

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Алазнели Иван Давидович

**Сохранение и восстановление популяций модельных видов
животных на урбанизированных территориях**

1.5.15 – Экология (Биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре общей экологии и гидробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

- Научные руководители:** **Смуров Андрей Валерьевич**,
доктор биологических наук, профессор
Макеева Вера Михайловна,
доктор биологических наук
- Официальные оппоненты:** **Маловичко Любовь Васильевна**,
доктор биологических наук, профессор
профессор кафедры зоологии института зоотехнии
и биологии Российского государственного
аграрного университета — МСХА имени К. А.
Тимирязева, г. Москва
Бекетов Сергей Валериевич,
доктор биологических наук
ведущий научный сотрудник лаборатории
сравнительной генетики животных Институт
общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской
академии наук, г. Москва
Остапенко Владимир Алексеевич,
доктор биологических наук, профессор
ведущий научный сотрудник научно-
методического отдела Московского
государственного зоологического парка, г. Москва

Защита диссертации состоится 26 ноября 2024 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета МГУ.015.3, созданного на базе ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по адресу: 119192, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, факультет почвоведения МГУ, аудитория М2. Тел./факс): +7 (495)939-24-67.

E-mail: paramonovata@my.msu.ru

Юридический адрес для отправки почтовой корреспонденции (отзывов): 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1.

Диссертация находится на хранении в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В.Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27). С информацией о регистрации участия в защите и с диссертацией в электронном виде можно ознакомиться на сайте: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3045>

Автореферат разослан: «_____» _____ 2024 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
МГУ.015.3, кандидат биологических наук

Т.А. Парамонова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В настоящее время антропогенно измененные территории составляют около 60% всех ландшафтов на планете, а в сильно урбанизированных регионах, таких как многие части Европы и Московская область доля территорий, подвергшихся антропогенной трансформации, может достигать 90% (Макеева, 2013; Ellis et al., 2013).

Одна из основных проблем, сопутствующих урбанизации – это фрагментация ландшафтов (Акатов, 2013; Miles et al., 2021). Антропогенная фрагментация ландшафтов – созданные антропогенным воздействием барьеры, такие как дороги, пашни, гидротехнические сооружения и прочие, блокирующие обмен генетической информацией между частями популяций, разделённых такими барьерами (Виноградов, 1998). Сильная фрагментация, вследствие снижения численности популяций и нарушения обмена генофондами, выводит дрейф генов и сопутствующий ему инбридинг на первое место среди генетических процессов в популяциях и значительно снижает роль естественного отбора (Звездина, 2017; Hartl et al., 2007; Paril et al., 2022). Основные эволюционные процессы, происходящие в популяциях во время изоляции – это дрейф генов и инбридинг (Дубинин, 1966; Алтухов, 2003; Miles et al., 2021). Эти процессы служат причинами снижения генетического и видового разнообразия в изолированных популяциях (Star et al., 2013). Отрицательное действие дрейфа генов приводит к обеднению генофонда, потере популяцией пластичности и снижению ее устойчивости к меняющимся условиям среды (Wright, 1922; Дубинин, 1931). Изолированные популяции фрагментированных ландшафтов с истощенным генофондом вымирают в течение нескольких поколений (Макеева и др., 2013). Исчезновение видов, входящих в экосистему, оказывает на нее значительное влияние, нарушает информационные и пищевые связи и приводит к разрушению всей экосистемы (Алазнели и др., 2021). На фрагментированных ландшафтах урбанизированных территорий сокращению генофонда так или иначе подвержены все популяции всех видов животных и растений.

Разработка методов быстрой оценки генетического разнообразия популяций фрагментированных ландшафтов урбанизированных территорий необходима для своевременного ответа на изменения в генофонде.

Внедрение методов восстановления обедневшего генофонда популяций необходимо для сохранения генетического разнообразия (Алтухов, 1997).

Исследование раскрывает особенности популяционно-генетической структуры модельных видов и подтверждает эффективность ранее разработанного и запатентованного «Способа поддержания жизнеспособности популяций животных или растений на урбанизированных территориях» (далее – «Способ»; Макеева, Смулов, патент №2620079, 2017).

Цель и задачи. **Целью** исследования является сравнительный анализ природных и экспериментально оздоровленных популяций кустарниковой улитки (*Bradybaena fruticum*, Mull.), обитающих в условиях фрагментированного ландшафта урбанизированных территорий Москвы и Подмосковья и оценка эффективности эксперимента, поставленного ранее В. М. Макеевой (Макеева и др., 2008; Макеева, Белоконов, Смулов, 2011). А также – проведение сравнительного анализа генетического разнообразия природных и искусственно созданных популяций лося (*Alces alces* L.), кабана (*Sus scrofa* L.) и некоторых наиболее распространённых пород свиней (*Sus scrofa domesticus*) для изучения действия дрейфа генов в изолятах.

Поставленные **задачи** заключаются в следующем:

1. Продолжение длительного эколого-генетического мониторинга и динамики состояния генофонда популяций кустарниковой улитки, начатого в 1975 году и сравнительный анализ популяций в Москве и Московской области в 2017-2019 гг.;
2. Анализ эффективности и долговременного эффекта Способа оздоровления генофонда популяций после получения результатов эксперимента по обогащению генофонда городских популяций, поставленного В. М. Макеевой в 2003 году с оценкой генофонда популяций при помощи фенотипических и генотипических маркеров до и после оздоровления;
3. Сравнительный анализ генофонда естественных и искусственно созданных популяций лося, кабана и ряда пород свиней, как хозяйственно значимых видов фрагментированных территорий.

Объекты исследования: популяции видов кустарниковая улитка (*Bradybaena fruticum*, Mull.), европейский лось (*Alces alces* L.), кабан (*Sus scrofa* L.) и некоторые породы свиней (*Sus scrofa domesticus*). **Предмет исследования:** популяционно-

генетическая структура популяций модельных видов, явление дрейфа генов в популяциях.

Научная новизна.

1. Получены результаты длительного эколого-генетического мониторинга, начатого в 1975 Макеевой В.М. и результаты проведённого эксперимента по оздоровлению ряда популяций модельного вида – кустарниковой улитки с использованием фенотипических и генетических маркеров;
2. Произведена валидация эффективности оздоровления модельных популяций с использованием разработанного Способа путём внесения особей из эталонных популяций;
3. Подтверждена возможность расчёта количества аллелей и числа особей необходимых для внесения в популяции для их оздоровления из эталонных популяций;
4. Выявлена ведущая роль генетических процессов (дрейфа генов, инбридинга) в изменении генетической структуры в популяциях фрагментированных ландшафтов, в первую очередь на урбанизированных территориях;
5. Разработаны рекомендации по сохранению генетического разнообразия исследованных популяций, внедрение которых позволяет увеличить экономический эффект эксплуатации хозяйственно важных видов животных.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая и практическая значимость работы состоит в освещении теоретически известных, но малоизученных на практике аспектов генетико-автоматических процессов на примере популяций модельного вида (кустарниковой улитки) и хозяйственно важных видов (лося, кабана, свиней) на фрагментированных территориях. Получены важные для сохранения биологического разнообразия данные, вносящие развитие в научно-практическое направление – Геноурбанологию (Макеева и др., 2005; Макеева и др., 2013).

Данные исследования могут быть использованы для оздоровления популяций животных, в особенности видов-эдификаторов и хозяйственно-значимых видов, не только урбанизированных территорий, но и на любых фрагментированных ландшафтах.

Методология исследования основывается на применении *in situ* экспериментов, общебиологических, экологических, популяционно-генетических, аналитических методов и статистического анализа результатов по общепринятым методикам.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В условиях фрагментированных ландшафтов, в особенности на урбанизированных территориях, одним из условий сохранения биологического разнообразия является проведение эколого-генетического мониторинга и использование генетических методов восстановления и поддержания жизнеспособности популяций;
2. Возможно осуществлять эколого-генетический мониторинг экономически эффективными недорогостоящими методами: правильным подбором аллелей или фенетических признаков, кодируемых отдельными генами;
3. Способ поддержания жизнеспособности популяций животных или растений на урбанизированных территориях для оздоровления генофонда популяций эффективен и его последствия долговременны. Возможно рассчитывать требуемые аллели и количество особей, необходимых для изъятия из эталонных популяций и внесения в популяции с истощенным генофондом в качестве оздоровления;
4. В условиях антропогенной (в первую очередь) фрагментации ландшафтов при небольшой численности не действие отбора, а случайные генетические процессы (в первую очередь дрейф генов), играют основную роль в эволюционном процессе и изменении генофонда популяций.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные результаты работы доложены на научных и научно-практических конференциях, конгрессах и съездах международного, всероссийского и регионального значений: XV Международная научно-практическая экологическая конференция "Биологический вид в структурно-функциональной иерархии Биосферы (г. Белгород, 8-12 октября 2018 г.); Ежегодная Всероссийская научная конференция с международным участием: Наука в вузовском музее (г. Москва, 2018-2023 гг.); VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы (г. Санкт-Петербург, 18-22 июня 2019 г.); XVI Международная научно экологическая конференция "Пространственно-временные

аспекты функционирования биосистем" посвященная памяти Александра Владимировича Присного (г. Белгород, 24–26 ноября 2020 г.); Ломоносовские чтения (г. Москва, 2021-2024 гг.); 10-ая Международная научно-практическая конференция «Экологические проблемы промышленных городов» (г. Саратов, 26-28 апреля 2021 г.); Всероссийская школа-семинар "Экологическая безопасность в условиях антропогенной трансформации природной среды" посвященная памяти Н. Ф. Реймерса и Ф. Р. Штильмарка (г. Пермь, 2022, 2023 гг.) и других.

Публикация материалов исследования. По результатам исследования опубликовано 9 печатных работ, в том числе 3 – в рецензируемых научных журналах из списков Scopus, Web of Science, RSCI.

Личный вклад автора. Автором изучен и обобщен большой объем литературы, самостоятельно проведены все этапы научного исследования, включая проведение сбора и обработки генетического материала, а также анализ полученных результатов с помощью современного программного обеспечения.

Вклад автора в работах составляет более половины. В работе [1] из 0,63 п.л. вклад автора составил 0,42 п.л., в работе [2] из 0,37 п.л. вклад автора составил 0,22 п.л., а в работе [3] из 1,0 п.л. вклад автора составил 0,56 п.л.

Благодарности. Настоящая работа была бы невозможна без помощи и активного участия многих коллег. Научных руководителей – д.б.н., проф. Смурова А.В., д.б.н., в.н.с. Макеевой В.М. Коллег из РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева – д.б.н. проф. Каледина А.П., к.б.н. Остапчука А.М. Сотрудников Лаборатории популяционной генетики Института общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН – д.б.н. Политова Д.В., Белоконь М.М., Белоконь Ю.С. А также Э.А. Снегина из Научно-исследовательского центра геномной селекции НИУ Белгородского государственного национального исследовательского университета. Коллеги активно содействовали в анализе материала, отработке методик исследований, обсуждении результатов, подготовке рукописей. Также благодарность выражается всем сотрудникам кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета за обсуждение работы на кафедральных заседаниях и ценные советы. Всем выражаю мою искреннюю благодарность и признательность.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора (Глава 1), материалов и методов (Глава 2), результатов и обсуждений (Глава

3), заключения с выводами, списка терминов, списка литературы и приложений. Диссертация изложена на 115 страницах, содержит 14 таблиц и 26 рисунков. Список литературы включает 220 источников, из которых 64 – на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Современные методы сохранения биоразнообразия

Основным методом сохранения биоразнообразия на данный момент является создание охраняемых территорий, таких как биосферные заповедники, национальные парки, государственные заказники и т.д. Несмотря на эффективность метода для контроля и защиты популяций, невозможно заключить в рамки охраняемых территорий все дикие популяции и методы мониторинга на многих ООПТ не дают возможности отслеживать состояние генофонда. Общая доля мировых охраняемых территорий составляет только 12,5%, и большая часть из них находится в России, но это не решает проблему фрагментации, происходящей повсеместно (Rodrigues et al., 2004). Другими известными подходами являются реинтродукция и создание экологических коридоров, но они не подходят для многих ситуаций и ни один из широко распространенных подходов не позволяет направленно восстанавливать генетическое разнообразие изолированных популяций (Подрубный, 2022; Гусев, 2022).

В.М. Макеевой и А.В. Смуровым был разработан новый метод сохранения генетического разнообразия популяций. Этим методом был «Способ поддержания жизнеспособности популяций животных или растений на урбанизированных территориях», применённый на практике в 2003 году (Макеева, 2005; Макеева, Смуров, 2017). Способ разработан для восстановления генофонда изолированных популяций. До разработки Способа на уровне видов и их популяций не существовало разработанной стратегии для поддержания экосистем и сохранением генофонда (Макеева, 2005).

1.2. Генетические процессы урбанизированных территорий

Устойчивость численности популяций в условиях изоляции зависит от изменений генофонда под действием дрейфа генов. Влияние дрейфа генов и

сопутствующего ему инбридинга становится тем сильнее, чем масштабнее фрагментация ландшафтов (Челомина, 2021).

Отмечается нарушение репродуктивной и сигнальной функций в изолированных популяциях (Никольский, 2020; Никольский, Ванисова, 2020; Rachel H Toczydlowski, 2023).

Длительный мониторинг популяций канарской дрофы (*Chlamydotis undulata fuertaventurae*) выявил существенное обеднение генофонда в связи с действием дрейфа генов, обусловленным антропогенными факторами (Norreo, 2023).

На наш взгляд, следует внедрять в учебные пособия информацию о важности ведения такой деятельности по эколого-генетическому мониторингу популяций и контролю генофонда, т.к. в данный момент эти вопросы в современных учебниках не освещены (Ивантер, 2019; Прохорова, 2022).

У разных типов животных наблюдаются аналогичные фундаментальные процессы и ответные реакции, наблюдаемые закономерности, в результате действия дрейфа и сопутствующего ему инбридинга. Следовательно, для оздоровления генофонда, восстановления продуктивных качеств и поддержания жизнеспособности популяций для таких разных групп допустимо использовать описываемый нами Способ.

1.3. Модельные объекты

1.3.1. Кустарниковая улитка

Кустарниковая улитка *Bradybaena fruticum* Müll. (1774), *Mollusca, Gastropoda* – лёгочная улитка, относящаяся к семейству *Bradybaenida*.

Выбор модельного объекта был обусловлен наличием у данного моллюска целого ряда факторов, удовлетворяющих требованиям задачи по генетико-экологическому мониторингу среды, изучению и оценке действия фрагментации и урбанизации на биоту (Макеева, 2008). На основе этого модельного объекта удалось проследить действие случайных генетических процессов в изолированных популяциях на фрагментированных ландшафтах. Среди важных для мониторинга факторов, отмеченных у *Bradybaena fruticum*:

1. Фенетические – наличие обусловленного генетически фенетического признака наличия или отсутствия полосы на раковине (с доминированием аллеля отсутствия полосы), полиморфность по цвету;

2. Экологические – быстрый ответ на антропогенное воздействие, быстрая смена поколений для возможности отслеживания нескольких поколений в мониторинге, эвритропность, широкий ареал, включающий всю Европейскую Россию;

3. Биологические – протандрический гермафродитизм, при котором нагляднее видно действие дрейфа генов, хорошая регенерация, позволяющая производить отбор проб для генетического анализа.

1.3.2. Европейский лось

Лось (*Alces alces* L.) — считается одним из основных охотничьих ресурсов в Российской Федерации, активно эксплуатируется на территориях многочисленных охотничьих хозяйств, населяет все естественные территории страны в пределах своего ареала и представляет интерес как перспективный хозяйственный вид. По данным последних учётов, на 1 апреля 2021 года в Российской Федерации числилось около 1 миллиона 263 тысяч лосей всех подвидов, а на 1 апреля 2022 года – около 1 миллиона 326 тысяч (ФГБУ «Центрохотконтроль»).

Несмотря на основную ценность в качестве охотничьего вида, в последние годы начинает активно развиваться и хозяйственное направление, где лосей используют на фермах для производства полезного и питательного продукта – молока (Жигулева и др., 2020).

На территории Сумароковской лосефермы, где происходит одомашнивание лосей, ещё в начале работ с лосем фиксировались особи с отклонениями и было отмечено, что «дальнейшее изучение и развитие генетики и селекции лосей необходимо как с точки зрения популяционного анализа, так и в связи с проблемой одомашнивания» (Баранов, 2008). Это подтверждает необходимость ведения мониторинга генофонда таких искусственных популяций.

1.3.3. Дикий кабан и породы свиней

Дикий кабан (*Sus scrofa* L.) — это один из важнейших охотничьих ресурсов в Российской Федерации, он распространён практически повсеместно на территории страны и имеет высокую хозяйственную и экономическую значимость. Одомашненный кабан положил начало домашней свинье (*Sus scrofa domesticus*),

которая несомненно является одним из важнейших хозяйственных ресурсов России. Для сравнительного анализа искусственных популяций домашних свиней в качестве изолятов и сравнения данных с диким кабаном и другими изученными видами, мы выбрали несколько наиболее распространённых пород свиней (Большая белая, Ландрас, Дюрок, Йоркшир). Наша гипотеза состояла в том, что на свиноводческих фермах происходят те же самые экологические и генетические процессы, что в изолированных популяциях на фрагментированных территориях. Снижение аллельного разнообразия может являться одной из основных причин жизнеспособности и продуктивных качеств свиней на фермах (Евдокимов, 2019).

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Территории исследования

Кустарниковая улитка. Для подтверждения и оценки эффективности примененного в 2003 году Способа был осуществлен сравнительный анализ популяционно-генетической структуры 10 популяций кустарниковой улитки. Из десяти популяций шесть относятся к особо охраняемым природным территориям города Москвы и четыре – к территориям Подмосковья. Всего на этих десяти площадках за период 2017-2019 гг. было изучено 1198 особей кустарниковой улитки, из них 444 было отобрано для исследования по 13 изоферментным локусам. После забора материала улитки были возвращены в место обитания. Учёт и сбор улиток происходил в период с 16.05.2017 по 26.08.2019.

Пункты сбора улиток в Подмосковье: природный заказник «Звенигородская биостанция МГУ и карьер Сима», деревня Городок на берегу Можайского водохранилища, деревня Мешково (Киевское шоссе, 2 площадки).

Пункты сбора улиток в Москве: национальный парк Лосиный остров (она же площадка Сокольники), природно-исторические парки (Измайлово, Кузьминки–Люблино, Битцевский лес), природные заказники (Воробьёвы Горы, усадьба Узкое).

Европейский лось. В рамках работы было исследовано 169 особей, отобранных из трёх популяций. Две популяции являются естественными и одна искусственно созданная для целей одомашнивания лося. Материал природных популяций был собран в охотничьих хозяйствах 12 районов Костромской и 10 районов Ярославской

областей. Искусственная популяция относилась к лосеферме Государственного заказника «Сумароковский» в Костромской области.

Дикий кабан и породы свиней. Всего было изучено 320 особей кабана и домашних свиней. Особи дикого кабана изучались в районах Орловской области. Породы домашних свиней изучались в популяциях с ферм Центрально-Чернозёмной области: Белгородская область (Дюрок и Ландрас), Курская область (Йоркшир), и Воронежская область (Большая белая).

2.2. Методика учета и сбора материала

Кустарниковая улитка. Сбор моллюсков производился с листьев и стеблей крапивы, а также с земли, с других растений и камней. Одновременно со сбором осуществлялся учёт численности улиток на площадках в один квадратный метр. Средняя численность популяции определялась по средней численности на трёх участках площадью 1 м².

Европейский лось. Для анализа популяций лося было собрано 66 образцов мышечной ткани от особей, добытых в охотничьих хозяйствах Костромской области и 83 образца мышечной ткани от животных, добытых в хозяйствах Ярославской области (Макеева, Алазнели и др., 2021). Для анализа искусственной популяции было отобрано 20 образцов волосяных луковиц шерсти лосей из лосефермы (Макеева, Алазнели и др., 2021).

Дикий кабан и породы свиней. Для изучения популяций кабана и пород свиней всего было собрано 320 образцов мышечной ткани (для дикого кабана) и ткани ушных раковин (для домашних свиней). Образцы тканей 30 особей дикого кабана были добыты в районах Орловской области. Также для анализа были собраны образцы тканей ряда пород домашних свиней из 4 популяций с ферм Центрально-Чернозёмной области: Дюрок – 67 особей, Йоркшир – 108 особей, Ландрас – 50 особей, Большая белая – 65 особей (Снегин, Алазнели и др., 2021).

2.4. Методика оценки фенотипических признаков

Для оценки популяционно-генетической структуры кустарниковой улитки особи отбирались случайным образом. Оценивались полиморфные фенотипические признаки, такие как цветовая морфа (красные, коричневые и желтые раковины), а

также признак наличия или отсутствия полосы на раковине. В качестве основного показателя разнообразия использовалась частота аллеля признака полосатых раковин.

2.5. Методика изоферментного анализа

В связи с тем, что фенотипические признаки генетически наследуются с доминированием и при анализе фенотипических признаков невозможно точно подсчитать количество гетерозигот, был проведён анализ полиморфных локусов ряда ферментов у кустарниковой улитки. Наследование данных ферментов происходит кодоминантно, поэтому на электрофореграмме ферментов можно видеть как доминантные, так и рецессивные аллели. Анализируемые ферменты были выбраны из-за их важности в метаболических процессах. Указанные ферменты жизненно необходимы большинству видов животных и потеря разнообразия в экспрессии этих ферментов может оказывать прямое влияние на адаптационные способности и выживаемость особей в популяции. Был применён метод выделения белков электрофорезом в крахмальном геле. Использовались маркеры по 13 полиморфным локусам 10 ферментов.

2.6. Методика анализа по микросателлитным локусам ДНК

Образцы мышц (3–5 г) и ушной ткани полученные от особей европейского лося, дикого кабана и пород свиней были помещены в пробирки и хранились в холодильнике при 18 °С. Волосяные луковицы фиксировались в 70% спирте. Образцы были собраны в период с 15 октября 2017 г. по 15 января 2018 г. ДНК выделяли с помощью набора DNA-Extran-2 (ООО «Синтол», Россия), согласно описанному в работе протоколу (Макеева, Алазнели и др., 2021; Снегин, Алазнели и др., 2021).

В качестве ДНК-маркеров для лося были использованы 9 микросателлитных локусов, а для кабана и пород свиней – 12. Полный список локусов представлен в тексте диссертации.

Глава 3. Результаты и обсуждение

3.1. Результаты анализа структуры популяций кустарниковой улитки

3.1. Результаты анализа фенетических признаков

3.1.1. Частота аллеля полосатости

Данные длительного эколого-генетического мониторинга частоты признака полосатости раковины за весь период наблюдений с 1975 по 2019 годы в 10 популяциях кустарниковой улитки за весь период мониторинга с 1975 по 2019 гг. показывают следующие результаты (Рис. 1). Наблюдается достоверное ($p < 0,01$) постоянство генетической структуры в крупных природных популяциях (Звенигород, Городок), и достоверные ($p < 0,01$) сдвиги частот аллелей в мелких изолированных городских популяциях (Воробьёвы Горы, Кузьминки, Лосиный остров) (Макеева, Алазнели, Смуров и др., 2019; Алазнели и др., 2019). Закрепление частоты аллеля в популяции Битцевский лес объясняется равновесием между силами отбора и случайными генетическими процессами – дрейфом генов и инбридингом (Алазнели и др., 2021).

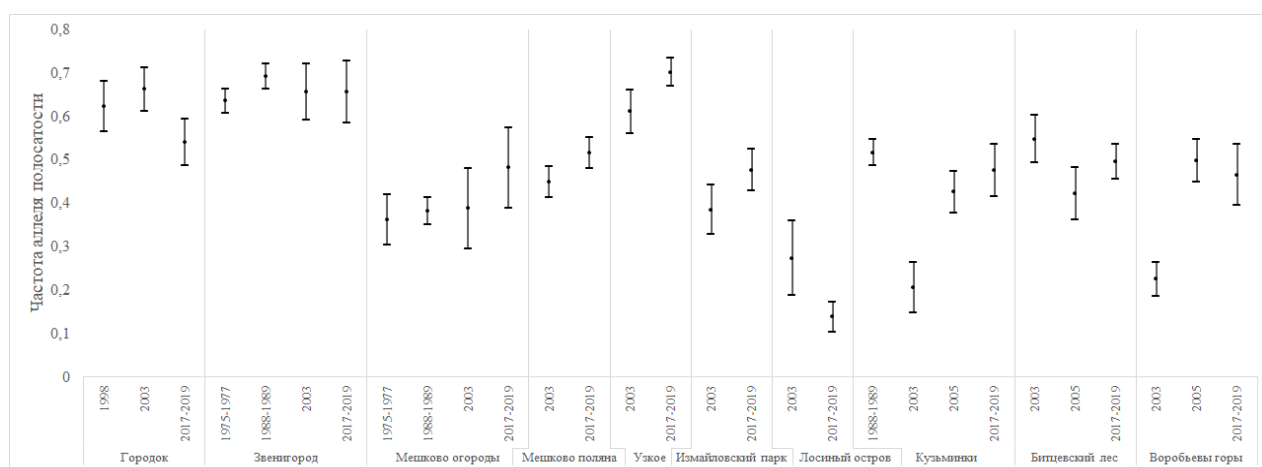


Рисунок 1. Динамика частоты аллеля полосатости в 10 популяциях кустарниковой улитки за 1975-2019 гг. (Makeeva, Alazneli et al., 2021)

3.1.2. Окраска раковин

Результаты оценки связи частоты светлых раковин улиток с биотопами показывают достоверное различие в частоте улиток с жёлтыми раковинами между затенёнными незатенёнными биотопами. От общего числа улиток незатенённых биотопов 27% имеют жёлтую окраску раковины, а для затенённых биотопов доля улиток с жёлтым окрасом раковины составляет 23%. К затенённым биотопам

отнесены популяции Городок, Звенигород, Узкое, Битцевский лес, а к незатенённым – все остальные (Макеева, 2008). Подтверждено увеличения частоты светлой формы в последующие года в сравнении с предыдущими контролями – в 2003 году доля улиток с жёлтыми раковинами составляла 12%, а в 2017-2019 годах она составляла уже 25%. Можно судить об отборе в сторону светлых форм в связи с осветлением ландшафта в процессе его антропогенной трансформации, так как это осветление явно наблюдалось с годами (Макеева, Смуров и др., 2019, Макеева и др., 2018, Макеева, Алазнели, Смуров и др., 2019).

3.2. Результаты контроля эксперимента по оздоровлению популяций

3.2.1. Частота аллеля полосатости

В 2003 году на основе рассчитанного коэффициента жизнеспособности был осуществлён эксперимент по оздоровлению ряда городских популяций (Кузьминки, Воробьёвы Горы, Битцевский лес) и в 2005 году был проведён первый контроль успешности оздоровления (Макеева и др., 2005). Для подтверждения успешности способа оздоровления в 2017-2019 гг. был осуществлён повторный контроль.

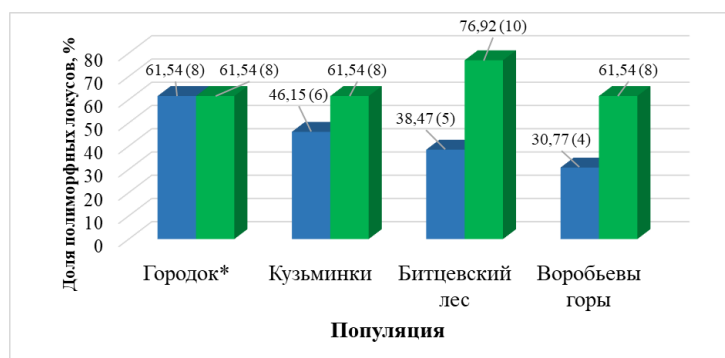
На Рисунке 1 показана динамика частоты аллеля полосатости за время наблюдений, где видно повышение частоты аллеля в популяциях Кузьминки и Воробьёвы Горы после оздоровления в 2003 году и небольшое понижение частоты в популяции Битцевский лес. В Таблице 1 приводятся данные оценки уровня достоверности различия частоты аллеля полосатости до (2003) и после эксперимента по оздоровлению (2005, 2017-2019 гг.) (Алазнели и др., 2019; Алазнели и др., 2021).

Различие между частотой аллеля полосатости раковины до оздоровления и при контроле в 2005 году достоверно подтверждено для всех популяций, а в контроле 2017-2019 гг. не наблюдается достоверного различия с контролем 2005 года, что говорит о долговременном закреплении частоты после оздоровления (Алазнели и др., 2021). Популяция Битцевский лес имеет достаточно крупный размер, что объясняет её стабильность близкую к природным. Достоверное снижение частоты аллеля полосатости в этой популяции объясняется действием отбора и закреплением равновесного значения частоты аллеля. Закрепление частоты аллеля полосатости раковин достоверно и статистически подтверждено ($p < 0,05$).

Таблица 1. Достоверность различия частоты аллеля полосатости до и после эксперимента по оздоровления (2003, 2005, 2017-2019 гг.) (Макеева и др., 2005; Алазнели и др., 2019; Makeeva, Alazneli et al., 2021)

Пункт сбора	Год	Численность		Частота		Достоверность различия года с 2005
		Всего	Полосатых	Полосатых	Аллеля	
Кузьминки	2003	94	4	0,0426	0,2063	0,999
	2005	170	37	0,2176	0,4665	–
	2017-2019	128	29	0,2266	0,4760	Различия нет
Битцевский лес	2003	160	48	0,3000	0,5477	0,95
	2005	129	23	0,1783	0,4222	–
	2017-2019	163	43	0,2638	0,5136	Различия нет
Воробьёвы Горы	2003	216	11	0,0509	0,2257	0,999
	2005	202	50	0,2475	0,4975	–
	2017-2019	97	21	0,2165	0,4653	Различия нет

На Рисунке 2 приведена доля полиморфных локусов изоферментов по 95%-ному критерию в оздоровленных популяциях кустарниковой улитки за 2017-2019 гг. в сравнении с 2003 годом, которая демонстрирует увеличение генетического разнообразия (Макеева, Алазнели, Смуров, Белоконь и др., 2019).



* Примечание: Городок – природная популяция.
Синий – 2003 год, зелёный – 2017-2019 гг.

Рисунок 2. Доля полиморфных локусов изоферментов и их число по 95%-ному критерию в оздоровленных популяциях кустарниковой улитки за 2017-2019 гг.

(зелёный) в сравнении с 2003 годом (синий), %

По результатам оценки количества гетерозигот по аллелю полосатости наблюдается постоянство числа гетерозигот в эталонных (Звенигород, Городок) и крупных (Битцевский лес) популяциях, но снижение их числа в изолированных популяциях небольшой численности с высоким антропогенным прессом (Кузьминки, Воробьёвы Горы), а также восстановление уровня гетерозиготности этих популяций после эксперимента по оздоровлению (Рис. 3).

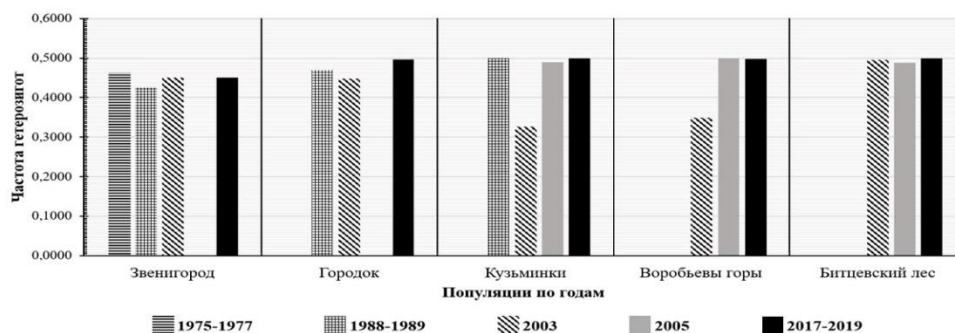


Рисунок 3. Частота гетерозигот по аллелю полосатости раковины кустарниковой улитки по годам (Макеева и др., 2005; Алазнели и др., 2019; Makeeva, Alazneli et al., 2021)

3.2.2. Уровень гетерозиготности и полиморфизма

Проведённый анализ данных по аллелям изоферментных локусов показал появление в оздоровленных популяциях новых аллелей в локусах Est-2 (*Est-2-9*, Мешково огороды и Узкое), Est-3 (*Est-3-4*, Измайловский парк), Pgm (*Pgm-3*, Кузьминки и Воробьёвы Горы), Lap-2 (*Lap-2-9*, Узкое) и Perca (*Perca-4*, Сокольники).

Для наглядности наблюдаемых изменений были составлены круговые диаграммы, на которых тёмным цветом показаны аллели, зафиксированные в 2003 году, а светлым цветом – аллели, появившиеся только после оздоровления (Рис. 4) (Макеева, Алазнели, Смуров и др., 2022).

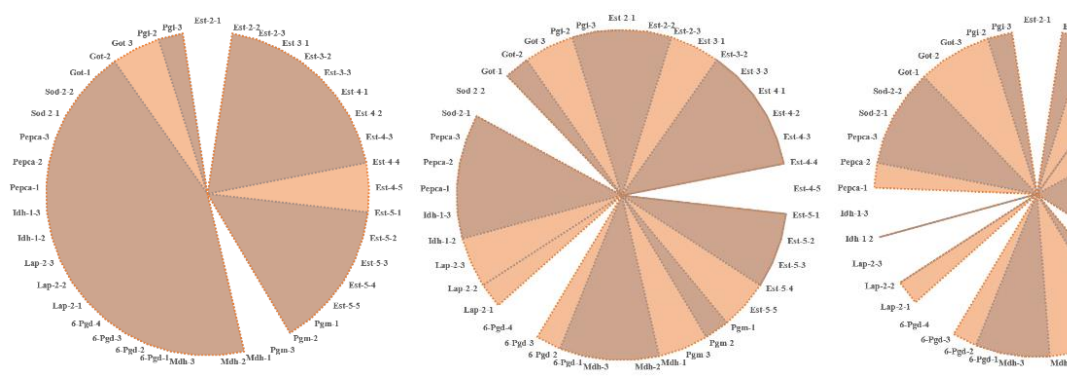


Рисунок 4. Новые аллели в популяциях после оздоровления

Отмечено появление двух новых аллелей в популяции Битцевский лес (первая диаграмма слева), семь новых аллелей в популяции Кузьминки (вторая диаграмма) и 10 новых аллелей в популяции Воробьёвы Горы (третья диаграмма).

Примечание: коричневый «■» – аллели до оздоровления в 2003 году, оранжевый «■» – новые аллели, появившиеся после оздоровления (2017-2019 гг.)

3.3. Результаты оценки уровня жизнеспособности популяций

Для дальнейшего подтверждения успешности эксперимента по оздоровлению и оценки необходимости в обогащении генофонда уже оздоровленных популяций была проведена оценка с использованием коэффициента жизнеспособности (Макеева, Смуров, патент №2620079, 2017).

Для расчёта с помощью коэффициента $Kж$ необходимо знать долю полиморфных локусов. Популяция не требует оздоровления при $Kж \geq 0,9$; популяция требует оздоровления при $0,9 > Kж > 0,5$; популяция требует срочного оздоровления при $Kж \leq 0,5$ (Макеева, Смуров, патент №2620079, 2017). Он рассчитывается по следующей формуле (1):

$$Kж = \frac{P_{г}}{P_{э}}, \quad (1)$$

где $P_{г}$ – доля полиморфных локусов в городских популяциях; $P_{э}$ – доля полиморфных локусов в эталонных популяциях.

Поэтому, на основе полученных результатов, была составлена таблица со значениями коэффициентов (Табл. 3).

Таблица 3. Оценка необходимости оздоровления популяций по состоянию на 2019 г. после эксперимента по обогащению их генофонда в 2003 г. и сравнение результатов с данными 2003 года.

Популяция	Доля полиморфных локусов		Коэффициент жизнеспособности	
	2003	2019	2003	2019
Звенигород (эталон)	61,54	76,92	1,0	1,0
Битцевский лес	38,47	76,92	0,6	1,0
Кузьминки	46,15	61,54	0,7	0,8
Воробьёвы Горы	30,77	61,54	0,5	0,8

Примечание: популяция не требует оздоровления при $Kж \geq 0,9$; популяция требует оздоровления при $0,9 > Kж > 0,5$; популяция требует срочного оздоровления при $Kж \leq 0,5$

Из таблицы наглядно видно, что если раньше популяции относились к остро нуждающимся в оздоровлении, то теперь они перешли в другую категорию.

На данный момент остро нуждающиеся в оздоровлении популяции отсутствуют. Повышение значения $Kж$ у оздоровленных популяций говорит о том,

что эксперимент помог внести достаточное количество новых аллелей для обеспечения генетического разнообразия и жизнеспособности практически на уровне природных популяций. Это служит прямым подтверждением эффективности разработанного Способа.

3.4. Результаты анализа других модельных популяций

В качестве дополнения к эксперименту с кустарниковой улиткой и подтверждения универсальности законов популяционной генетики, которые можно распространять как на беспозвоночных, так и на, к примеру, копытных, проведено исследование хозяйственно и охотничье значимых видов – европейского лося *Alces alces*, кабана *Sus scrofa* и пород домашних свиней *Sus scrofa domesticus*.

3.4.1. Европейский лось

В качестве расширения принципа комплексного эколого-генетического мониторинга была проведена оценка генетических параметров трёх популяций европейского лося. Две популяции относились к природным (Костромская и Ярославская), а одна популяция – искусственная, относящаяся к лосеферме Сумароковская в Костромской области (Макеева, Алазнели, Смуров и др., 2021; Makeeva, Alazneli, Smurov et al., 2020).

Анализ генетических показателей особей в лосеферме демонстрируют сильное снижение генетического разнообразия на лосеферме в сравнении с двумя природными популяциями (Табл. 4).

Таблица 4. Показатели внутрипопуляционной изменчивости 3 изученных популяциях лося из Костромской и Ярославской областей по 9 микросателлитным локусам (Макеева, Алазнели, Смуров и др., 2021; Makeeva, Alazneli, Smurov et al., 2020)

Популяция	N	N_A	N_e	H_o	H_e	F
Костромская природная	83	9,000 (0,943)	4,099 (0,512)	0,691 (0,066)	0,712 (0,051)	0,053 (0,056)
Костромская лосеферма	20	5,889 (0,696)	3,605 (0,275)	0,606 (0,080)	0,711 (0,020)	0,165 (0,100)
Ярославская природная	66	8,556 (0,530)	3,909 (0,408)	0,605 (0,061)	0,711 (0,043)	0,167 (0,060)
В целом	169	7,815 (0,492)	3,871 (0,492)	0,634 (0,039)	0,711 (0,022)	0,128 (0,043)

Примечание: N – размер в выборке; N_A – среднее число аллелей на локус; N_e – эффективное число аллелей, H_o – значение наблюдаемой гетерозиготности, H_e – значение ожидаемой гетерозиготности, F – коэффициент инбридинга, в скобках приведены ошибки по показателям SE.

Тест на гетерогенность аллельных частот показал, что все популяции достоверно различаются по 6 локусам, а природные достоверно отличаются между собой по 5 локусам, а искусственная отличается от природных по 5 локусам. Уровень потока генов ($N_m = 16,7$) показал, что сохраняется генетическое своеобразие двух природных популяций, что позволяет предположить, что они не являются генетически единой популяцией. Можно сделать вывод о том, что в искусственно созданной популяции генетическое разнообразие ниже и уровень разнообразия аллелей в 1,5 раза ниже, она нуждается в оздоровлении генофонда путём внесения материала из природных популяций.

3.4.2. Дикий кабан и породы свиней

Ожидаемо, в популяциях кабана наблюдались значительно более высокие показатели генетического разнообразия чем у одомашненных свиней. У кабана было выявлено 16 приватных аллелей (уникальных вариаций гена). Применяя критерий χ^2 ($p < 0,05$) мы оценили различие в разнообразии и выявили низкий уровень инбридинга, что было следствием более высокого показателя наблюдаемой гетерозиготности в сравнении с ожидаемой гетерозиготностью (Табл. 5). Также у всех пород свиней были обнаружены большие отклонения от равновесия по Хайди-Вайнбергу

Таблица 5. Показатели генетического разнообразия кабана и 4 пород домашних свиней (по 12 микросателлитным локусам ДНК) (Снегин, Алазтели и др., 2021)

Популяция	N	N_A	N_e	P	H_o	H_e	N_{ra}	F	I
Дюрок	67	6,917±0,802	2,913±0,396	91,7	0,525±0,079	0,569±0,068	1,083±0,336	0,076±0,076	1,191±0,157
Йоркшир	108	5,667±0,847	3,452±0,384	91,7	0,716±0,086	0,642±0,065	0,083±0,083	-0,128±0,104	1,287±0,156
Крупная белая	65	6,167±0,534	3,350±0,241	100,0	0,660±0,060	0,680±0,029	0,417±0,193	0,022±0,075	1,362±0,074
Ландрас	50	5,250±0,978	3,124±0,336	91,7	0,713±0,081	0,618±0,062	0,000	-0,175±0,101	1,201±0,147
Кабан	30	8,583±0,712	4,702±0,444	100,0	0,844±0,038	0,763±0,026	1,333±0,414	-0,106±0,033	1,717±0,091

Примечание: N – число особей в выборке; N_A – среднее число аллелей на локус; N_e – эффективное число аллелей, P – процент полиморфных локусов, H_o – средняя наблюдаемая гетерозиготность, H_e – средняя ожидаемая гетерозиготность, N_{ra} – среднее число приватных аллелей на локус, F – коэффициент инбридинга, I – индекс Шеннона.

Для поддержания породности животноводы на свинофермах поддерживают определённый состав аллелей и определённый уровень инбридинга (не выше 5%). Для контроля генетического состава популяций на фермах ведётся постоянный генетический мониторинг с применением ДНК-маркеров и других методов для строгого соответствия породе.

Заключение

Экология – это наука о взаимодействиях популяций между собой и с окружающей средой, а одной из основ взаимодействия популяций является обмен генофондом, который нарушается на урбанизированных территориях из-за изоляции, вызванной фрагментацией. В своей работе мы пытаемся показать, что современная экология невозможна без применения методов генетики. В урбанизированных условиях происходит сильное изменение структуры и свойств популяций, которые можно выявлять и контролировать только генетическими методами. Обеднение генофонда служит одним из основных факторов снижения устойчивости и снижения выживаемости в условиях антропогенного воздействия. В то же время оздоровление изолятов с малой численностью населения помогает поддержать их численность, разнообразие генофонда и жизнеспособность за счёт получения новых аллелей, что было доказано успешностью эксперимента по результатам исследования. Отдельно отметим, что под жизнеспособностью популяции здесь понимается срок её жизни в годах, который зависит от наличия аллелей, необходимых для поддержания разнообразия и для нормальной жизнедеятельности. Сходные действие случайных генетических процессов (дрейфа генов и инбридинга) как на изолированные городские, так и на природные, и на искусственно созданные популяции, подтверждает, что генетические процессы проходят едино для всех видов в разных условиях и приводят к аналогичным результатам (Макеева, Алазнели, Погожев и др., 2019; Макеева, Алазнели, Смуров, 2020; Макеева, Алазнели, Смуров, Каледин, 2022). Изоляты с малой численностью будут неспособны выживать в течение большого числа поколений. Поэтому в работе стоял вопрос не о вмешательстве в процессы видообразования популяций фрагментированных ландшафтов, а об обогащении их генофонда для увеличения пластичности и компенсации действия антропогенного пресса. Это ещё раз подчёркивает необходимость осуществления эколого-генетического мониторинга и важность оздоровления генофонда изолированных популяций, в первую очередь на урбанизированных территориях, где действует сильное антропогенное воздействие на все популяции и высок сопутствующий ему уровень фрагментации ландшафтов (Макеева, Алазнели, Погожев и др., 2019; Макеева, Алазнели, Смуров, Каледин, 2022).

Выводы:

По результатам проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Анализ популяционно-генетической структуры кустарниковой улитки в 2017-2019 гг., выявил постоянство частот аллелей фенотипических и генотипических признаков в крупных природных (эталонных) популяциях кустарниковой улитки, и хаотичность сдвига частот аллелей в изолятах с низкой численностью населения на урбанизированных территориях;

2. Выявлена ведущая роль генетико-автоматических процессов (дрейфа генов и сопутствующего ему инбридинга) в изменении структурно-функционального состояния генофонда популяций на фрагментированных территориях;

3. Экспериментально доказана эффективность и долговременный эффект предложенного ранее Способа поддержания жизнеспособности популяций на фрагментированных территориях, путём внесения рассчитанного количества особей из донорских эталонных популяций животных, по результатам проведённого в 2003 году эксперимента по оздоровлению популяций кустарниковой улитки и контроля в 2017-2019 годах;

4. Результаты исследования позволяют полагать, что считавшаяся ранее единой популяция европейского лося на самом деле представлена двумя, поэтому контроль и обогащение популяций охотничьих животных в охотничьих хозяйствах, подвергшихся фрагментации их территорий из-за антропогенного воздействия, очевиден и необходим для их устойчивости;

5. Генетическое разнообразие природных популяций лося и кабана находится на высоком уровне, тогда как генофонд искусственной популяции лося на Сумароковской лосеферме истощён и нуждается в оздоровлении – разнообразие аллелей ниже природных популяций более чем в 1,5 раза. Разнообразие на свинофермах поддерживается на уровне, необходимом для сохранения породности.

Практические предложения

Для сохранения биологического разнообразия необходимо включить эколого-генетический мониторинг на фрагментированных территориях и ООПТ в систему мероприятий по экологическому мониторингу.

Выявленное уменьшение генетического разнообразия популяции Сумароковской лосефермы указывает на необходимость её оздоровления путём внесения генетического материала. Увеличение уровня инбридинга в природных популяциях вследствие фрагментации требует осуществления контроля состояния генофонда природных популяций, особенно в охотничьих хозяйствах.

Научные статьи, опубликованные в журналах Scopus, WoS, RSCI:

1. Макеева, В. М. Результаты длительного мониторинга и эксперимента по обогащению генофонда популяций кустарниковой улитки *bradybaena fruticum* (Mull.) на урбанизированных территориях / В.М. Макеева, **И.Д. Алазтели**, А.В. Смуров и др. // Генетика. — 2021. — Т. 57, № 1. — С. 116–122. DOI: 10.1134/S1022795421010099 — Q4 — SJR (2023)– 0,19.

2. Снегин, Э. А. Генетическое разнообразие популяции центральноевропейского кабана (*sus scrofa scrofa*) и пород домашних свиней (*sus scrofa domesticus*) на основе микросателлитных локусов ДНК / Э.А. Снегин, **И.Д. Алазтели**, В.М. Макеева, А.П. Каледин и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2021. — Т. 25, № 8. — С. 822–830. DOI: 10.18699/VJ21.095 — Q2 — SJR (2023) — 0,33.

Snegin, E. A. Genetic diversity of the Central European wild boar (*Sus scrofa scrofa*) population and domestic pig (*Sus scrofa domesticus*) breeds based on a microsatellite DNA locus / E.A. Snegin, **I.D. Alazneli**, V.M. Makeeva, A.P. Kaledin et al. // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. — 2021 — Vol. 25 — №8 — P. 822–830. DOI: 10.18699/VJ21.095 — Q2 — SJR (2023) — 0,33.

3. Макеева, В. М. Сравнительный анализ генетического разнообразия естественных популяций лося (*alces alces* (L.)) из Европейской России и популяции Сумароковской лосефермы / В.М. Макеева, **И.Д. Алазтели**, А.В. Смуров, А.П. Каледин и др. // Экологическая генетика. — 2021. — Т. 19, № 4. — С. 303–312. — Q 4— SJR (2023) – 0,19.