемчук О.Ю., Снегина Е.А.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, 308015, Россия
e-mail: *snegin@bsuedu.ru

Поступила в редакцию 01.04.2026. После доработки 04.07.2026. Принята к печати 03.08.2026

Изучена генетическая структура популяций чужеродного вида *Helix pomatia* L. на юге Среднерусской возвышенности (Белгородская область) и сопредельных территориях с использованием микросателлитных локусов ДНК (STR). Было исследовано 156 особей из семи популяций. Для сопоставления была использована одна популяция *Helix thessalica* (Boettger, 1886) (20 особей), обитающая в районе исследования. Всего в пяти изученных STR-локусах было выделено 20 аллелей, из них 6 (30%) оказались приватными. При этом приватные аллели обнаружены в четырёх изученных популяциях, что составляет 50% от их общего числа. В среднем для всех групп были отмечены низкие уровни генетической изменчивости ($H_o = 0.204 \pm 0.039$, $H_e = 0.193 \pm 0.035$) и высокие показатели генетической подразделённости ($F_{st} = 0.467$, $\Phi_{st} = 0.439$, $N_m = 0.736$). С помощью двух непараметрических методов: метод Чжао1-бс и метод «складного ножа» первого порядка (1st order jackknife), было оценено потенциальное генетическое разнообразие, ожидаемое при увеличении объёма выборки до бесконечности (N_{max}). Три из восьми групп оказались с очень низким как реальным, так и потенциальным генетическим разнообразием. Кластерный анализ позволил выявить две группы популяций *H. pomatia*, имеющих, вероятно, различное происхождение. Группа *H. thessalica* (окрестности пос. Яблоново, Белгородская область), известная с конца XIX века, характеризуется устойчивой натурализацией в естественной среде. Сравнительный анализ генетических дистанций по М. Нею выявил значимую дифференциацию данной группы от популяций *H. pomatia*, что служит молекулярно-генетическим подтверждением её видового статуса. Оценка эффективной численности популяций (N_e), проведённая с использованием метода неравновесного сцепления (LD), метода избытка гетерозигот (HetEx) и метода с использованием молекулярной родословной (MC), позволила получить статистически достоверные значения лишь для двух выборок (диапазон N_e составил 0,6–4,8). В остальных исследованных группах расчёт N_e оказался невозможен вследствие крайне низкого уровня генетической изменчивости. Дефицит аллельного полиморфизма в сочетании с выраженной генетической дифференциацией исследуемых выборок детерминирован эффектом основателя и генетической гетерогенностью исходных линий. Редукция эффективного размера популяций N_e и параметров генетического разнообразия указывает на низкий адаптивный потенциал и повышенную уязвимость данных групп к стохастическим факторам.

Ключевые слова: *Helix pomatia*; *Helix thessalica*; Среднерусская возвышенность; генетическая структура популяций; STR-маркеры.

DOI: 10.35885/1996-1499-19-3-183-195

Введение

Исследования популяционной структуры видов на границе ареалов являются важной составляющей понимания эволюционных процессов, так как часто здесь разворачиваются события, приводящие к направленным изменениям генетической структуры популяций. Особенно это актуально в случае с адвентивными видами, которые, попадая в новые условия через так называемые «экологиче-

ские плацдармы», претерпевают определённые структурные перестройки, приводящие в дальнейшем к освоению новых территорий и вытеснению местных видов.

Helix pomatia (Linnaeus, 1758) – это наземный брюхоногий моллюск, центром происхождения которого являются районы Средней и Юго-Восточной Европы [Шилейко, 1978]. В настоящее время вид активно расширяет границы своего ареала, продвигаясь

на север и восток Европейского континента [Шиков, 2007, 2022, Egorov, 2015; Лобачёв и др., 2015; Шихова, 2023; Адамова, 2025]. Заселение восточных регионов Европы связано с человеческим фактором, так как моллюск издавна являлся важным пищевым объектом и часто разводился с этой целью в различных подсобных хозяйствах.

Исследования проводили в восточной части его современного ареала, включающего преимущественно юг Среднерусской возвышенности (Белгородская область) и сопредельные территории, где вид является адвентивным. Также для сопоставления была исследована одна адвентивная популяция, обитающая в окрестностях г. Житомир (Украина).

В настоящее время в районе исследования *H. pomatia* встречается преимущественно в урбанизированных элементах ландшафта с неполноценными сообществами, где занимает нишу консументов первого порядка. В естественных экосистемах вид встречается крайне редко.

Ранее авторами неоднократно предпринимались попытки проанализировать генетическую структуру популяций этого вида с использованием различных подходов, включающих конхиометрический и фенетический анализ, анализ аллозимов и межмикросателлитных (ISSR) фрагментов ДНК [Snegin, Artemchuk, 2016, 2017; Snegin et al., 2018; Артемчук, Снегин, 2022]. Полученные данные свидетельствуют о значительной генетической вариабельности, о выраженной популяционной дифференциации и эффективном размере популяций исследуемого вида, что сопоставимо с аналогичными показателями аборигенных таксонов. Сформулирована гипотеза, согласно которой в адвентивных поселениях моллюска происходит формирование сбалансированной генетической структуры. Данный процесс в сочетании со специфическими биологическими и экологическими характеристиками вида детерминирует его высокую адаптивную способность к условиям урбанизированной среды и инвазионный потенциал при освоении новых территорий Восточной Европы.

Кроме *H. pomatia* на территории района исследования обитает как минимум одна

популяция предположительно чужеродного вида *Helix thessalica* (Boettger, 1886) (фессалийская улитка), ранее считавшегося подвигом виноградной улитки. В настоящее время на основе морфологического и молекулярно-филогенетического анализа выделен в отдельный вид [Korabek et al., 2016]. Выборка из указанного локалитета, представляющего собой восточную точку экспансии вида, привлечена нами для проведения сравнительного анализа. Исходный ареал этого вида приходится на Центральную Европу, юг Балканского полуострова, Карпаты.

Цель настоящей работы – изучить популяционную структуру *H. pomatia* на юге Среднерусской возвышенности и сопредельных территориях с использованием микросателлитных локусов ДНК (STR, short tandem repeats).

Материал и методы

Для анализа популяционно-генетической структуры *H. pomatia* был использован материал криобанка НИЦ геномной селекции НИУ «БелГУ» (табл. 1). Всего было отобрано 156 образцов тканей от взрослых особей *H. pomatia* из семи природных популяций моллюска, обитающих на территории Среднерусской возвышенности и сопредельных регионов. Также для сопоставления была взята одна группа *H. thessalica* (20 особей), обитающая в районе исследования.

Для изучения популяционной структуры были использованы пять микросателлитных локусов [Krapal et al., 2016], объединённых в одну мультиплексную панель (табл. 2).

Праймеры были синтезированы в компании «Синтол» (Россия), при этом прямой праймер каждого локуса с 5'-конца был помечен соответствующей флуоресцентной меткой.

Выделение ДНК проводили из фрагмента ноги моллюска, тщательно отжатого от слизи, следуя инструкции к набору «ДНК-Экстрат-2» («Синтол», Россия). Состав реакционных смесей в расчёте на одну пробу включал: 2.5 × Реакционная смесь (ПЦР-буфер Б [KCl, трисHCl (pH 8.8), 6.25 mM MgCl₂], SynTaq ДНК-полимераза – 5 Е/мкл, dNTP – 2.5 mM, глицерол, Tween 20) – 8 мкл; MgCl₂

Таблица 1. Описание пунктов сбора *H. pomatia* и *H. thessalica*

Пункт	Описание пункта	Координаты	Число особей
<i>H. pomatia</i>			
1. «Маршалково»	г. Строитель, Яковлевский район Белгородской области. Природный парк «Маршалково»	50°77'75.89" с.ш., 36°49'07.96" в.д.	20
2. «Белгород»	г. Белгород, заросли ивы в пойме р. Везёлка, вблизи от комплекса зданий НИУ «БелГУ»	50°59'49.62" с.ш., 36°56'42.99" в.д.	25
3. «Стаханов»	г. Стаханов, Луганская область. Заросли культурного винограда возле гаражных построек	48°57'52.27" с.ш., 38°66'09.03" в.д.	23
4. «Курск»	г. Курск, территория лесного массива, примыкающего к гаражам и свалке строительного мусора	51°70'64.17" с.ш., 36°13'47.54" в.д.	24
5. «Ржавец»	х. Ржавец, Шебекинский район, Белгородская область. Пойменный луг недалеко от ж/д насыпи с посадками дуба черешчатого и тополя	50°44'24.74" с.ш., 36°76'18.36" в.д.	24
6. «Житомир»	г. Житомир, лесопарковая зона поймы реки Тетерев, на противоположной стороне реки городской парк культуры и отдыха им. А.Ю. Гагарина	50°24'18.74" с.ш., 28°66'10.73" в.д.	20
7. «Майский»	п. Майский, Белгородский район, Белгородская область. Байрачная дубрава	50°51'64.36" с.ш., 36°45'34.95" в.д.	20
<i>H. thessalica</i>			
8. «Яблоново»	с. Яблоново, Валуйский район, Белгородская область. Урочище «Лисья гора». Снытьевая дубрава	50.22'18.14" с.ш., 38.01'11.59" в.д.	20

Таблица 2. Микросателлитные локусы *H. pomatia*, объединённые в одну мультиплексную панель

Локус	Повторяющийся мотив	Краситель	Диапазон длин	Праймеры
HP 228	(TGT) _n	Rox	168–174	F: GTACGTCACAGGAGGGCAAT R: GGTGTTCTAGCCAGCCACTC
HP458	(CA) _n	Rox	130–152	F: TGTGCTGCACCGTCAACTA R: TTCCCTACCCAAGCTCAGAA
HP500	(GT) _n	R6G	114–126	F: GGATGGAGAGAATACGCGAG R: AAGCGTGGCAAACACTCAG
HP535	(AGT) _n	R6G	175–181	F: GGGAGCTTGTGTCTAATGGG R: GAGATATCCGAGGGCAATGA
HP558	(GACT) _n	Fam	143–159	F: TATTCGCTGACACAGGAACG R: CCTGGTTGTCTAATCGGCTC

25 мМ – 0.5 мкл; геномная ДНК 30–60 нг, по 5 рМ каждого праймера. До нужного объёма пробу доводили деионизированной водой.

ПЦР проводили в ДНК-амплификаторе Veriti (Thermo Fisher Scientific, США). Параметры ПЦР: один цикл: 94 °С – 3 мин, четыре цикла: 98 °С – 30 с, 61 °С – 2 мин, 72 °С – 1,5 мин, шесть циклов: 94 °С – 30 с, 61 °С – 2 мин, 72 °С – 1,5 мин, 22 цикла: 90 °С – 30 с, 61 °С – 2 мин, 72 °С – 1.25 мин, 68 °С – 30 с, один цикл 68 °С – 20 мин.

Для фрагментного анализа на генетическом анализаторе Нанофор-05 («Синтол», Россия) использовали 1 мкл смеси ампли-

конов, 9 мкл формамида Hi-Di™ и 0.5 мкл стандарта длины СД-450 («Синтол», Россия). Размер фрагментов определяли в программном обеспечении GeneMapper v 4.1 (Thermo Fisher Scientific, США).

Уровень дифференциации изучаемых популяций в пределах изучаемой территории оценивали с помощью характеристик генного разнообразия, предложенных С. Райтом [Wright, 1951], а также с помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) [Excoffier et al., 1992].

Оценку генетической изменчивости, расчёты генетических дистанций, определе-

ние полокусных значений коэффициентов инбридинга и уровня потока генов, а также анализ молекулярной дисперсии проводили при помощи программного обеспечения GenAlEx v.6.5 [Peakall, Smouse, 2006]. Достоверность дефицита гетерозигот оценивали по формуле $\chi^2 = F^2 N(k - 1)$, $df = k - 1$, где F — коэффициент инбридинга; N — объём выборки; k — число аллелей [Ли, 1978].

Для углубленного анализа генетических взаимоотношений исследуемых популяций был применён кластерный анализ методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA) на основе генетических дистанций по М. Нею. Анализ проводили в программе PAST v.4.06 [Hammer et al., 2001]. Дополнительно структура генетической изменчивости и уровни гибридизации (адмиксии) оценивали с помощью алгоритмов байесовской кластеризации в программном комплексе STRUCTURE v. 2.3.1 [Pritchard et al., 2000]. Согласно результатам моделирования адмиксового происхождения особей, наиболее вероятным признано разделение выборки на три кластера ($k = 3$), что соответствует количеству выделенных групп популяций.

Учитывая тот факт, что для оценки состояния популяционных генофондов улиток 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-I}), т.е. тех генетических комбинаций, которые были отмечены в одной единственной популяции. В дальнейшем, основываясь на распределении частот мультилокусных генотипов, для каждой популяции было вычислено потенциальное генетическое разнообразие, ожидаемое при увеличении объёма выборки до бесконечности (N_{max}). Анализ проводили с помощью двух непараметрических методов: метод Chao1-bc (bias-corrected form for the Chao1) [Chao, 2005] и метод «складного ножа» первого порядка (1st order jackknife) [Burnham, Overton, 1978]. Все расчёты были проведены с помощью программы SPADE [Chao A., Shen, 2009]. Стоит отметить, что данный подход был успешно апробирован

ранее как для оценки состояния популяционных генофондов особо охраняемых видов [Snegin et al., 2017a, b], так и для описания адвентивных групп [Kramarenko, Snegin, 2015].

На заключительном этапе нами была проведена оценка эффективной численности популяций *H. pomatia* с использованием трёх различных моделей: 1) метод с поправкой на систематическую ошибку, основанную на неравновесии по сцеплению (LD-метод, Linkage disequilibrium method) [Hill, 1981; Waples, 2006; Waples, Do, 2010]; 2) метод, основанный на использовании избытка гетерозигот (HetEx – метод, Heterozygote excess method) [Pudovkin et al., 1996; Zhdanova, Pudovkin, 2008]; 3) метод с использованием молекулярной родословной (МС-метод, Molecular coancestry method) [Nomura, 2008]. Для вычислений использовали программу NeEstimator [Do et al., 2014].

Результаты

Частотные характеристики обнаруженных аллелей систематизированы в табл. 3. Всего в пяти изученных STR-локусах было выделено 20 аллелей.

На основе полученных эмпирических данных проведена сравнительная оценка частоты встречаемости частных аллелей в исследуемых выборках. Маркерный анализ позволил дифференцировать локальные популяции по наличию таких генетических вариантов. Лocus HP228 продемонстрировал наибольший потенциал для межпопуляционной дифференциации. В частности, уникальные для исследуемых популяций профили были обнаружены в группах № 4 (аллель 156), 3 (аллель 141) и 7 (аллели 132 и 135). Особый интерес представляет мономорфная группа № 8, идентифицированная как вид *H. thessalica*. Несмотря на отсутствие внутривидового полиморфизма, в ней выявлены специфические маркеры – частные аллели 154 (locus HP228) и 161 (locus HP535).

Анализ полиморфизма исследуемых локусов выявил гетерогенную структуру популяционных выборок. Подробные параметры генетической изменчивости, включая уровни наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности, среднего число аллелей на locus

Таблица 3. Частоты аллелей STR-локусов в популяциях рода *Helix*

Лocus	Аллель	Популяция							
		1	2	3	4	5	6	7	8
HP228	132							0.100	
	135							0.125	
	138	0.950	0.220	0.022	0.271	0.521	0.450		
	141			0.043					
	150	0.050	0.780		0.688			0.775	
	153			0.935		0.479	0.550		
	154								1.0
	156				0.042				
HP458	111	0.725	0.580	0.478	0.583	0.729	1.0	1.0	1.0
	113		0.420			0.063			
	125	0.275		0.500	0.417	0.208			
	127			0.022					
HP500	96					0.021		0.150	
	98	1.0	1.0	1.0	1.0	0.938	1.0	0.850	
	106					0.042			1.0
HP535	158	1.0	1.0	1.0	1.0	1.000	1.0	1.0	
	161								1.0
HP558	124	0.100	1.0	0.5	0.333	0.125	0.225	1.0	
	125								
	128	0.900		0.5	0.667	0.875	0.775		1.0

Таблица 4. Результаты оценки генетического разнообразия популяций рода *Helix*

№ популяции	N	<i>A</i>	<i>Ae</i>	<i>I</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F</i>
1	20	1.60±0.24	1.198±0.123	0.222±0.110	0.130±0.066	0.135±0.074	0.014±0.054
2	25	1.40±0.24	1.295±0.193	0.241±0.150	0.224±0.142	0.166±0.104	-0.339*±0.036
3	23	2.0±0.45	1.446±0.246	0.352±0.166	0.296±0.160	0.229±0.117	-0.229±0.107
4	24	1.80±0.37	1.514±0.211	0.412±0.169	0.225±0.1	0.277±0.113	0.177±0.137
5	24	2.2±0.37	1.428±0.188	0.415±0.136	0.233±0.078	0.252±0.093	0.016±0.075
6	20	1.4±0.24	1.303±0.199	0.244±0.152	0.170±0.107	0.169±0.106	-0.007±0.002
7	20	1.6±0.40	1.188±0.122	0.222±0.142	0.150±0.095	0.126±0.079	-0.190±0.009
Среднее для <i>H. pomatia</i>		1.71±0.13	1.339±0.067	0.301±0.053	0.204±0.039	0.193±0.035	-0.063±0.038
8	20		1.0±0.0	1.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

Примечание. *N* – число особей в выборке; * – случаи достоверного отличия значений ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности ($p \leq 0,05$).

(*A*), эффективного числа аллелей (*Ae*), индекса Шеннона (*I*) и коэффициента инбридинга (индекс фиксации *F*), приведены в табл. 4.

Результаты математического моделирования с оценкой потенциального генетического разнообразия в долгосрочной перспективе отражены в табл. 5. Построенные прогнозные модели (включая непараметрические индексы Chao1-bc и Jackknife 1-го порядка) позволили оценить ожидаемый объём скрытого ге-

нетического полиморфизма, который не был выявлен при текущем объёме выборки.

Данные, полученные в ходе расчёта популяционных коэффициентов инбридинга, а также результаты анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) представлены в табл. 6 и 7 соответственно.

Для выяснения степени различий между отдельными популяциями были вычислены значения попарных показателей генетиче-

Таблица 5. Количество отмеченных мультилокусных генотипов и оценки потенциального генетического разнообразия, полученные разными методами для исследованных популяций рода *Helix*

№ популяции	N_{MLG}	N_{MLG-1}	Метод			
			Chao1-bc		1 st order jackknife	
			$N_{max} \pm SE$	95% CI	$N_{max} \pm SE$	95% CI
1	6	2	6.3±0.9	6.0–11.7	7.9±1.9	6.4–15.9
2	5	0	5.0±0.0	5.0–5.0	5.0±0.0	5.0–5.0
3	9	4	10.9±2.8	9.2–24.4	12.8±2.7	10.1–22.5
4	14	6	16.1±2.4	14.3–26.9	19.8±3.4	16.0–30.6
5	14	10	35.6±18.6	19.0–106.9	23.6±4.3	18.1–36.3
6	7	1	7.0±0.1	7.0–7.0	8.0±1.4	7.1–14.5
7	4	0	4.0±0.0	4.0–4.0	4.0±0.0	4.0–4.0
8	1	0	1.0±0.0	1.0–1.0	1.0±0.0	1.0–1.0

Примечание: N_{max} – объём выборки до бесконечности; N_{MLG} – общее количество мультилокусных генотипов; N_{MLG-1} – число уникальных мультилокусных генотипов; SE – стандартная ошибка; 95% CI – доверительный интервал при 95%-ном уровне значимости.

Таблица 6. Полокусные значения коэффициентов инбридинга и уровня потока генов в семи популяциях *H. pomatia*

Локус	F_{is}	F_{it}	F_{st}	N_m
HP228	–0.102	0.465	0.515	0.236
HP458	–0.137	–0.026	0.097	2.325
HP500	–	1.000	1.000	0.000
HP535	–0.071	0.167	0.223	0.872
HP558	0.005	0.504	0.501	0.249
Среднее	–0.076±0.027	0.422±0.134	0.467±0.156	0.736±0.423

Примечание: F_{is} – коэффициент инбридинга особи относительно субпопуляции; F_{it} – коэффициент инбридинга особи относительно большой популяции; F_{st} – коэффициент инбридинга субпопуляции относительно большой популяции¹; N_m – средний показатель интенсивности обмена генами между популяциями.

Таблица 7. Значения молекулярной дисперсии (AMOVA) по STR-локусам в семи популяциях *H. pomatia*

Источник изменчивости	df	SS	MS	V	%		Φ_{st}	P
Между популяциями	6	108.156	18.026	0.394	44		0.439	0.001
Внутри популяций	305	153.386	0.503	0.503	56			
Итого	311	261.542		0.897	100			

Примечание: источник изменчивости (source of variation) – это структурный уровень популяции, на который списывается часть общего генетического разнообразия; df – число степеней свободы; SS – сумма квадратов; MS – средний квадрат; V – дисперсия; Φ_{st} – индекс дифференциации или степень генетического разобщения популяций; P – уровень значимости.

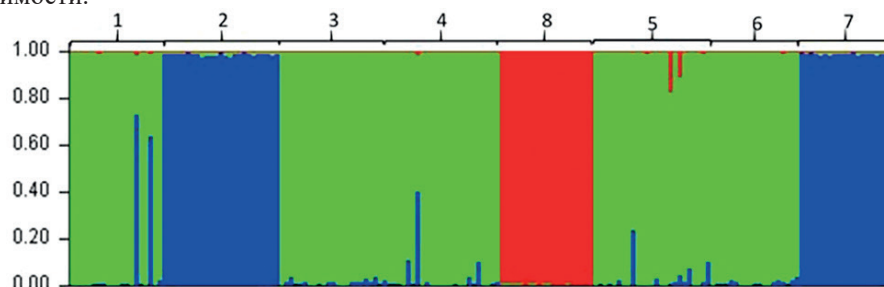


Рис. 1. Популяционная структура выборки из 176 улиток рода *Helix* из восьми популяций, полученная в программе STRUCTURE по данным STR-анализа 5 локусов ($k = 3$) (номера популяций указаны сверху рисунка согласно табл. 2). Высота столбика внутри колонки образца показывает апостериорную вероятность отнесения этого образца к определённой популяции.

¹ В качестве субпопуляций (Subpopulation) определены исследуемые локальные выборки; роль большой популяции (Total population) выполняет генеральная совокупность всех существующих в регионе групп.

Таблица 8. Генетическое расстояние по Нею между популяциями рода *Helix*

Популяции	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.000							
2	0.428	0.000						
3	0.307	0.365	0.000					
4	0.143	0.352	0.027	0.000				
5	0.052	0.408	0.126	0.037	0.000			
6	0.091	0.360	0.134	0.054	0.019	0.000		
7	0.472	0.057	0.373	0.363	0.421	0.327	0.000	
8	1.052	2.063	1.501	1.224	0.966	0.943	1.542	0.000

Таблица 9. Оценки эффективной численности популяции (N_e) различных популяций улиток рода *Helix*, рассчитанные с использованием LD-метода, MC-метода и HetEx -метода

Популяция	N_e (LD)	95% CI	N_e (MC)	95% CI	N_e (HetEx)	95% CI
1	1.0	0.1–31.4	4.8	0.0–23.9	∞	3.2– ∞
2	∞	0.1– ∞	∞	∞	2.0	1.3–4.7
3	∞	0.7– ∞	∞	∞	2.9	1.3– ∞
4	∞	2.3– ∞	∞	∞	∞	2.3– ∞
5	∞	0– ∞	∞	∞	∞	2.8– ∞
6	∞	0– ∞	2.4	0.0–12.2	∞	∞
7	0.6	0–11.7	1.3	0.8–1.8	3.8	2.2–23.0
8	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Примечание: 95% CI – доверительный интервал при 95%-ном уровне значимости.

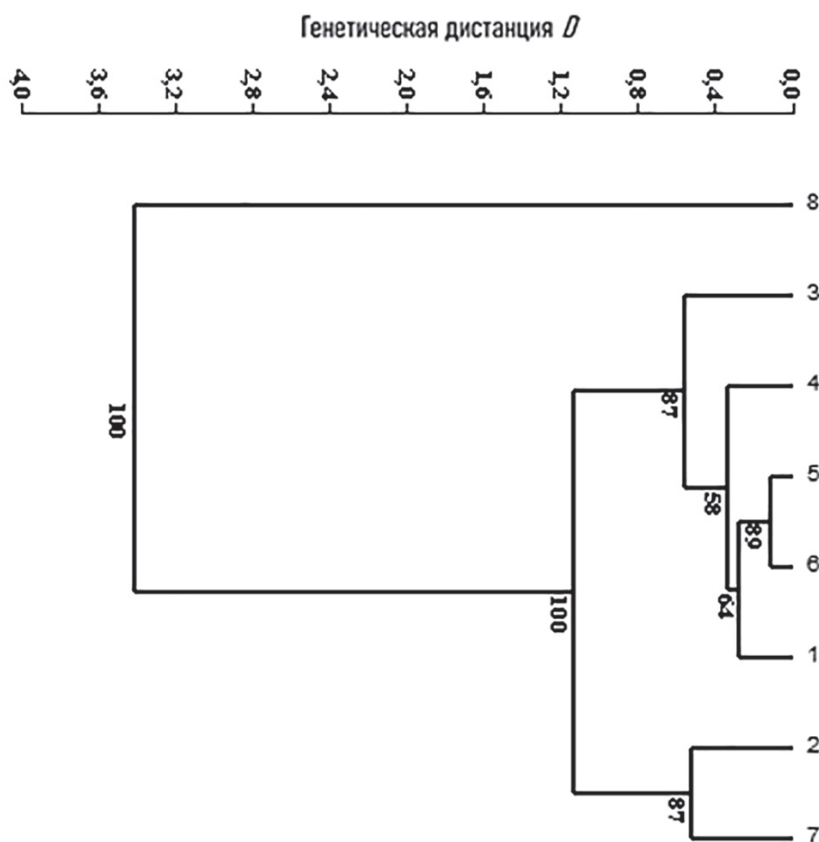


Рис. 2. Дендрограмма популяций улиток рода *Helix*, построенная на основе генетических расстояний по Нею с использованием бутстреп-оценки при 1000 генерациях (метод UPGMA).

ской дистанции (по Нею) между исследуемыми группами виноградной улитки, которые приведены в табл. 8. Результаты кластеризации изученных популяций отражены на рис. 1 и 2. Результаты вычислений эффективного размера популяций приведены в табл. 9.

Обсуждение

Анализ генетической структуры исследуемых выборок свидетельствует о низком уровне генетического разнообразия. Значения коэффициента инбридинга (F) в большинстве групп минимальны, что указывает на соответствие частот генотипов равновесию Харди – Вайнберга. Статистически значимый дефицит гетерозигот ($p \leq 0.05$) зафиксирован только в выборке № 2 «Белгород». Особого внимания заслуживает популяция № 8 (*H. thessalica*), продемонстрировавшая полную мономорфность по всем анализируемым локусам, что подчёркивает её глубокую генетическую дифференциацию от остальных групп улиток.

Что касается анализа мультилокусных генотипов, то среди всех групп по количеству как реальных, так и потенциальных генетических комбинаций лидируют группы № 4 «Курск» и 5 «Ржавец». В этих же группах отмечено наибольшее число уникальных генетических комбинаций. Самыми генетически бедными, помимо упомянутой группы № 8, являются популяции № 2 и 7.

Анализ генетической подразделённости с использованием F-статистики Райта и молекулярной дисперсии (AMOVA) показал во многом сходные результаты. При этом уровень потока генов за поколение (Nm) оказался меньше единицы, что свидетельствует о разобщении групп улиток, вероятно, ведущих свою родословную от разных основателей.

Кластерный анализ выборок выявил дивергенцию исследуемых популяций *H. pomatia* на две ветви (рис. 2). В состав первого кластера вошли группы № 2 и 7 (г. Белгород и его окрестности), характеризующиеся минимальным разнообразием мультилокусных генотипов (см. табл. 5). Вторая ветвь объединила все остальные локалитеты, включая референтную популяцию из г. Житомир (№ 6), что свидетельствует об их генетическом сход-

стве. Группа *H. thessalica* (№ 8) демонстрирует выраженную генетическую дистанцию по отношению ко всем изученным выборкам *H. pomatia*.

Данная дифференциация подтверждается результатами анализа популяционной структуры с применением адмикс-модели (рис. 1). Характер распределения генотипов свидетельствует о высокой степени генетической гомогенности и филогенетической близости выборок № 2 и 7 при выраженной обособленности кластера № 8. В остальных популяциях преобладают генетически близкие особи с незначительной долей интрогрессии аллелей, характерных для первой ветви. Так, в группе № 2 обнаружены две особи с генотипами, сходным с группами 2 и 7. Также в группе № 5 присутствуют две особи, имеющие определённое генетическое сходство с другим видом *H. thessalica* (№ 8). Таким образом, на территории района исследования присутствуют как минимум две различные по происхождению группы популяций *H. pomatia*. Что касается популяции *H. thessalica* (№ 8), то данная группа, обитающая в Валуйском районе Белгородской области, была отмечена ещё в конце XIX века [Величковский, 1910] и является единственной из изученных популяций, натурализовавшейся в естественной среде. Несмотря на филогенетическую близость данного таксона к *H. pomatia* и на имеющиеся сведения о межвидовой гибридизации [Korabek, Hausdorf, 2024], анализ микросателлитных маркеров указывает на отсутствие генного потока между популяциями этих видов в исследуемом районе. Выявленная 100%-ная гомозиготность группы по локусам, исходно разработанным для *H. pomatia*, служит дополнительным аргументом в пользу её видовой самостоятельности.

Это согласуется с тем фактом, что STR-маркеры часто характеризуются высокой видоспецифичностью. Несмотря на кросс-видовую переносимость исследуемых локусов, их амплификация у филогенетически близких таксонов отличается выраженной редукцией выявляемого полиморфизма. В межвидовом анализе данная тенденция носит системный характер, что детерминировано как экспрессией неамплифицируемых

(нулевых) аллелей, так и локальным снижением уровня генетического разнообразия вследствие нуклеотидных замен в сайтах отжига праймеров. Эмпирические данные подтверждают эту закономерность на примере различных семейств наземных брюхоногих моллюсков. Например, у *Helix lutescens* по локусам HP228, HP500, HP535 и HP558 зафиксировано наличие лишь единичных аллелей (165, 112, 184 и 155 соответственно), а вид *Helix lucorum* проявил мономорфность по локусу HP500 (аллель 116) [Krapal et al., 2016]. При тестировании микросателлитных маркеров, разработанных для вида древесных улиток *Mandarina mandarina*, на близкородственном виде *Mandarina chichijimana* также наблюдалось значительное падение аллельного разнообразия. [Kondo et al., 2022]. При описании STR-маркеров для *Cepaea nemoralis* в последующих кросс-видовых тестах на родственных таксонах продуктов амплификации получить не удалось, кроме *Cepaea hortensis*, у которого большинство локусов оказались мономорфными [Davison A., 1999]. Аналогичное падение уровня изменчивости у родственных видов зафиксировано при кросс-амплификации микросателлитных маркеров у моллюсков рода *Helicopsis* [Сычёв, Снегин, 2025]. Таким образом, падение аллельного разнообразия и высокая частота мономорфизма являются типичным следствием увеличения филогенетической дистанции между целевым таксоном и видом-донором маркеров.

Результат вычислений эффективной численности (N_e) показал, что по всем трём вариантам расчёта удалось получить информационно значимый результат только для двух популяций (№ 1 и 7). Для других групп N_e удалось вычислить либо только по отдельным методикам, либо она оказалась равной бесконечности, что, вероятно, является следствием низкой генетической изменчивости и (или) ошибкой выборки. Для получения более реальной картины необходимо увеличить и количество анализируемых локусов, и объём выборок. Наибольший эффективный размер был получен для группы № 1 с использованием МС-метода и группы № 7 с использованием NetEx-метода.

Сопоставление текущих результатов с данными наших предыдущих исследований [Snegin, Artemchuk, 2016, 2017; Snegin et al., 2018] подтверждает, что выявленный уровень варибельности STR-маркеров соотносится со значениями, установленными с помощью иных методических подходов (табл. 10). При этом установленный уровень генетического разнообразия по аллозимным локусам незначительно превысил аналогичные параметры ДНК-маркеров, за исключением данных ISSR-анализа, выполненного с помощью метода капиллярного электрофореза. В то же время показатели генетической дифференциации популяций (F_{st} и Φ_{st}), рассчитанные на основе STR-маркеров, оказались значительно выше. Данная диспозиция наиболее отчётливо проявляется при сопоставлении со сведениями по ISSR-маркерам (559 локусов, капиллярный электрофорез), где доля межпопуляционной компоненты изменчивости составила лишь 7% [Snegin et al., 2018], что указывает на высокую степень генетической однородности по доминантным маркерам на фоне выраженной структурированности микросателлитных локусов. Дело в том, что использование ISSR-маркеров, характеризующихся доминантным типом наследования, ограничивает возможность точной дифференциации гетерозиготных состояний, и это приводит к получению консервативных и усреднённых оценок генетического разнообразия.

Что касается увеличения степени подразделённости и уменьшения эффективного размера популяций, выявленных по STR-маркерам, по сравнению с аллозимами, то это явление может быть вызвано следующими причинами. Во-первых, гены изоферментов кодируют функциональные белки и меняются медленно из-за действия стабилизирующего отбора, отражая состояние популяции на больших временных отрезках (древние события). Селективно нейтральные микросателлиты, наоборот, крайне чувствительны к недавним изменениям (инбридинг, фрагментация), поэтому они показывают «современную» (часто меньшую) эффективную численность. Во-вторых, из-за того, что микросателлиты мутируют намного быстрее локусов, кодиру-

Таблица 10. Значения уровня изменчивости, уровня подразделённости и эффективного размера популяций *H. pomatia*, полученные с использованием других методов (обозначения, как в табл. 4, 6, 7)

Метод	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>A_e</i>	<i>I</i>	F-Статистика				AMOVA		<i>N_e</i> (95% CIs)
					<i>F_{is}</i>	<i>F_{it}</i>	<i>F_{st}</i>	<i>N_m</i>	<i>Φ_{st}</i>	<i>P</i>	
Аллозимный анализ [Snegin, Artemchuk, 2016]	0.217 ±0.035	0.248 ±0.100	1.459 ±0.224	0.392 ±0.151	0.306	0.512	0.246	1.128	0.295	0.010	9.8 (3.9–25.1)
ISSR-агарозный электрофорез [Snegin, Artemchuk, 2017]		0.190 ±0.025	1.315 ±0.046	0.295 ±0.035					0.233	0.01	3,1 (2.0–4.9)
ISSR-капиллярный электрофорез [Snegin et al., 2018]		0.095 ±0.002	1.129 ±0.003	0.167 ±0.002					0.074	0.001	41,8 (11.5–152.3)

ющих аллозимы, они гораздо быстрее накапливают приватные аллели в изолированных группах. Если разделение популяций произошло недавно по эволюционным меркам, то аллозимные маркеры могут демонстрировать общее предковое полиморфное состояние, когда сортировка предковых линий (lineage sorting) ещё не завершилась. STR-маркеры в тех же условиях стремительно дивергируют, фиксируя межпопуляционную генетическую дистанцию на начальных этапах пространственного разобщения.

Заключение

Таким образом, анализ генетической структуры семи популяций *H. pomatia*, обитающих на территории юга Среднерусской возвышенности и сопредельных районов с использованием STR-маркеров, показал низкий уровень аллельного разнообразия и довольно высокий уровень генетической подразделённости анализируемых групп. Данный факт, вероятно, обусловлен эффектом основателя и происхождением интродуцированных популяций от различных предковых линий (как минимум двух). Низкие показатели эффективной численности и генетического разнообразия свидетельствуют о высокой уязвимости исследуемых популяций. Согласно концепции М.Е. Сулея [Soule, 1985], существует прямая корреляция меж-

ду данными параметрами и долгосрочной жизнеспособностью таксона: сокращение генетической изменчивости ограничивает адаптивный потенциал, что существенно повышает риск элиминации популяций на недавно освоенных территориях в краткосрочной перспективе. Полученные данные частично расходятся с результатами наших предыдущих исследований, основанных на анализе аллозимных и ISSR-маркеров, в которых высказывалось предположение о формировании сбалансированной генетической структуры в адвентивных популяциях виноградной улитки. Такое несоответствие обусловлено более высокой разрешающей способностью микросателлитных маркеров. Данный инструмент позволяет точнее фиксировать современные микроэволюционные сдвиги, включая генетико-автоматические процессы в популяциях.

В ходе сравнительного анализа были выявлены статистически значимые межвидовые различия между *H. pomatia* и *H. thessalica*. Учитывая высокую видоспецифичность микросателлитных локусов, для получения верифицируемых данных о генетической структуре популяции *H. thessalica* представляется необходимым проектирование и внедрение оригинальной панели микросателлитных маркеров, адаптированной непосредственно для данного вида.

Финансирование

Исследование было проведено в рамках бюджетного финансирования Белгородского государственного национального исследовательского университета.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

Статья не содержит никаких исследований с участием живых организмов в экспериментах, выполненных кем-либо из авторов.

Литература

- Адамова В.В. Моделирование потенциального распространения наземных моллюсков-вселенцев на территории Восточной Европы // Российский журнал биологических инвазий. 2025. Т. 18, № 1. С. 2–25. DOI: 10.35885/1996-1499-18-1-002-025
- Артемчук О.Ю., Снегин Э.А. Анализ изменчивости морфогенетических признаков в популяциях *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) из Белгородской и Луганской областей // Ruthenica. 2022. Vol. 32, no. 4. P. 149–158. DOI: [https://doi.org/10.35885/ruthenica.2022.32\(4\).2](https://doi.org/10.35885/ruthenica.2022.32(4).2)
- Величковский В. Моллюски. Очерк фауны Валуйского уезда Воронежской губернии. Харьков. 1910. Вып. 6. 111 с.
- Ли Ч.Ч. Введение в популяционную генетику / пер. с англ. Е.А. Салменковой, Е.Я. Тетушкина, под ред. Ю.П. Алтухова, Л.А. Животовского. М.: Мир, 1978. 555 с.
- Лобачёв Е.А., Лобачёва Е.В., Петрова Е.С. и др. Виноградная улитка *Helix pomatia* L. – новый неназивный вид в Мордовии // Вестник Мордовского университета. 2015. Т. 25, № 2. С. 139–151. DOI: 10.15507/VMU.025.201502.139
- Сычёв А.А., Снегин Э.А. Изменчивость микросателлитных маркеров у степных моллюсков рода *Helicopsis* (Gastropoda; Pulmonata) в условиях юга Среднерусской возвышенности // Ruthenica. 2025. Т. 35, № 3: С. 157–165. [https://doi.org/10.35885/ruthenica.2025.35\(3\).4](https://doi.org/10.35885/ruthenica.2025.35(3).4)
- Шилейко А.А. Наземные моллюски надсемейства *Helicoidea* / Фауна СССР. Моллюски. Нов. сер. Л.: Наука, 1978. Т. 3, вып. 6. 384 с.
- Шиков Е.В. Новые находки наземных моллюсков (Gastropoda, Pulmonata) на Русской равнине // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2007. № 22(50). С.118–122.
- Шиков Е.В. Изменения степени натурализации адвентивных видов наземных моллюсков в центре Русской равнины // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2022. № 2(66). С. 72–80.
- Шихова Т.Г. Виноградная улитка *Helix pomatia* Linnaeus, 1758 (Pulmonata, Helicidae) – новый адвентивный вид Кировской области // Полевой журнал биолога. 2023. Т. 5, № 2. С. 126–135. DOI: 10.52575/2712-9047-2023-5-2-126-135
- Burnham K.P., Overton W.S. Estimation of the size of a closed population when capture probabilities vary among animals // Biometrika. 1978. 65. P. 625–633.
- Chao A. Species richness estimation. In: Balakrishnan N., Read C.B., Vidakovic B. editors. Encyclopaedia of Statistical Science. New York. Wiley. 2005. P. 7907–7916.
- Chao A., Shen T.J. 2009. SPADE. <http://chao.stat.nthu.edu.tw>. (cited 12.03.2015).
- Davison A. (Characterisation of polymorphic microsatellite loci in the land snail *Cepaea nemoralis* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata). Molecular Ecology. 1999. No. 8. P. 1960–1961.
- Do C., Waples R.S., Peel D. et al. NeEstimator v2: re implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (*N_e*) from genetic data // Mol. Ecol. Resour. 2014. Vol. 14, no. 1. P. 209–214. DOI: 10.1111/1755-0998.12157
- Egorov R. *Helix pomatia* Linnaeus, 1758: the history of its introduction and recent distribution in European Russia // Malacologica Bohemoslovaca. 2015. No. 14. P. 91–101.
- Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data // Genetics. 1992. No. 131. P. 479–491.
- Hammer Ø., Harper D., Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // Palaeontologia electronic. 2001. Vol. 4. P. 9.
- Hill W.G. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium // Genetics Research. 1981. Vol. 38, no. 3. P. 209–216.
- Kondo M., Chiba S., & Kurita K. Characterization of polymorphic microsatellite markers for the endangered land snail *Mandarina mandarina* (Gastropoda: Camaenidae) // BMC Research Notes. 2022. 15(1), 255. P. 1–5. DOI: 10.1186/s13104-022-06147-4
- Korabek O., Juříčková L., Petrusek A. Splitting the Roman Snail *Helix pomatia* Linnaeus, 1758 (Stylommatophora: Helicidae) into two: redescription of the forgotten *Helix thessalica* Boettger, 1886 // Journal of Molluscan Studies. 2016. Vol. 82, no. 1. P. 11–22. DOI: 10.1093/mollus/eyv048
- Korabek O., Hausdorf B. Accelerated mitochondrial evolution and asymmetric fitness of hybrids contribute to the persistence of *Helix thessalica* in the *Helix pomatia* range // Molecular Ecology. 2024. 33 (16). e17474. DOI: 10.1111/mec.17474
- Kramarenko S.S., Snegin E.A. Genetic structure of the continuous and ephemeral populations of the land snail *Brephulopsis cylindrica* (Gastropoda; Pulmonata; Enidae) // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2015. Vol. 5, no. 5. P. 469–478. DOI: 10.1134/S2079059715050068
- Krapal A.M., Popa O.P., Iorgu E.I. et al. Development of the first polymorphic microsatellite markers for the Roman

- Snail *Helix pomatia* L., 1758 (Helicidae) and cross-species amplification within the genus *Helix* // Genetics and Molecular Research 2016. 15 (3): gmr.15038817. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15038817>
- Nomura T. Estimation of effective number of breeders from molecular coancestry of single cohort sample // Evolutionary Applications. 2008. Vol. 1, no. 3. P. 462–474. DOI: 10.1111/j.1752-4571.2008.00015.x
- Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol Ecol Notes. 2006. Vol. 6, no. 1. P. 288–295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- Pudovkin A.I., Zaykin D.V., Hedgecock D. On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote excess in progeny // Genetics. 1996. Vol. 144(1). P. 383–387.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. Vol. 155(2). P. 945–959.
- Snegin E.A., Artemchuk O.Yu. Morphogenetic analysis of *Helix pomatia* L. (Pulmonata, Helicidae) populations from south-eastern and eastern parts of the modern area // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2016. Vol. 6, no. 2. P. 152–162. DOI: 10.1134/S207905971602012X
- Snegin E.A., Artemchuk O.Yu. Population Genetic Structure of *Helix pomatia* L. (Mollusca, Pulmonata) from the Southeastern and Eastern Parts of the Range // Russian Journal of Genetics. 2017. Vol. 53, no. 3. P. 348–357. DOI: 10.1134/S1022795417030127
- Snegin E. A., Artemchuk O. Yu., Sychev A. A. Estimation of the Genetic Structure of *Helix pomatia* L. Populations (Mollusca, Pulmonata) by Capillary Electrophoresis of ISSR DNA Fragments // Cytology and Genetics. 2018. Vol. 52, no. 2. P. 112–116. DOI: 10.3103/S0095452718020093
- Snegin E. A., Snegina E. A., Novomlinskaya T. A. The Genetic Structure of Populations of the Specially Protected *Androsace kozopoljanskii* Ovsz. Species under the Conditions of the Southern Central Russian Upland Based on DNA Markers // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2017a. Vol. 7, no. 6. P. 617–625. DOI: 10.1134/S2079059717060120
- Snegin E.A., Snegina E.A., Adamova V.V. et al. Ecological aspects of multi-locus variability of DNA markers in animals // International Journal of Green Pharmacy. 2017b. 11(3), P. 615–619. <https://doi.org/10.22377/ijgp.v11i03.1183>
- Soule M. E. What is conservation biology? // Bioscience. 1985. No. 35. P. 727–734.
- Waples R.S. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci // Conservation Genetics. 2006. Vol. 7, no. 2. P. 167–184. DOI: 10.1007/s10592-005-9100-y
- Waples R.S., Do C. Linkage disequilibrium estimates of contemporary N_e using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution // Evolutionary Applications. 2010. Vol. 3, no. 3. P. 244–262. DOI: 10.1111/j.1752-4571.2009.00104.x
- Wright S. The genetical structure of populations // Ann. Eugenics. 1951. 15. P. 323–354.
- Zhdanova O., Pudovkin A.I. Nb_HetEx: A Program to Estimate the Effective Number of Breeders // Journal of Heredity. 2008. Vol. 99(6). P. 694–695. DOI:10.1093/jhered/esn061

GENETIC STRUCTURE OF POPULATIONS OF THE ALIEN SPECIES *HELIX POMATIA* LINNAEUS, 1758 (HELICIDAE) IN THE SOUTH OF THE CENTRAL RUSSIAN UPLAND BASED ON MICROSATELLITE LOCI ANALYSIS

Snegin E.A.*, Sychev A.A., Artemchuk O. Yu., Snegina E.A.

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
e-mail: *snegin@bsuedu.ru

The genetic structure of alien *Helix pomatia* L. populations in the southern Central Russian Upland (Belgorod Region) and adjacent territories was studied using microsatellite DNA loci (SSR, STR). A total of the 156 individuals from seven populations were analyzed. One adventive group of *Helix thessalica* (Boettger, 1886) (20 individuals) inhabiting the study area was used for comparison. A total of the 20 alleles were identified in the five STR loci studied, of which six (30%) were private. Private alleles were found in four of the studied populations, constituting 50 % of their total number. On average, all groups showed low levels of genetic variability ($H_o=0.204\pm0.039$, $H_e=0.193\pm0.035$) and high rates of genetic originality ($F_{st}=0.467$, $\Phi_{st}=0.439$, $N_m=0.736$). With the help of two nonparametric methods: the Chao1-bc method and the first-order jackknife one, the potential genetic diversity was assessed, which was expected under increasing the amount of sampling ad infinitum (N_{max}). Three of the eight groups turned out to have very low both real and potential genetic diversity. The cluster analysis revealed two groups of *H. pomatia* populations that likely have different origins. The *H. thessalica* group (near the village of Yablonovo, Belgorod region), known since the end of the 19th century, is characterized by stable naturalization in the natural environment, has significantly distanced itself from the *H. pomatia* populations, confirming its species status. Calculation of effective population size using the *LD* method, the *HetEx* method, and the *MS* method revealed that, across all three calculation methods, significant results were obtained for only two populations (N_e varied from 0.6 to 4.8). Due to low genetic variability, N_e could not be calculated for the other groups. Deficiency in allelic polymorphism together with expressed genetic differentiation of samples under study is determined by effect of founder and genetic heterogeneity of initial lines. The reduction of effective size of populations N_e and parameters of genetic diversity points to a low adaptive potential and increased vulnerability of these groups to stochastic factors.

Keywords: *Helix pomatia*; *Helix thessalica*; Central Russian Upland; genetic structure of populations; STR markers.