

*На правах рукописи*



**МУЛЛАГУЛОВА ЭЛЬВИРА РАФИКОВНА**

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА И ПРИНЦИПЫ ОХРАНЫ  
МОЖЖЕВЕЛЬНИКА КАЗАЦКОГО (*JUNIPERUS SABINA* L.)  
НА ЮЖНОМ УРАЛЕ**

Специальность 03.00.16 – экология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Уфа 2009

Работа выполнена в Сибайском филиале Академии наук Республики Башкортостан

**Научный руководитель:** доктор биологических наук  
**Редькина Нина Николаевна**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук  
**Путенихин Валерий Петрович**

доктор биологических наук  
**Федоров Николай Иванович**

**Ведущая организация:** **Институт экологии Волжского бассейна РАН**

Защита диссертации состоится 25 декабря 2009 г. в 16-00 часов на заседании Объединенного диссертационного совета ДМ 002.136.01 при Институте биологии Уфимского научного центра РАН по адресу: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 69. Тел. /факс: (347) 235-53-62. E-mail: [ib@anrb.ru](mailto:ib@anrb.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии Уфимского научного центра РАН и на официальном сайте <http://ib.anrb.ru/sovnet.html>

Автореферат разослан 23 ноября 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук, доцент



Р.В. Уразгильдин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Популяционный уровень является наименее разработанным в области сохранения биоразнообразия (Миркин, Наумова, 1998; Fallon, 2007) – проблемы, отнесенной в последние десятилетия в разряд глобальных (Розенберг, 1998). По этой причине актуальным является исследование факторов, определяющих формирование и поддержание популяционных структур во времени и в пространстве. Древесно-кустарниковые растения в этом отношении выделяются своей спецификой (Политов, 2007), что необходимо учитывать при разработке мер сохранения природных популяций методами *ex situ* и *in situ* (Мамаев и др., 1994). У каждого вида в течение многих поколений под влиянием комплекса биоэкологических и средовых факторов складывается определенная структура внутривидовой изменчивости, игнорирование чего может привести к множеству отрицательных последствий (Алтухов, 1995).

Обитающие на Южном Урале виды можжевельника, ранее практически не изученные в популяционно-экологическом отношении, являются важными компонентами чрезвычайно уязвимых природных экосистем региона и имеют огромное значение для сохранения их целостности (Мулдашев, Кучеров, 2005). Среди них особо выделяется можжевельник казацкий – реликт Южного Урала, образующий, как и другие виды можжевельников (Коропачинский, 1983), множество морфологических и экологических форм. Ранее он был включен во 2-е издание Красной книги Республики Башкортостан.

**Цель и задачи исследований.** Цель данной работы - исследование популяционной структуры можжевельника казацкого *Juniperus sabina* и разработка принципов его охраны на Южном Урале. Для ее выполнения решались следующие задачи: 1) выявить полиморфные аллозимные локусы, информативные при описании структуры популяций; 2) исследовать популяционную структуру и факторы ее формирования, поддержания и устойчивости на популяционном уровне; 3) изучить клоновый состав в местообитаниях древовидной формы; 4) разработать принципы сохранения ресурсов можжевельника казацкого на Южном Урале на популяционной основе.

**Научная новизна работы.** Выявлены полиморфные изоферментные маркеры для *Juniperus sabina* L., а также для *J. sibirica* L. и *J. communis* Burgld., являющиеся информативными маркерами популяционного разнообразия данных видов. Установлено, что можжевельник казацкий в пределах Южного Урала обладает сравнительно высоким уровнем популяционного разнообразия. Его местообитания обладают относительно невысокой межпопуляционной дифференциацией по частотам аллелей и сравнительной близостью аллельных частот в пределах исследованного региона. Популяционные структуры сформированы под влиянием состава и величины клонов, имеющих в местообитаниях.

**Практическая значимость работы.** Полученные результаты могут быть использованы в качестве научного обоснования практических мер по

сохранению видов можжевельника на Южном Урале, в том числе в качестве базы для разработки соответствующих нормативных документов в области охраны природы ведомствами Республики Башкортостан. Материалы диссертации используются при ведении образовательной деятельности в Сибайском институте Башкирского государственного университета и Зауральском филиале Башкирского государственного аграрного университета по дисциплинам «Экология», «Ботаника», «Популяционная генетика», «Экологическая генетика».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Аллозимные маркеры являются эффективным средством при решении проблем изучения, сохранения и рационального использования растительных ресурсов видов можжевельника на Южном Урале – выявления популяционных структур, клонового разнообразия, идентификации генотипов.
2. Можжевельник казацкий на Южном Урале характеризуется относительно высоким сходством структуры популяций.
3. Уровни популяционного разнообразия и дифференциации популяций определяются в первую очередь составом клонов и долей их участия в местообитаниях.
4. Популяции с наибольшим клоновым разнообразием представляют первоочередной интерес при выборке объектов сохранения генофонда *in situ* и при отборе образцов для сохранения ресурсов вида *ex situ*.

**Обоснованность выводов и достоверность результатов работы** обеспечены достаточно большими объемами полевого материала и проведенных лабораторных экспериментов, использованием современных методов исследований, адекватных поставленным задачам и применением современных методов статистического анализа.

**Личное участие автора.** Работа выполнялась с 2005 года по 2009 г.г. в рамках плановой научно-исследовательской деятельности Сибайского филиала Академии наук Республики Башкортостан, по гранту АНРБ «Изучение генофонда можжевельника казацкого в Башкирском Зауралье и разработка мер по его сохранению» (2006-2007 г.г.). Автором лично проведены полевые и лабораторные исследования, осуществлены анализ и обобщение результатов.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации были представлены на международной научно-практической конференции «Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства» (Киров, 2007), всероссийской научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития инновационной деятельности в агропромышленном комплексе» (Киров, 2007), международной конференции «Биоразнообразие и биоресурсы Урала и сопредельных территорий» (Оренбург, 2008), региональных конференциях «Неделя науки» (Сибай, 2006, 2007, 2008, 2009), международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы дендрэкологии и адаптации растений», посвященной 80-летию со дня рождения профессора Ю.З. Кулагина (Уфа, 2009).

**Публикации.** Основные результаты диссертации приведены в 10 печатных работах, в т.ч. 2 - в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных работ.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы, включающего 219 наименований публикаций, в том числе 165 - зарубежных авторов и приложений. Основной текст изложен на 125 страницах, включает 10 таблиц и 22 рисунка.

Автор выражает глубокую признательность доктору биологических наук, профессору Янбаеву Ю.А. за консультации при интерпретации полученных данных, кандидату биологических наук Муллагулову Р.Ю. за помощь в сборе полевого материала и в проведении лабораторных экспериментов, а также ведущему научному сотруднику Института биологии УНЦ РАН, кандидату биологических наук Мулдашеву А.А. за его консультативную помощь и любезное разрешение использования гербарных материалов.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1. ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ НА ПОПУЛЯЦИОННОЙ ОСНОВЕ

Проведен анализ научной литературы по проблемам сохранения ресурсов растений на популяционной основе. Показано, что эффективная разработка и практическая реализация мер по охране растительных ресурсов зависит от исследования факторов, ответственных за формирование и поддержание их популяционной структуры. Обоснована эффективность молекулярных маркеров в исследовании этого уровня организации биоразнообразия (Янбаев и др., 2007). Приведены доказательства того, что в настоящее время во всем мире и России, благодаря широкому использованию изоферментных маркеров, исследована генетическая изменчивость большей части видов древесных растений (Политов, 2007). Для видов можжевельника подобных данных, в том числе с использованием аллозимов в качестве генетических маркеров, немного. Можно упомянуть работу Михеевой Н.А. и Муратовой Е.Н. (2005), посвященную кариологическому анализу популяций *Juniperus communis* L. из разных экологических условий. Лишь в последние годы появилось несколько публикаций зарубежных исследователей по изучению популяций можжевельников с применением аллозимных и ДНК-маркеров (Коршиков, Николаева, 2007; Man et al., 2000; Merwe et al., 2000; Terry et al., 2000; Adams, Pandey 2003; Oostermeijer, Knecht 2004; Meloni et al., 2006; Michalchik et al., 2006; Provan et al., 2008). Эти работы, носящие выраженный фундаментальный характер, тем не менее, позволили решить ряд практических задач по сохранению генофонда представителей *Juniperus* L. Показано, что для сохранения и рационального использования ресурсов *J. sabina* является актуальным изучение его формового разнообразия – у вида в настоящее время выделено 14 ценных форм (Мулдашев, Кучеров, 2005). Несмотря на сложность семенного размножения и малую эффективность отводкового способа, для

размножения форм можно использовать соответствующие технологии (Ермаков, 1975; Ровенская, 1982; Никитинский, Соколова, 1990).

## ГЛАВА 2. РЕГИОН, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Можжевельник казацкий *Juniperus sabina* L. семейства *Cupressaceae* является широко распространенным древесным видом с евроазиатским ареалом, обычно распространенным на высоте 1000-3300 м над у.м. Включен в международный список охраняемых видов (<http://www.iucnredlist.org/>, 2009). Двудомный диплоидный ( $2n=22$ , имеются анеуплоиды с 23 и 24 хромосомами (Муратова, Круклис, 1982)) стелющийся кустарник высотой 1-1,5 м, реже до 4 м (Мулдашев, Кучеров, 2005). Из-за способности к интенсивному вегетативному размножению быстро разрастается в ширину и образует плотные заросли. Аналогичные биоэкологические свойства проявляет *Juniperus sibirica* Burgsd. (Коропачинский, 1983; Князева, 2000), но он приурочен лишь к определенным условиям среды, в том числе на Южном Урале – к высокогорным областям. Древовидный *J. communis* L., как и *J. sabina*, является видом с очень широким экологическим диапазоном и большим ареалом (Ермолина, 2002). На Южном Урале можжевельники относятся к реликтовым элементам флоры доледниковой эпохи (Мулдашев, Кучеров, 2005).

Пробные площади закладывались по общепринятым методам в местообитаниях, наименее затронутых антропогенным влиянием, в которых представлены типичные места произрастания видов можжевельника в регионе, а также разные экологические условия их обитания. Для репрезентативного выбора мест отбора растительных образцов с использованием гербарных материалов Института биологии Уфимского научного центра РАН были построены карты местонахождений *J. sibirica*, *J. communis* и *J. sabina* в пределах Южного Урала. Исследованы 22 выборки на территории 9 административных районов региона, включающих местообитания Башкирского Предуралья, горно-лесной зоны РБ и Башкирского Зауралья (рис. 1.), в том числе 16 местообитаний *J. sabina* (названия пробных площадей начинаются с SAB). Два других вида - *J. communis* (4 местообитания, COM) и *J. sibirica* (2, SIB) – использованы для сравнения уровней аллозимного разнообразия и дифференциации популяций с можжевельником казацким.

Для электрофоретических анализов использовались ферменты вегетативных тканей можжевельников. Методы экстракции ферментов (Корочкин и др., 1977) и их электрофоретического разделения (Davis, 1964; Ornstein, 1964), адаптированные к объектам исследований, были описаны ранее (Янбаев и др., 2007). Для разделения изоферментов использован метод вертикального диск-электрофореза в 7.5 %-ном полиакриламидном геле с pH разделяющего геля 8.9 с трис-глициновым электродным буфером с pH 8.3. Гистохимическое выявление ферментов в гелях осуществляли по стандартным методикам с небольшими модификациями. Обозначение ферментов осуществлялось согласно одной из наиболее общепринятых номенклатур

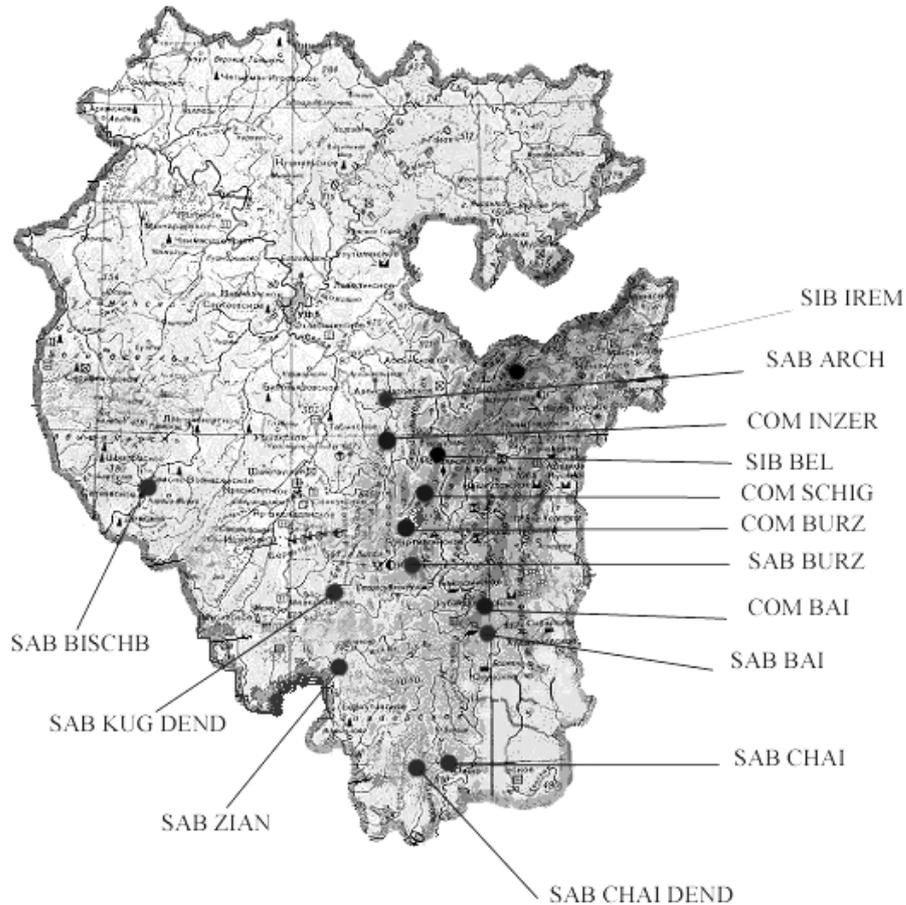


Рис. 1. Схема расположения популяций изученных видов можжевельника

(Prakash et al., 1969). Для анализа популяционной структуры использованы 9 полиморфных локусов, контролирующие синтез 7 ферментов. Для выдвижения и проверки гипотез о генетическом контроле ферментов проводилось статистическое тестирование различий выявленного распределения генотипов и их теоретически ожидаемых частот, а также использовались немногочисленные литературные данные об особенностях наследования изоферментов в целом, и аллозимов, в частности, у других видов можжевельника (Kelley, Adams, 1978; Коршиков, Николаева, 2007). Статистический анализ применен для обработки разнообразных вариационных рядов, а также результатов исследования популяционных параметров. С использованием компьютерных программ BIOSYS-1 (Swofford, Selander, 1981) и GSED (Gillet, 1998) проверялось соответствие наблюдаемых частот генотипов их распределению, ожидаемому по правилу Харди-Вайнберга, и достоверность различий выборок по частотам аллелей и генотипов (по стандартному  $\chi^2$ - критерию,  $G$ -тесту и с объединением генотипов в разные классы (Животовский, 1991)). Для определения уровней популяционного разнообразия применены общепринятые параметры - число и частота генотипов, частота аллелей, среднее число аллелей на локус  $A$  и доля полиморфных локусов  $P$  (по всем аллелям и аллозимам, встречающимся с частотами более 0.01 и 0.05), ожидаемая ( $H_E$ ) и наблюдаемая ( $H_O$ ) гетерозиготность, индекс фиксации Райта  $F$  (коэффициент инбридинга).

Для определения различий популяций вычислялись расстояние Нея  $D$ , а также показатели  $F$ -статистики Райта  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  и  $F_{ST}$  (Wright, 1969). Частота многолокусных генотипов для выявления клонового состава выборок определялась по программе GSED (Gillet, 1998). Для определения пространственной структурированности в пределах популяций использована программа автокорреляционного анализа Spatial Genetic Software SGS (Visual Basic V. 5.0). В качестве меры сходства особей популяции выбрано расстояние Грегориуса  $d$ .

### ГЛАВА 3. ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА *JUNIPERUS SABINA* L. НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

Сведения об использованных аллозимных локусах приведены в табл. 1. Все параметры разнообразия локусов (среднее число аллелей на локус у вида  $A=3.4\pm 0.4$ , ожидаемая гетерозиготность в среднем на выборку  $H_E=0.172\pm 0.020$ ,  $H_O=0.163\pm 0.020$ ) в целом соответствуют литературным данным (Hamrick et al., 1981) об уровнях изменчивости видов с близкими биоэкологическими свойствами. У *J. communis* в среднем  $A=2.9\pm 0.2$ . Некоторое снижение аллельного разнообразия может быть связано с большей изоляцией особей в популяциях можжевельника обыкновенного - меньшей их плотностью, по сравнению, например, с *J. sabina*. У *J. sibirica*  $A=2.8\pm 0.2$ .

Установлено, что между *J. sabina* и *J. communis* имеются существенные различия по составу и частотам аллелей (средние значения  $F_{ST}=0.555$ ,  $D=0.878$ ), подтверждающие видовой статус этих таксонов. В то же время дифференциация по набору и частотам аллозимов *J. communis* и *J. sibirica* не выходит за пределы межпопуляционного уровня. К сомнениям в таксономическом обособлении *J. sibirica* (Имханицкая, 1990; Quinn, 1993; Князева, 2000), таким образом, добавляются новые аргументы.

Установлены сравнительно большие различия популяций *J. sabina* по параметрам популяционного разнообразия (табл. 2). Между ними в целом выявляется относительно небольшой уровень подразделенности -  $F_{ST}=0.113$ , с изменениями по отдельным локусам от 0.065 до 0.216; значения  $D$  между парами выборок изменяются от 0.002 до 0.058. В некоторых местообитаниях полиморфными являются все использованные локусы, в других – большинство из них мономорфны. Это обусловлено, в основном, разной величиной и числом клонов в местообитаниях, как показал учет растений с уникальным набором аллозимов. Из 126 многолокусных генотипов, обнаруженных в генеральной совокупности особей, в каждой популяции генетически уникальным является  $74,8\pm 5.7\%$  из них (изменения в пределах 20-100 %%, коэффициент вариации 28,6 %).

Величина клонового разнообразия значительно меняется от популяции к популяции. Исследованные особи некоторых местообитаний по отдельным локусам были представлены преимущественно гетерозиготами, в других - гомозиготами.

Таблица 1

## Использованные ферменты, локусы и аллели

Фермент	Номер	Структура	Локусы	$N_a$
Диафораза	1.6.4.3.	Мономер	Dia-1	3
			Dia-2	3
Шикиматдегидрогеназа	1.1.1.25.	Мономер	Skdh-1	5
Лейцинаминопептидаза	3.4.11.1.	Мономеры	Lap-1	1
			Lap-2	3
6-фосфоглюко- натдегидрогеназа	1.1.1.44.	Димер	6Pgdh-1	3
Формиатдегидрогеназа	1.2.1.2.	Димер	Fdh-1	5
Глутаматдегидрогеназа	1.4.1.2.	Гексамер	Gdh-1	3
Неспецифические эстеразы	3.1.1...	Мономеры	Est-1	5

Примечание:  $N_a$  -число аллелей.

Таблица 2

Параметры аллозимного разнообразия в выборках *Juniperus sabina* L.

Выборки	$A$	$P$	$H_o$	$H_E$	$F$
Sab-Burz1	3.0 ± 0.3	100.0	0.300 ± 0.042	0.312 ± 0.048	+0.038
Sab-Burz2	2.4 ± 0.3	77.8	0.257 ± 0.075	0.255 ± 0.077	-0.008
Sab-Burz3	2.1 ± 0.3	77.8	0.250 ± 0.081	0.243 ± 0.058	-0.029
Sab-Burz4	1.9 ± 0.4	55.6	0.125 ± 0.051	0.173 ± 0.074	+0.260
Sab-Chai1	2.0 ± 0.2	77.8	0.273 ± 0.069	0.276 ± 0.065	+0.011
Sab-Chai2	1.2 ± 0.1	22.2	0.021 ± 0.015	0.033 ± 0.022	+0.363
Sab-Chai3	1.7 ± 0.2	55.6	0.111 ± 0.039	0.103 ± 0.035	-0.078
Sab-Chai4	1.8 ± 0.4	44.4	0.097 ± 0.040	0.091 ± 0.037	-0.066
Sab-Chai5	1.9 ± 0.3	66.7	0.160 ± 0.042	0.146 ± 0.038	-0.096
Sab-Zian	1.8 ± 0.2	66.7	0.090 ± 0.035	0.095 ± 0.036	+0.052
Sab-Bai1	1.4 ± 0.2	44.4	0.090 ± 0.040	0.115 ± 0.057	-0.162
Sab-Bai2	1.7 ± 0.2	55.6	0.139 ± 0.055	0.170 ± 0.066	+0.182
Sab-Bai3	1.9 ± 0.2	77.8	0.188 ± 0.045	0.224 ± 0.057	+0.160
Sab-Bishb	1.7 ± 0.2	55.6	0.179 ± 0.069	0.171 ± 0.069	-0.046

На дендрограмме (рис. 2), построенной на основе расстояний Нея, не выявляется каких-либо выраженных закономерностей размещения выборок. Например, 3 из 4 пробных площадей из территории Бурзянского района (группа Burz) входят в одну группу кластеров. Но относительные их различия выше, чем дифференциация некоторых выборок из разных природно-климатических зон Башкортостана. Например, Sab-Bishb из Бишбулякского района, группа Sab-Chai из Хайбуллинского района образовали довольно тесно связанные кластеры с выборкой Sab-Burz4. Но одна из хайбуллинских выборок (Sab-

Chai1, на рис. 2 не показана) отличается от других пробных площадей, в том числе из своего района, на уровне  $D=0.072$ . Причин отсутствия выраженных

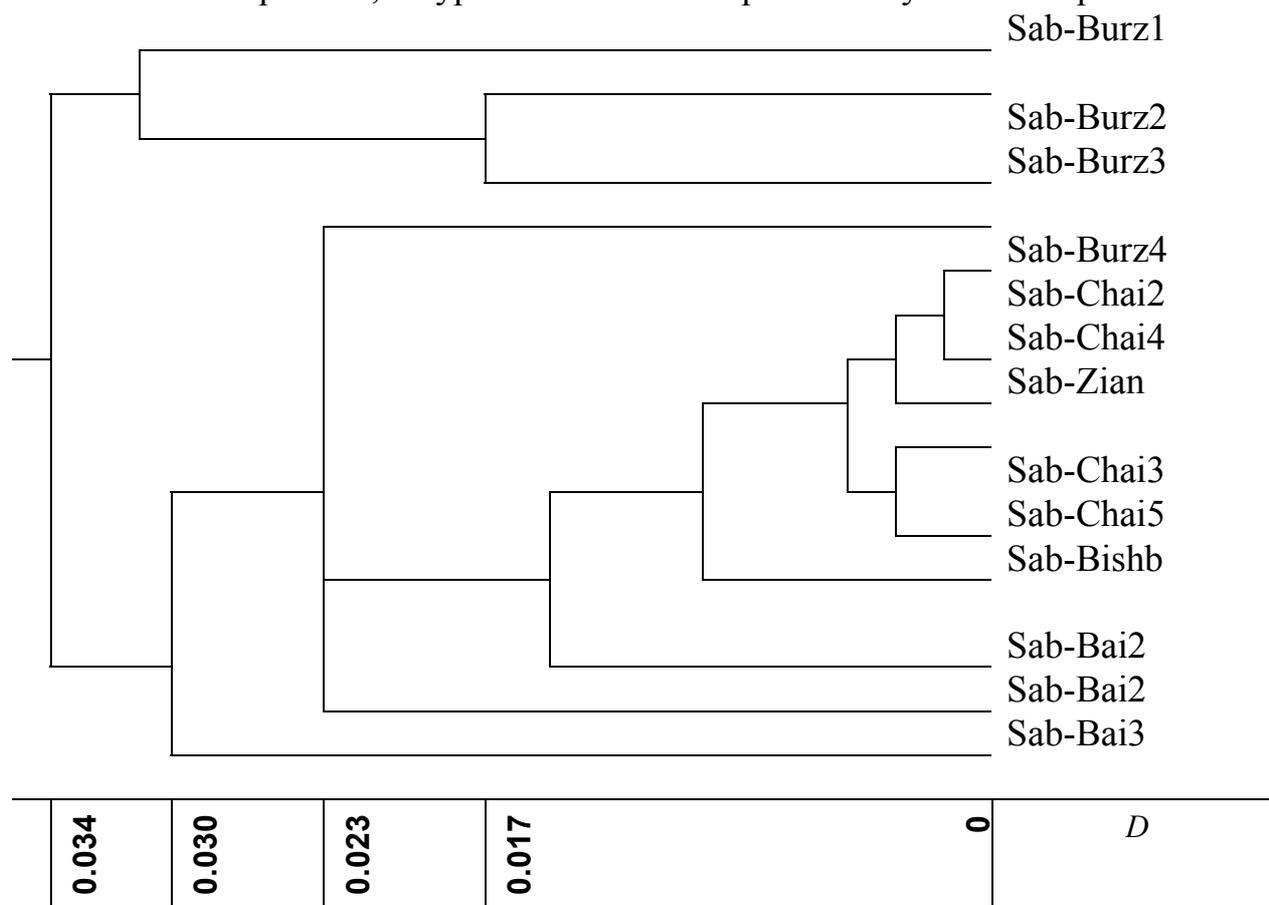


Рис. 2. Дендрограмма, показывающая сходство/различия выборок по частотам аллозимов

географических закономерностей в расположении выборок на дендрограмме может быть несколько. С одной стороны, дифференциация большинства выборок по частотам аллозимов настолько незначительна (различия кластеров и их групп, при исключении из анализа Sab-Chai1, лежат в пределах  $D=0.0019-0.0344$ ), что при распределении пробных площадей по кластерам становится относительно большой роль случайных факторов. С другой стороны, состав и встречаемость разных клонов вносит, видимо, более существенный вклад в формирование популяционных структур, чем градиент природно-климатических факторов и исторические связи между популяциями. Например, в Sab-Chai1 доля генотипа Skdh-1<sup>2/4</sup> составляет 45 % (имеются и гомозиготы Skdh-1<sup>4/4</sup>), в то время как в других он встречается единично. По этой причине частота аллеля 4 в ней 0.591, а в других местообитаниях он отсутствует или встречается с частотой 0.063-0.094. Лишь в выборке Sab-Burz1 его частота относительно высока (0.233).

Параметры аллозимного разнообразия наиболее высоки в выборке Sab-Burz1 вследствие сравнительно большого числа генетически уникальных клонов. Полиморфизм здесь определяется относительно большим разнообразием генотипов в локусах – их число изменяется от 2 (Dia-1, Lap-2), 3

(Gdh-1, 6Pgdh-1, Lap-1), 4 (Dia-2) до 5 (Est-1, Fdh-1, Skdh-1). Причиной высокого аллельного разнообразия Sab-Burz1 могут быть экологические условия данного местообитания. Они нетипичны – если большинство выборок *J. sabina* отобраны на каменистых и сухих склонах гор и холмов, растения Sab-Burz1 обитают в нехарактерных для вида экологических условиях – в пойменном лугу. Возможно, в этих условиях семенное размножение осуществляется более успешно, позволяя комбинировать по новому генотипы родительских растений местообитания, а также особей Sab-Burz2 и Sab-Burz3, расположенных на склоне и вершине ближней горы, за счет поступления от них пыльцы и заноса семян. Видимо, по этим причинам наблюдается выраженный «экологический тренд» популяционного разнообразия – его повышение с уменьшением высоты над уровнем моря.

В целом, *J. sabina* не испытывает существенного воздействия инбридинга на популяционную структуру (табл. 2). Отдельные случаи сравнительно высокого параметра  $F$  (индекса фиксации Райта, который вычисляется по соотношению  $H_E$  и  $H_O$ ) могут быть обусловлены статистическими причинами – в выборках Sab-Chai2 и отчасти в группе Sab-Bai абсолютные значения ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности близки и сравнительно низки. В условиях Башкирского Зауралья число и численность популяций относительно велики, а местообитания не настолько изолированы, чтобы проявился эффект инбридинга. Теоретически этот фактор может повлиять на формирование популяционной структуры лишь в Sab-Burz4 – местообитание расположено изолированно в центре нехарактерной для вида горно-лесной зоны в Бурзянском районе, а число куртин (=генотипов) не превышает нескольких десятков.

#### **ГЛАВА 4. ПРИНЦИПЫ СОХРАНЕНИЯ РЕСУРСОВ *JUNIPERUS SABINA* L. НА ЮЖНОМ УРАЛЕ**

На основе полученных результатов разработаны подходы, направленные на сохранение популяционного разнообразия в природных местообитаниях и рациональное использование ресурсов вида в условиях *ex situ* на популяционной основе.

Относительно высокое популяционное разнообразие и сравнительно низкая межпопуляционная подразделенность *J. sabina*, возможно, обусловлены как эколого-географической широтой ареала вида, так и его биоэкологическими свойствами, особенно способностью «консервировать» генофонд прошлых поколений благодаря эффективному вегетативному размножению. Кроме того, сокращение численности и объемов популяций и фрагментация местообитаний вида, наблюдающиеся в некоторых частях ареала, могли произойти лишь в исторически недавнее время, главным образом, в ходе сельскохозяйственного освоения горных степей и, таким образом, данный процесс не мог еще привести к соответствующему снижению популяционного разнообразия. Доказательством этого предположения является сбалансированность состава генотипов – статистически достоверные расхождения ожидаемых (по правилу

Харди-Вайнберга) и наблюдаемых распределений генотипов в популяциях не выявлены. Многие биоэкологические свойства *J. sabina* способствуют сравнительно высокому популяционному разнообразию и низкой дифференциации ее популяций. Среди них в первую очередь нужно упомянуть перекрестное опыление растения, высокую морфологическую изменчивость особей в популяциях, способность растения обитать в разнообразных экологических условиях, относительную устойчивость к экстремальным антропогенным факторам (например, перевыпасу). На основе всех этих аргументов можно сделать заключение о том, что *J. sabina* в пределах исследованного региона не требует принятия срочных мер охраны его биоразнообразия на видовом уровне. Полученные нами данные свидетельствуют о правомерности исключения вида из последнего издания Красной книги Республики Башкортостан. Можно рекомендовать, тем не менее, выделение эталонных участков, популяций с наиболее высоким клоновым разнообразием в качестве малых ООПТ и др.

При принятии решения о формах сохранения ресурсов *J. sabina* чрезвычайно важен популяционный подход. Перед электрофоретическими анализами для подтверждения правомерности этого утверждения на южном склоне горы в долине р. Зилаир нами было выбрано местообитание можжевельника казацкого, где на территории 1 га была проведена инвентаризация куртин растения с определением их общей высоты, площади и конфигурации. Специфика местообитаний *J. sabina* заключается прежде всего во фрагментарности его распространения. Куртины располагаются среди горных степей, лугов и скалистых обнажений в целом мозаично. Границы зарослей определяются, видимо, микрогетерогенностью среды (температурный и ветровой режимы, увлажненность и интенсивность освещения, развитость почвенного покрова и т.д.). На 1 га детально исследованной территории в Sab-Chi1 выявлено 32 куртины со средней площадью  $9.82 \pm 1.92$  кв.м. (с изменениями в пределах 0.6-26.6 кв.м., коэффициент вариации 78.3 %) и общей площадью 137.7 кв.м./га. Доминируют (91.35 %) округлые по форме (с соотношением сторон менее 2 : 1) и вытянутые куртины, а их распределение по площади близко к гиперболической кривой - преобладают участки небольшого размера. Установлено, что практически каждая небольшая куртина на пробной площади электрофоретически гомогенна по спектру изоферментов, т.е. представляет отдельный генотип. Видимо распространение можжевельника происходило в прошлом не только за счет увеличения размеров куртин из-за вегетативного возобновления, но и, в значительной степени, семенным способом. Дополнительным свидетельством этому заключению может быть соответствие наблюдаемых распределений генотипов их теоретически ожидаемым частотам. Несмотря на относительно малую численность выборки куртин, ни по одному из использованных изменчивых локусов не отмечалось нарушения правила Харди-Вайнберга, а популяционное разнообразие было высоким. При введении растения в культуру для отбора исходного материала необходимо использовать именно такие популяции с наибольшим клоновым разнообразием. Это, кроме представленности в условиях *ex situ* достаточно

большой части генофонда вида и его охраны вне природных условий, обеспечит широкую базу для проведения селекционных работ и использования можжевельника казацкого в качестве объекта озеленительных мер.

Особый интерес для сохранения и введения в культуру представляет обнаруженная ранее (Мулдашев, 2005) на территории Хайбуллинского района древовидная форма вида, с хвоей голубовато-зеленого цвета и достигающая до 4 м высоты, что придает ей перспективность в ландшафтном озеленении. В центре большой куртины, образованной можжевельником стланиковой формы, выявлено 7 экземпляров древовидных растений с относительно большим (до 20 см) диаметром на высоте груди. Установлено, что все они, а также большинство образцов, случайно отобранных по площади всей куртины от стланиковой и кустовидной форм, имеют один и тот же уникальный «многолокусный портрет». Это свидетельствует о принадлежности их к одному клону, гетерозиготному по локусам *Dia-1* и *Est-1*, но гомозиготному по *Aat-1*, *Gdh-1*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Lap-1*, *Lap-2*, *6Pgdh-1*, *Fdh-1* и *Skdh-1*. Лишь один образец был гетерозиготным по локусам *Fdh-1*, *Skdh-1*, *Lap-1*, *Lap-2* и *Est-1*, и гомозиготным – по *Dia-1*. То есть, куртина с древовидным можжевельником является гигантским клоном с небольшой примесью других генотипов. Таким образом, полученные результаты вносят существенные поправки к проведению работ по сохранению растения вне местообитания методами *ex situ*. Вместо проведения дорогостоящих, требующих больших затрат времени работ по перемещению и размножению всех древовидных растений достаточно будет ограничиться лишь одним их представителем.

Противоположная рекомендация имеет место в отношении древовидного *J. sabina* из другого, ранее не описанного, уникального местообитания на территории Кугарчинского района. В отличие от предыдущего примера группы древовидных можжевельников из Хайбуллинского района с их выраженной моноклональной структурой, в местообитании SAB-KUG-DENDR была выявлена поликлональная структура, где каждая особь характеризовалась своим уникальным многолокусным генотипом. Более того, популяция обладала нехарактерной для видов голосемянных растений выраженной пространственной структурированностью аллозимов (рис. 3). Статистически достоверный рост величины расстояния Грегориуса (показанный 4 из 5 использованных локусов) с увеличением физической дистанции означает, что растения, расположенные ближе друг к другу, являются генетически более родственными, чем любая случайно взятая пара.

Эти результаты свидетельствуют о том, что местообитание возникло преимущественно путем семенного размножения. Положительная автокорреляция разнообразия аллозимов может быть вызвана изолированностью древостоя и отсутствием поступления пыльцы извне. Уникальность структуры популяции требует ее охраны в форме ООПТ (памятника природы), а для введения в культуру древовидной формы с целью сохранения местообитания необходимо использование максимального числа особей.

Важность принятого популяционного подхода в сохранении ресурсов

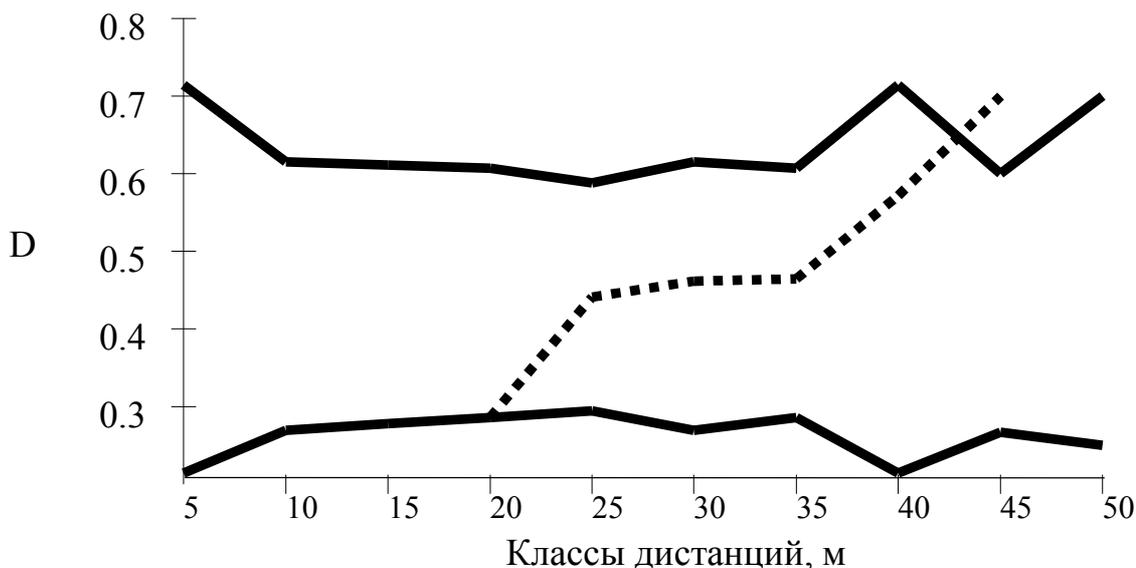


Рис. 3. Динамика в пространстве генетического расстояния по данным автокорреляционного анализа (локус Dia-1). Примечание: пунктирной линией показаны значения расстояния Грегориуса, сплошной – границы 95 %-ного доверительного интервала

можжевельника казацкого показана нами также на примере наиболее северной краевой популяции - местообитания *J. sabina* на территории Архангельского района РБ. Оно, находясь в окружении широколиственных лесов, расположено на расстоянии 150-200 км от основного ареала в пределах его южно-уральской части. В выборке растений все ферменты были мономорфными. Большая часть зон имела однополосные фенотипы. Только в FDH-1 у всех исследованных растений обнаружен трехполосный спектр изоферментов, который образуется гетерозиготными особями и локусами, кодирующими димерные ферменты. Последнее обстоятельство доказывает, что отсутствие изменчивости в выборке обусловлено формированием ее единственным генотипом, а не в результате дрейфа генов, обусловившим элиминацию большинства аллелей и фиксацию одного из них. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что исследованная выборка можжевельника казацкого на северном краю ареала (в пределах Южного Урала) представлена одним широко разросшимся клоном. Это обстоятельство требует учета в случае проведения работ по сохранению *ex situ* особей этого уникального местообитания. Без проведения данного анализа при интродукции следовало бы использовать выборку достаточно большого объема для обеспечения репрезентативности генофонда в новых условиях. Обнаруженная моноклональность местообитания позволяет ограничиться перемещением лишь одного представителя клона, сохранив при этом значительное количество средств, усилий и времени.

Полученные данные показали, что популяция Sab-Bishb, уникальность которой состоит в расположении в нетипичных условиях Предуралья в лесостепной зоне и существенном географическом отрыве от основной части

ареала растения, имеет мультиклональную структуру. Этот результат свидетельствует в пользу ее естественного происхождения или (что менее вероятно) использования в прошлом популяционного подхода при переносе растения на территорию Бишбулякского района. Таким образом, несомненно важна охрана данной популяции, имеющей разнообразный генофонд и адаптированной к нехарактерным для вида условиям Башкирского Предуралья.

Важность популяционного подхода продемонстрирована также на примере другого объекта. На вершинах хребта Ирандык (Баймакский район РБ) А.А. Мулдашевым были обнаружены небольшие, оторванные от основного ареала, местообитания можжевельников с необычными морфологическими параметрами. Объединенная выборка таких можжевельников, обозначенная СОМ-ВА1, сравнивались по аллозимам с типичными образцами *J. sabina*. На основе того, что сравниваемые выборки имели существенно различающиеся частоты многих аллелей (вплоть до отсутствия общих аллозимов), сделано заключение о принадлежности выборки к *J. communis*. Сравнение аллозимов растений данного местообитания с типичным можжевельником обыкновенным из местообитания на территории Белорецкого района (горно-лесная зона Республики) по общим 8 полиморфным у вида локусам Aat-1, Lap-2, Gdh-1, Skdh-1, Dia-1, Dia-2, Dia-3 и Est-2 показало достаточно высокое сходство их аллельного разнообразия. Конечно, растения в данном местообитании обладают некоторыми переходными габитуальными и морфологическими чертами к *J. sibirica* - приземистостью, относительно короткими и не сильно растопыренными иглками, некоторой их изогнутостью. Однако специфические экологические предпочтения последнего вида (высокогорья Южного Урала) и малая вероятность его выживания в засушливых горно-степных условиях предполагают меньшую вероятность принадлежности растений местообитания к *J. sibirica*. Выборка по средним параметрам популяционного разнообразия гораздо уступает растениям *J. communis* контрольного местообитания из Белорецкого района – у первой из них  $A=1.5 \pm 0.2$ ,  $P=0.50$ ,  $H_E=0.191 \pm 0.084$ ,  $H_O=0.175 \pm 0.086$  против  $A=2.5 \pm 0.2$ ,  $P=1.00$ ,  $H_E=0.364 \pm 0.042$ ,  $H_O=0.306 \pm 0.056$ . Особенно наглядна неравноценность двух популяций при попарных сравнениях. Выраженными являются и различия по частотам аллелей. Локусы, мономорфные у растений в местообитаниях на хребте Ирандык, изменчивы в другой сравниваемой выборке. Аллозимы трех локусов, доминирующие в одной популяции, являются более редкими в другой. По этой причине показатели межпопуляционной подразделенности растений из разных местообитаний составляют в среднем сравнительно высокие величины -  $F_{ST}=0.157$ ,  $D=0.139$ , значительно варьируя по отдельным локусам. Популяция *J. communis* из горно-степного местообитания имеет несомненную ценность как адаптированная к засушливым условиям Башкирского Зауралья и требует организации охраны в занимаемой природной среде. Процессы дальнейшего понижения уровня популяционного разнообразия и ухудшения генофонда можно предотвратить за счет трансплантации особей из одних местообитаний на хребте Ирандык в

другие – обмена ими. Учитывая, что выборки дифференцированы по частотам аллозимов, вплоть до фиксации разных аллозимов, это приведет к увеличению численности, оптимизации популяционной структуры и аллельного разнообразия.

## ВЫВОДЫ

1. Для описания структуры популяций *Juniperus sabina* L. информативными маркерами являются аллозимы полиморфных локусов Gdh-1, Dia-1, Dia-2, Est-1, Fdh-1, Lap-1, Lap-2, Skdh-1 и 6Pgdh-1.

2. Популяции видов можжевельника на Южном Урале обладают высоким уровнем разнообразия аллозимных локусов. Наибольший полиморфизм выявлен у *Juniperus sabina* L. (в среднем на полиморфный локус выявлены  $3.4 \pm 0.4$  аллелей, ) по сравнению с *Juniperus communis* L. и *Juniperus sibirica* Burgsd.

3. Для *Juniperus sabina* L. характерна относительно невысокая межпопуляционная дифференциация - коэффициент межвыборочной подразделенности  $F_{ST}=0.113$ , значения расстояния М. Нея  $D$  между парами популяций изменяются от 0.002 до 0.058. По частотам аллозимов вид существенно отличается от *Juniperus communis* L. ( $F_{ST}=0.555$ ,  $D=0.878$ ), различия которого с *Juniperus sibirica* Burgsd. не выходят за пределы межпопуляционного уровня.

4. Популяционное разнообразие и межпопуляционная дифференциация *Juniperus sabina* L. определяются, в основном, составом, встречаемостью и размерами клонов - генетически уникальными в каждой выборке являются 20-100 % изученных растений.

5. Генофонд *Juniperus sabina* L. на Южном Урале находится в относительно благополучном состоянии и не требуется принятия срочных мер по его охране на видовом уровне. Полученные данные свидетельствуют о правомерности решения об его исключении из нового издания Красной книги Республики Башкортостан.

6. Сохранение ресурсов *Juniperus sabina* L. в регионе необходимо в первую очередь осуществлять на популяционном уровне. Актуальными являются выделение и охрана в природных условиях популяций с наиболее высоким полиморфизмом, нетипичным генофондом и уникальным формовым разнообразием.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Муллагулова Э.Р. Генетическая дифференциация разновысотных выборок можжевельника казацкого / Муллагулова Э.Р., Редькина Н.Н., Муллагулов Р.Ю. // Материалы Всероссийской научно-практической

конференции «Проблемы и перспективы развития инновационной деятельности в агропромышленном производстве». – Киров, 2007. – С. 216-218.

2. **Муллагулова Э.Р.** О необходимости генетической инвентаризации для охраны редких и исчезающих видов растений / Муллагулова Э.Р., Байрамгулова З.Х., Редькина Н.Н. и др. // Вестник Башкирского университета. – 2007. №1. - С. 45-46.

3. **Муллагулова Э.Р.** К определению ресурсов можжевельника казацкого на хребте Ирандык / Муллагулова Э.Р., Редькина Н.Н., Муллагулов Р.Ю. // Материалы международной научно-практической конференции «Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства». (Киров, 22-25 мая 2007 г.). - 2007. – С. 305.

4. **Муллагулова Э.Р.** Сравнение таксономических единиц рода *Juniperus* L. / Муллагулова Э.Р., Муллагулов Р.Ю., Яхина Ю.Р., Тагиров И.Б. // Научные доклады региональной конференции «Неделя науки – 2006» (г. Сибай, 3-7 апреля 2006 г.) Ч.1. / Издание Сибайского института БашГУ. – Сибай, 2007. – С. 84 – 87.

5. Муллагулов Р.Ю. Клоновый состав у можжевельника казацкого на краю ареала / Муллагулов Р.Ю., Редькина Н.Н., Янбаев Ю.А., **Муллагулова Э.Р.** // Материалы международной конференции «Биоразнообразие и биоресурсы Урала и сопредельных территорий» (Оренбург, 29-31 мая 2008 г.). – Оренбург. – 2008. – С. 140-143.

6. **Муллагулова Э.Р.** Принципы сохранения генофонда растений и их зависимость от биоэкологических свойств видов / Муллагулова Э.Р., Байрамгулова З.Х., Музафаров А.М., Редькина Н.Н., Муллагулов Р.Ю. // Известия Оренбургского аграрного университета. – 2008. – С. 160 – 162.

7. **Муллагулова Э.Р.** Уникальная древовидная форма можжевельника казацкого на территории Кугарчинского района Башкортостана / Муллагулова Э.Р., Султангареева Л.А., Муллагулов Р.Ю. // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Социально-экономические проблемы Уральского региона Республики Башкортостан». – Уфа: РИЦ БашГУ, 2008. Ч.1. – С. 199-201.

8. Муллагулов Р.Ю. Полиморфизм можжевельника обыкновенного в нетипичном местообитании в Башкирском Зауралье / Муллагулов Р.Ю., Редькина Н.Н., **Муллагулова Э.Р.**, Мулдашев А.А // Материалы республиканской научно-практической конференции «Проблемы и перспективы конкурентоспособного воспроизводства в Башкирском Зауралье». - Уфа: РИЦ БашГУ, 2008. - Ч.3. – С. 119-123.

9. Муллагулов Р.Ю. Ботанические особенности естественных местообитаний видов можжевельника *Juniperus* L. на Южном Урале / Муллагулов Р.Ю., **Муллагулова Э.Р.** // Научные доклады региональной конференции «Неделя науки – 2009» (г. Сибай, 1-10 марта 2009 г.) Ч.1. / Издание Сибайского института БашГУ. – Сибай, 2009. – С. 16-18.

10. **Муллагулова Э.Р.** Изучение генетического разнообразия древовидной формы можжевельника казацкого на западном макросклоне Южного Урала /

Муллагулова Э.Р., Янбаев Ю.А. // Башкирский экологический вестник. – 2009. №2 (21). – С. 24-25.