

УДК 630*228+577.21

О ВЛИЯНИИ ФРАГМЕНТАЦИИ ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ НА ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ *Acer platanoides* L. В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

А. Р. Ахметов¹, С. В. Боронникова², Ю. А. Янбаев¹, Ю. И. Нечаева²

¹ Башкирский государственный аграрный университет
450001, Уфа, ул. 50-летия Октября, 34

² Пермский государственный национальный исследовательский университет
614990, Пермь, ул. Букирева, 15.

E-mail: bear.ah@mail.ru, SVBoronnikova@yandex.ru, Yanbaev_ua@mail.ru, ulia-2012@mail.ru

Поступила в редакцию 16.04.2021 г.

В Башкортостане, где сконцентрированы три четверти запасов клена России, на западном макросклоне гор Южного Урала клен остролистный (*Acer platanoides* L.) образует чистые кленовики или доминирует в составе широколиственных лесов. Но в Башкирском Предуралье вид представлен в составе этого типа растительности с относительно небольшим участием, а насаждения географически изолированы. С использованием ISSR-анализа ДНК проведен сравнительный анализ генетической изменчивости популяций, в разной степени фрагментированных в ходе многовекового хозяйственного освоения региона. В шести обследованных насаждениях с пятью использованными праймерами определена полиморфность у 77 из 96 маркеров (80.2 %). Установлены существенные различия кленовиков по уровню генетического разнообразия (доля полиморфных локусов варьирует в пределах $P_{95} = 0.323–0.662$, ожидаемая гетерозиготность $H_E = 0.052–0.148$, среднее число аллелей $n_a = 1.197–1.385$, среднее эффективное число аллелей = 1.105–1.261), его показатели существенно выше в лесничествах с относительно большой долей участия клена остролистного в составе насаждений. Обнаружена сравнительно большая дифференциация популяций по частотам ISSR-маркеров. Межвыборочная компонента генетической изменчивости имеет относительно высокий уровень в 60.1 % ($G_{ST} = 0.601$, по отдельным праймерам параметр изменяется от 0.523 до 0.676), что подтверждается сравнительно высокими попарными генетическими расстояниями. Нея между популяциями (изменяются от 0.129 до 0.347, в среднем $D = 0.272$). Кластеризация выборок и использование метода главных компонент показали, что близлежащие популяции обладают сравнительно сходными генофондами. Сделано заключение, что причиной выявленных в работе закономерностей может быть энтомофильность клена остролистного, что ограничивает поток генов между географически изолированными насаждениями и их группами. Обсуждаются вопросы применения полученных результатов в практике лесного хозяйства.

Ключевые слова: клен остролистный, ISSR-анализ ДНК, генетическое разнообразие, популяции.

DOI: 10.15372/SJFS20210406

ВВЕДЕНИЕ

Клен остролистный (*Acer platanoides* L.) – один из наиболее распространенных видов древесных растений широколиственных лесов Европы. Он имеет большое экономическое значение из-за ценной древесины и декоративности, но гораздо важнее – его экологическая роль (Caudullo, Rigo, 2016). Вместе со своими спутниками – дубом черешчатым (*Quercus robur* L.),

липой мелколистной (*Tilia cordata* Mill.), вязами гладким (*Ulmus laevis* Pall.) и шершавым (*Ulmus glabra* Huds.), этот клен является основой устойчивости и продуктивности широколиственных лесов, одного из наиболее флористически богатых типов лесной растительности Северного полушария (Горчаковский, 1972). На Южном Урале, где проходит восточная граница ареала, вид представлен в составе насаждений с относительно большим участием, а на

западном макросклоне хребтов часто образует чистые кленовики. Еще недавно в Республике Башкортостан он занимал почти 71 % площадей российских лесов с доминированием клена (263.2 из 379.9 тыс. га), запасы его древесины составляли 76.7 % (32 млн из 41.7 млн м³) (Букштынов, 1982).

В настоящее время в кленовиках Южного Урала наблюдаются неблагоприятные изменения, требующие научной проработки мер по их сохранению и восстановлению, в частности в возрастной структуре насаждений. Как и по всей России, где в среднем доля спелых и перестойных древостоев составляла 78.6 % (Букштынов, 1982), в регионе снижается доля молодняков и, как следствие, происходит общее сокращение кленовиков. Так, в 1966 и 1973 гг. площади образованных кленом остролиственным формаций в Республике Башкортостан составляли 271.0 и 266.6 тыс. га соответственно. В последнее время, согласно информации Лесного плана Республики Башкортостан (2018), из-за частичного замещения мягколиственными породами эти площади снизились до 160.64 тыс. га. Другой проблемой является территориально неравномерное сокращение кленовиков. Леса региона в настоящее время занимают 39.9 % территории. Оценка генезиса почв и определение площадей под лесными древесными растениями позволили сделать заключение о том, что не так давно около 72 % территории Башкортостана было занято лесами (Скляр, 1964). Лесистость горнолесных районов до сих пор доходит до 81.2–92.0 %. Очевидно, что почти двукратное снижение показателя по республике произошло в основном за счет обширного равнинного Башкирского Предуралья в ходе сельскохозяйственного освоения территории, интенсивно проведенного в прошедшем тысячелетии в лесостепной и лесной зонах Европейской части России (Нейштадт, 1957). Сокращение лесов особенно затронуло доминировавшие здесь широколиственные леса, в том числе кленовики. Согласно данным интерактивной карты «Леса России» (2021), в настоящее время насаждения с преобладанием клена занимают в Башкирском Предуралье, представляющем 2/3 территории региона, только 17 385 га (10.8 % площадей, занятых этой породой в Башкортостане). Здесь насаждения других широколиственных пород, в составе которых встречается клен, занимают также сравнительно небольшую часть (25.7 %, 368 928 га) районов Башкирии. В результате для древесных расте-

ний характерны все эффекты от фрагментации ареалов (Fahrig, 2003) – сокращение их общей площади при одновременном увеличении числа местообитаний, уменьшение размеров отдельных участков и возрастание их географической и, как следствие, репродуктивной изоляции популяций. В этих условиях ослабляется межпопуляционный поток генов, усиливается влияние на популяционную структуру дрейфа генов и инбридинга. Следствием этих процессов может быть обеднение генетических ресурсов, определяющих потенциал для адаптации к условиям среды (Kremer, Hipp, 2020). По этой причине становится актуальным исследование, в какой степени фрагментация кленовиков в Башкирском Предуралье отразилась на генетической дифференциации популяций и на их генетическом разнообразии. Известно, что генофонд любого вида представляет сложную пространственную систему популяционных элементов, которая, поддерживая генетическое единство, сохраняет высокий уровень гомеостаза всей системы (Алтухов, 1995). Отсюда другой вопрос – насколько изменилась в кленовиках исторически сложившаяся популяционная структура? Ответы на них могут в существенной степени определять необходимость, срочность, направления и формы лесоводственных мер по сохранению кленовиков и восстановлению их позиций.

Цель настоящей работы – провести сравнительный анализ генетических различий кленовиков Южного Урала, в разной степени затронутых фрагментацией в ходе антропогенной трансформации территории. В качестве метода использован ISSR-анализ ДНК (Zietkiewicz et al., 1994), за четверть века доказавший свою эффективность в решении таких задач.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для проведения исследования заложены шесть пробных площадей, представляющие насаждения северной, западной и южной частей южно-уральского фрагмента ареала клена остролистного в пределах Республики Башкортостан, протянувшейся с севера на юг на 550 км (рис. 1).

При отборе объектов для изучения мы воспользовались картой, составленной Г. В. Поповым (1980). В отличие от других карт, в которых представлены лишь доминирующие древесные породы, на ней показаны и насаждения, в которых клен остролистный занимает 0.3–0.1 ед. состава древостоев (на рис. 1 показаны штри-

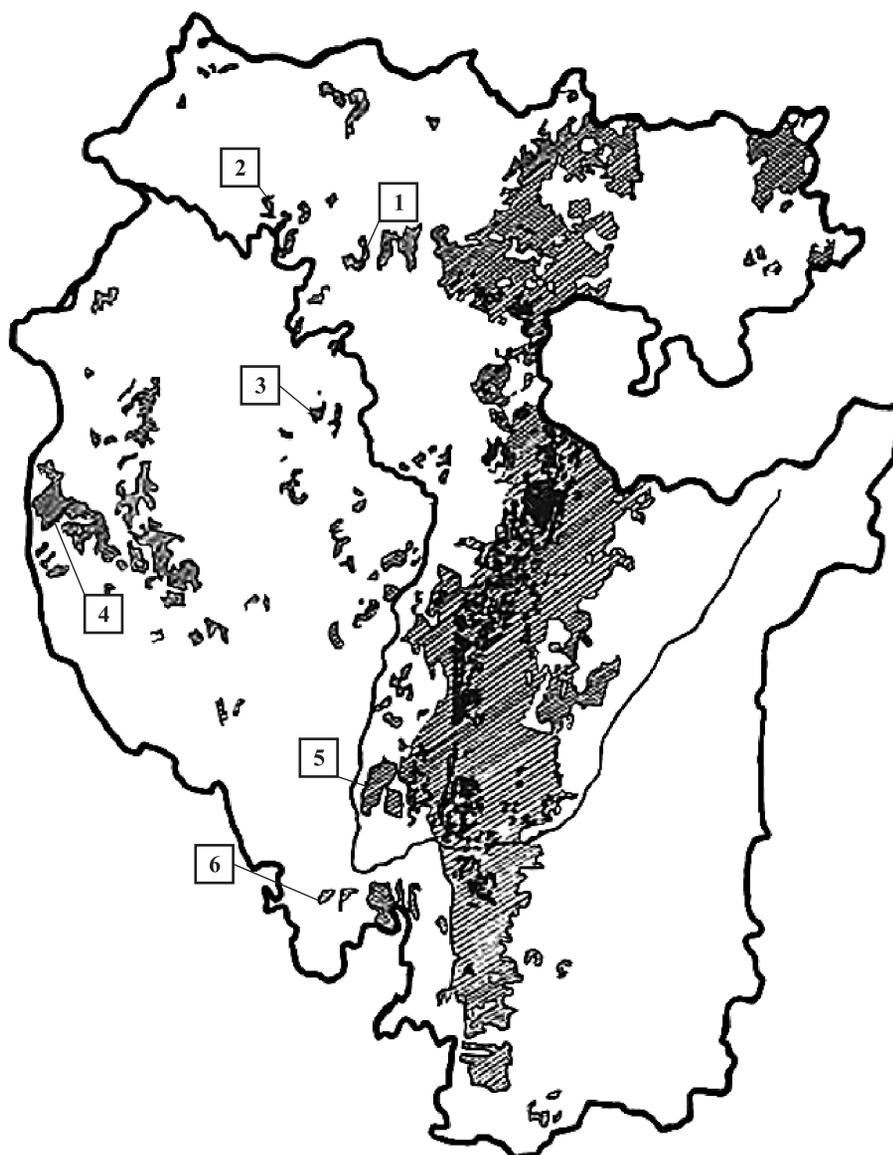


Рис. 1. Размещение кленовников и пробных площадей на картосхеме Республики Башкортостан. 1–6 – номера пробных площадей (см. табл. 1).

ховкой). Нами изучены кленовники, в различной степени затронутые антропогенной фрагментацией, с разным участием вида в составе широколиственных лесов (табл. 1). На каждой пробной

площади на расстоянии не менее 50 м друг от друга отобраны случайным образом по 32 дерева репродуктивного возраста, с которых собраны листья для лабораторного анализа.

Таблица 1. Сведения о лесничествах и местонахождении пробных площадей

Лесничество	Лесистость, %	Площадь, га		Пробная площадь	Географические координаты, с. ш./в. д.
		S1	S2		
Бирское	28.4	66 151	737	1. <i>Ap_Bs</i> 2. <i>Ap_Br</i>	55.590846/55.600944 55.990671/55.174831
Уфимское	16.7	91 465	2519	3. <i>Ap_Uf</i>	54.771547/55.731663
Туймазинское	18.3	82 293	4582	4. <i>Ap_Tm</i>	54.529813/53.590570
Стерлитамакское	14.4	104 40	1088	5. <i>Ap_Km</i>	52.781621/55.836891
Макаровское	75.2	166231	30960	6. <i>Ap_Sl</i>	53.245329/55.979297

Примечание. Площадь насаждений: S1 – спутников клена (липы, дуба, вяза гладкого и шершавого), S2 – клена.

Тотальную ДНК выделяли из высушенных листьев (100 мг с каждого дерева) по стандартной методике (Rogers, Bendich, 1985), модифицированной за счет добавления в качестве сорбента нерастворимого поливинилпирролидона. Анализ полиморфизма клена остролистного проведен у 190 проб ДНК с пятью наиболее информативными праймерами при помощи стандартной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для изучения дифференциации популяций клена остролистного амплифицированы 950 проб ДНК. Концентрацию и пригодность ее для ПЦР определяли на приборе спектрофотометр NanoDrop 2000 (производства Thermo Fisher Scientific, США) и выравнивали до 10 нг/мкл.

Лабораторные анализы проведены при помощи ISSR-метода (Inter Simple Sequence Repeats) (Zietkiewicz et al., 1994), который не предусматривает этапа клонирования и секвенирования фрагментов ДНК для подбора информативных праймеров, а спектры амплификации хорошо воспроизводятся в постоянных условиях реакции. Использованы пять наиболее информативных ISSR-праймеров клена остролистного (Янбаев и др., 2014), в том числе X10 (последовательность в направлении 5' → 3' (AGC)₆C, размер 180–1750 пар нуклеотидов – п. н.), M3 ((AC)₈CT, 150–2150 п. н.), M27 ((AG)₈C, 190–1020 п. н.), ISSR-10 ((ATG)₇C, 210–1040 п. н.) и CR-215 ((CA)₆GT, 140–650 п. н.). Для ПЦР применена реакционная смесь объемом 25 мкл, которая включала Tag-полимеразу (2 ед.), стандартный 10x буфер (2.5 мкл), праймер (25 пМ), Mg²⁺ (2.5 мМ), dNTP (0.25 мМ), тотальную ДНК (5 мкл). Амплификацию фрагментов проводили в приборе GeneAmp PCR, System 9700 (Applied Biosystems, USA) по стандартной программе: 2 мин предварительная денатурация при 94 °С, 20 с; первые пять циклов: при 94 °С, 10 с; температура отжига, 10 с.; 72 °С, 10 с; а в последующих 35 циклах: при 94 °С, 5 с; температура отжига, 5 с; 72 °С, 5 с. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72 °С. Температура отжига варьировала от 52 до 64 °С в зависимости от G/C-состава праймеров. В качестве отрицательного контроля для проверки качества реактивов в реакционную смесь вместо тотальной ДНК добавляли 5 мкл деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1.7%-м агарозном геле, приготовленном в 1x TBE буфере. Гели с фрагментами ДНК окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем УФ свете с использовани-

ем системы Gel-Doc XR (Bio-Rad, США). Длины ампликонов выявляли в системе типовой гель-документации Gel-Doc XR (Bio-Rad, USA) при помощи программа Quantity One и маркера молекулярной массы 100 bp+1.5+3 Kb DNA Ladder (ООО «СибЭнзим-М», Москва). Всего проанализированы 96 ISSR-PCR маркеров.

Анализ генетических данных проведен с помощью компьютерной программы POPGENE 1.31 (1999) и макроса GenAlEx6 для версии MS-Excel (Peakall, Smouse, 2006) с выявлением доли полиморфных локусов по 95%-му критерию полиморфности (P_{95}), абсолютного числа аллелей (n_a), эффективного числа аллелей (n_e), ожидаемой гетерозиготности (H_E). Генетическая структура и дифференциация популяций выявлены при определении ожидаемой доли гетерозиготных генотипов в общей популяции как меры общего генного разнообразия (H_T), ожидаемой доли гетерозиготных генотипов в отдельной популяции как меры ее внутривидового разнообразия (H_S); доли межвидового генетического разнообразия в общем разнообразии – показателя подразделенности популяций (G_{ST}) (Nei, 1975). Генетическое расстояние между популяциями (D) вычисляли по формулам М. В. Nei и W. H. Li (1979). На основе матрицы двойных признаков была создана матрица генетических различий популяций (Nei, 1972). На ее основании невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) с применением компьютерной программы Treecron 1.3b сформирована дендрограмма, отражающая степень сходства изученных популяций по спектрам амплификации. Кроме того, был использован анализ главных компонент (PCA – Principal Component Analysis), реализованный в программе GenAlEx6 (Orlaci, 1978).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе фрагментов ДНК, амплифицированных в результате ПЦР, в шести популяциях выявлены 96 ISSR-PCR маркеров, из которых 77 были полиморфными (доля полиморфных локусов $P_{95} = 0.802$). Установлена сравнительно большая информативность отобранных праймеров – в объединенной выборке каждый из них выявляет в среднем 15.4 ± 2.5 полиморфных маркеров (табл. 2).

В то же время число полиморфных маркеров в каждой отдельной выборке существенно ниже (на 44.2–74.0 %), чем у всех 190 изученных деревьев, и варьируется от 20 до 43 (в среднем

Таблица 2. Число полиморфных маркеров в популяциях клена остролистного

Пробная площадь	Праймеры				
	X10	M3	M27	ISSR-10	CR-215
<i>Ap_Bs</i>	4 (0.400)	12 (0.631)	5 (0.417)	5 (0.417)	5 (0.417)
<i>Ap_Br</i>	5 (0.417)	10 (0.500)	8 (0.533)	4 (0.400)	2 (0.181)
<i>Ap_Uf</i>	3 (0.273)	15 (0.833)	10 (0.714)	7 (0.700)	8 (0.615)
<i>Ap_Tm</i>	2 (0.181)	16 (0.727)	8 (0.500)	10 (0.714)	6 (0.545)
<i>Ap_Sl</i>	7 (0.467)	1 (0.100)	6 (0.462)	5 (0.385)	4 (0.364)
<i>Ap_Km</i>	4 (0.333)	4 (0.364)	4 (0.235)	3 (0.250)	5 (0.385)
В с е г о маркеров...	19	27	22	14	14
В том числе полиморфных	14 (0.737)	23 (0.852)	19 (0.864)	10 (0.714)	11 (0.785)
На общую выборку	0.133 (0.018)		1.813 (0.392)	1.465 (0.366)	

Примечание. В скобках приведены значения стандартных отклонений.

Таблица 3. Генетическое разнообразие популяций клена остролистного

Пробная площадь	P_{95}	H_E	n_a	n_e
<i>Ap_Bs</i>	0.540	0.077 (0.014)	1.299 (0.460)	1.127 (0.270)
<i>Ap_Br</i>	0.464	0.069 (0.012)	1.274 (0.448)	1.105 (0.225)
<i>Ap_Uf</i>	0.323	0.073 (0.014)	1.205 (0.406)	1.127 (0.283)
<i>Ap_Tm</i>	0.361	0.052 (0.011)	1.197 (0.399)	1.081 (0.208)
<i>Ap_Sl</i>	0.560	0.113 (0.015)	1.385 (0.489)	1.181 (0.289)
<i>Ap_Km</i>	0.662	0.148 (0.019)	1.385 (0.489)	1.261 (0.376)
На общую выборку		0.133 (0.018)	1.813 (0.392)	1.465 (0.366)

Примечание. В скобках – стандартные отклонения.

31.3 ± 3.9). Анализ генетического разнообразия популяций показывает существование двух групп – с относительно низкими и высокими его уровнями (табл. 3).

Первая из них представлена выборками клена остролистного *Ap_Bs*, *Ap_Br*, *Ap_Uf* и *Ap_Tm* из географически изолированных небольших по площадям фрагментов кленовников Башкирского Предуралья (см. табл. 1, рис. 1). Различия этой группы с кленовниками западного макросклона южно-уральских гор (пробные площади *Ap_Sl* и *Ap_Km*) составили по групповым средним значениям 30.9 % (P_{95}), 48.8 % (H_E), 10.2 % (n_a) и 9.1 % (n_e). Несмотря на небольшое число переменных, корреляционный анализ выявил существование статистически достоверной положительной связи площади кленовников в том или ином лесничестве (см. табл. 1) с эффективным числом аллелей ($p < 0.001$) и ожидаемой гетерозиготностью ($p < 0.05$). В пределах группы из Башкирского Предуралья у выборок *Ap_Uf* и *Ap_Tm*, представляющих районы с меньшей лесистостью (16.7 и 18.3 % соответственно), значения показателей генетического разнообразия заметно ниже, чем в кленовниках в районах рас-

положения пробных площадей *Ap_Bs* и *Ap_Br* (лесистость 28.4 %). Более низкая доля насаждений с доминированием клена остролистного в составе широколиственных лесов Бирского лесничества (1.1 % против 2.7 и 5.6 % в Уфимском и Туймазинском лесничествах соответственно) не привела к соответствующему понижению генетического полиморфизма.

При анализе генетической структуры установлено, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на общую выборку составляет $H_T = 0.276 \pm 0.019$, а в отдельной популяции по всем локусам она существенно ниже – $H_S = 0.111 \pm 0.009$. При этом каждый из использованных праймеров показал сравнительно близкие значения по параметрам как H_T , так и H_S (табл. 4). Вычисление коэффициента подразделенности выборок показало, что на межпопуляционную компоненту приходится 60.1 % всей генетической изменчивости ($G_{ST} = 0.601$).

Этот уровень генетической дифференциации сравнительно высок для региональных популяций. Показано (Kalubi et al., 2015), что при изучении девяти насаждений клена красного (*Acer rubrum* L.) для шести ISSR-праймеров

Таблица 4. Показатели генетической структуры и дифференциации шести популяций клена остролистного

ISSR-праймер	H_T	H_S	G_{ST}
X10	0.233 (0.043)	0.082 (0.010)	0.650
M3	0.231 (0.028)	0.107 (0.005)	0.536
M27	0.322 (0.029)	0.104 (0.007)	0.676
ISSR-10	0.304 (0.042)	0.122 (0.010)	0.598
CR-215	0.291 (0.047)	0.138 (0.015)	0.523
	0.271 (0.036)	0.108 (0.009)	0.601

Примечание. В скобках – стандартные отклонения.

Таблица 5. Матрица географических и генетических расстояний между выборками клена остролистного

Выборка	Ap_Bs	Ap_Br	Ap_Uf	Ap_Tm	Ap_Sl	Ap_Km
Ap_Bs	0	50	92	175	262	315
Ap_Br	0.220	0	141	188	309	361
Ap_Uf	0.235	0.215	0	137	167	220
Ap_Tm	0.294	0.284	0.163	0	211	246
Ap_Sl	0.267	0.356	0.292	0.360	0	54
Ap_Km	0.335	0.374	0.247	0.320	0.129	0

Примечание. Географические (в км) и генетические расстояния приведены выше и ниже диагонали соответственно.

показатель был меньше не менее чем в 2 раза ($G_{ST} = 0.280$). Сравнительно высокая дифференциация башкирских популяций клена остролистного подтверждается при вычислении генетических расстояний между ними. В среднем $D = 0.272 \pm 0.019$. Показатель варьируется в относительно высоких пределах – от 0.129 до 0.347 (табл. 5).

При этом сравнительно близко расположенные выборки менее дифференцированы: $D = 0.129$ (пара Ap_Sl/Ap_Km), $D = 0.163$ (Ap_Uf/Ap_Tm) и $D = 0.220$ (Ap_Bs/Ap_Br).

Наибольшая дивергенция по генетической структуре отмечена между кленовниками горно-лесной части Южного Урала и Башкирского Предуралья. Выборки Ap_Km и Ap_Sl отличаются от других на уровне $D = 0.319 \pm 0.016$.

Генетические расстояния в группе предуральских популяций составляют $D = 0.235 \pm 0.020$. Построенная дендрограмма и анализ главных компонент подтвердили эти закономерности и показали существование локальных групп популяций в пределах исследованной части ареала клена остролистного (рис. 2, 3).

Данные литературы показывают, что ISSR-анализ ДНК является информативным средством для проведения исследований популяций древесных растений в интересах лесного хозяйства, в том числе по ведению хозяйства в кленовниках, например для североамериканских кленов красного и серебристого (*Acer saccharinum* L.), которые легко скрещиваются между собой в природных условиях. Метод позволил идентифицировать межвидовые гибриды и оценить темпы

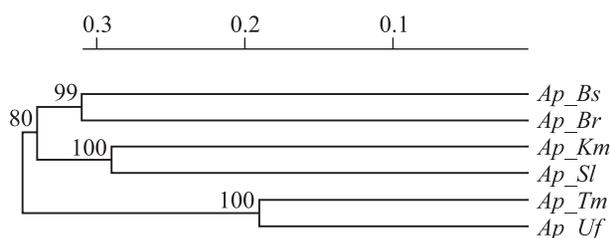


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства изученных популяций клена остролистного.

Шкала сверху – генетическое расстояние по М. В. Nei и В. Н. Ли (1979); на дендрограмме цифрами указаны значения бутстрепа (в %).



Рис. 3. Ординация изученных популяций клена остролистного с помощью анализа главных компонент, полученная на основании Φ_{PT} -матрицы генетических расстояний между выборками.

интрогрессивного скрещивания (Boyd et al., 2019). Имеются свидетельства, что выявленные нами закономерности сравнительно высокой межпопуляционной дифференциации и пространственной структурированности популяций характерны и для других видов рода. У клена трехлопастного (*Acer monspessulanum* L.) из Ирана значения G_{ST} для 19 природных популяций варьировались от умеренных до высоких (Motahari et al., 2021). Авторы связывают этот феномен с ограничением межпопуляционного генетического потока. Они также выявили кластеризацию популяций на 4–5 групп в соответствии с географическими расстояниями между насаждениями. Такая информация о состоянии лесных генетических ресурсов должна учитываться при разработке и реализации научно обоснованной стратегии развития лесной селекции и лесного семеноводства, при осуществлении лесосеменного и лесокультурного дела, выделении, создании и эксплуатации объектов Единого генетико-селекционного комплекса (Тараканов и др., 2021).

В данной работе на основе ISSR-маркеров установлены две основные закономерности. Первая заключается в существовании локальных групп популяций (что доказывается большей близостью генофондов в парах насаждений *Ap_Bs/Ap_Br*, *Ap_Tm/Ap_Uf* и *Ap_Km/Ap_Sl*). Это обстоятельство необходимо учесть при организации лесосеменных и лесокультурных работ. Лесосеменное районирование для клена остролистного разработано (Лесосеменное районирование..., 1982). Тем не менее общие принципы, примененные при этом для других древесных растений (ориентация при ограничении районов и подрайонов на сходство генотипического состава и на сохранение естественно-исторически сложившейся популяционной структуры видов, учет этих факторов при переброске семенного материала, предпочтение семян местных популяций, наиболее адаптированных к локальным природным условиям и др.), подходят и для изученного нами вида. Соответственно в исследованной нами территории можно было бы выделить несколько единиц системы лесосеменного районирования. Для выявления их оптимального числа актуальным является расширение сети изучаемых насаждений. Исследованные кленовики относятся к разным лесным районам – лесостепному району Европейской части Российской Федерации (примеры – пробные площади *Ap_Km*, *Ap_Bs*, *Ap_Tm*), району хвойно-широ-

колиственных (смешанных) лесов Европейской части Российской Федерации (*Ap_Br*), Южно-Уральскому лесостепному району (*Ap_Uf*, *Ap_Sl*). Полученные нами данные показывают, что популяционная структура клена остролистного не совпадает с лесным районированием Республики Башкортостан, что можно учитывать при осуществлении лесохозяйственной деятельности.

Вторая выявленная в работе закономерность – существенно обедненный генофонд в географически изолированных кленовиках Башкирского Предуралья по сравнению с западным макросклоном гор Южного Урала, где сконцентрированы основные массивы кленовых лесов. Возможной причиной таких различий может быть масштабная фрагментация широколиственных лесов в равнинной части Башкортостана в ходе его хозяйственного освоения. У субпопуляций энтомофильного клена остролистного в этих условиях возможности для воспроизводства генофондов за счет потока генов извне и обмена ими между собой могут резко снизиться или исчезнуть. Выявленная закономерность не является уникальной для клена остролистного. Например, при сравнении насаждений эндемичного в Центральной Америке клена гватемальского (*Acer skutchii* Rehder) с использованием 161 AFLP- и 15 микросателлитных локусов также было установлено, что структура популяций контрастно различается, а со снижением размеров популяций их генетическое разнообразие существенно уменьшается. Видимо, сделанные в этой работе рекомендации можно использовать и для клена остролистного изученного нами региона. Первую из них (выбор наиболее полиморфной популяции в качестве опорной при сохранении генетических ресурсов *in situ*) можно рекомендовать в чистых, наиболее продуктивных кленовиках западного макросклона гор Южного Урала с высоким генетическим разнообразием (примеры – насаждения *Ap_Km* и *Ap_Sl*). Другая рекомендация (объединение генофондов локальных малых популяций при сохранении и использовании генетических ресурсов вида *ex situ*) применима для клена остролистного из географически изолированных и небольших по площадям фрагментов широколиственных лесов равнинного Башкирского Предуралья. Использование в этих целях генетических ресурсов популяций горно-лесной зоны Башкортостана может оказаться неприемлемым из-за выраженных различий этих двух территорий по лесорастительным условиям, но это возможное ограничение требует отдельного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В Республике Башкортостан, где сосредоточены основные запасы кленов России, выявляются две группы популяций клена остролистного. На западном макросклоне гор Южного Урала, где вид образует сплошные насаждения и часто доминирует в составе древостоев, сохранился сравнительно высокий уровень генетического разнообразия популяций. В то же время оно существенно ниже в Башкирском Предуралье в небольших по площади насаждениях широколиственных пород с участием клена остролистного. В регионе отмечается локальная пространственная структурированность генофондов популяций. Выявленные закономерности представляют интерес для учета при планировании и ведении лесохозяйственной деятельности.

Работа выполнена в рамках государственного задания № FSNF-2020-0008 ФГАОУ «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (REFERENCES)

- Алтухов Ю. П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика. 1995. Т. 31. С. 1333–1357 [Altukhov Yu. P. Vnutrividovoe geneticheskoe raznoobrazie: monitoring i principy sohraneniya (Intraspecific genetic diversity: monitoring and conservation principles) // Genetika (Genetics). 1995. V. 31. P. 1333–1357 (in Russian with English abstract)].
- Букштынов А. Д. Клен. М.: Лесн. пром-сть, 1982. 86 с. [Bukshytynov A. D. Klen (Maple). Moscow: Lesn. prom-st (Timber Industry), 1982. 86 p. (in Russian)].
- Горчаковский П. Л. Широколиственные леса и их место в растительном покрове Южного Урала. М.: Наука, 1972. 146 с. [Gorchakovskiy P. L. Shirokolistvennyye lesa i ikh mesto v rastitel'nom pokrove Yuzhnogo Urala (Broad-leaved forests and their place in the vegetation cover of the Southern Urals). Moscow: Nauka (Science), 1972. 146 p. (in Russian)].
- Интерактивная карта «Леса России», 2021 [Interaktivnaya karta «Lesa Rossii» (Interactive map «Forests of Russia»), 2021 (in Russian)]. <http://178.176.30.40:8282/#/>
- Лесной план Республики Башкортостан 2019–2028. Уфа: Мин-во лесн. хоз-ва Респ. Башкортостан, 2018. 122 с. [Lesnoy plan Respubliki Bashkortostan 2019–2028 (Forest plan of the Republic of Bashkortostan 2019–2028). Ufa: Min-vo lesn. khoz-va Resp. Bashkortostan (Ministry of Forestry Resp. Bashkortostan), 2018. 122 p. (in Russian)]. <https://forest.bashkortostan.ru/documents/active/219577/>
- Лесосеменное районирование основных лесобразующих пород в СССР. М.: Лесн. пром-сть, 1982. 368 с. [Lesosemennoe rayonirovanie osnovnykh lesoobrazuyushchikh porod v SSSR (Forest-seed zoning of the main forest-forming species in the USSR). Moscow: Lesn. prom-st' (Timber Industry), 1982. 368 p. (in Russian)].
- Нейштадт М. И. История лесов и палеогеография СССР в голоцене. М.: Изд-во АН СССР. 1957. 403 с. [Neishtadt M. I. Istoriya lesov i paleogeografiya SSSR v golocene (History of forests and paleogeography of the USSR in the Holocene). Moscow: Izd-vo AN SSSR (USSR Acad. Sci. Publ.), 1957. 403 p. (in Russian)].
- Попов Г. В. Леса Башкирии (их прошлое, настоящее и будущее). Уфа: Башк. кн. изд-во, 1980. 144 с. [Popov G. V. Lesa Bashkirii (ih proshloe, nastoyashchee i budushchee) (Forests of Bashkiria (their past, present and future)). Ufa: Bashk. kn. izd-vo (Bashkir book publ.), 1980. 144 p. (in Russian)].
- Склярков Г. А. Лесостепные почвы Башкирской АССР, их генезис и производственная характеристика. М.: Наука, 1964. 246 с. [Sklyarov G. A. Lesostepnyye pochvy Bashkirskoy ASSR, ih genezis i proizvodstvennaya kharakteristika (Forest-steppe soils of the Bashkir ASSR, their genesis and production characteristics). Moscow: Nauka (Science), 1964. 246 p. (in Russian)].
- Тараканов В. В., Паленова М. М., Паркина О. В., Rogovtsev P. V., Третьякова Р. А. Лесная селекция в России: достижения, проблемы, приоритеты (обзор) // Лесохоз. информ. 2021. № 1. С. 100–143 [Tarakanov V. V., Palenova M. M., Parkina O. V., Rogovtsev P. V., Tretyakova R. A. Lesnaya selektsiya v Rossii: dostizheniya, problemy, prioritety (obzor) // Lesohokz. inform. (Forestry Inform.). 2021. N. 1. P. 100–143 (in Russian with English abstract)].
- Янбаев Ю. А., Боронникова С. В., Ахметов А. Р., Неchaева Ю. С., Пришневская Я. В. Информативность ISSR-маркеров для выявления генетического разнообразия клена остролистного на Южном Урале // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. 2014. № 6 (167). С. 94–97 [Yanbaev Yu. A., Boronnikova S. V., Akhmetov A. R., Nechaeva Yu. S., Prishnevskaya Ya. V. Informativnost' ISSR-markerov dlya vyyavleniya geneticheskogo raznoobraziya klена ostrolistnogo na Yuzhnom Urale (ISSR-markers as a tool for investigations of population genetic diversity: a case study of the Norway maple (*Acer platanoides* L.)) // Vestn. Orenburg. gos. un-ta (Bull. Orenburg. St. Univ.). 2014. N. 6 (167). P. 94–97 (in Russian with English abstract)].
- Boyd M., Panoyan M. A., Michael P., Nkongolo K. K. Development and characterization of species-diagnostic ISSR and SCAR DNA markers for differentiating red maple (*Acer rubrum*) and silver maple (*A. saccharinum*) // Genome. 2019. V. 62. N. 8. P. 527–535.
- Caudullo G., Rigo D. de. *Acer platanoides* in Europe: distribution, habitat, usage and threats // Europ. Atlas For. Tree Spec. / J. S.-M. Ayanz D. de Rigo, G. Caudullo, T. H. Durrant, A. Mauri (Eds.). Publ. Office Europ. Union, 2016. P. 54–55.
- Fahrig L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity // Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2003. V. 34. N. 1. P. 487–515.
- Kalubi K. N., Mehes-Smith M., Narendrula R., Michael P., Omri A. Molecular analysis of red maple (*Acer rubrum*) populations from a reclaimed mining region in Northern Ontario (Canada): soil metal accumulation and translocation in plants // Ecotoxicology. 2015. V. 24. Iss. 3. P. 636–647.

- Kremer A., Hipp A. L. Oaks: an evolutionary success story // *New Phytol.* 2020. V. 226. Iss. 4. P. 987–1011.
- Motahari B., Shabani N., Rahmani M.-S., Mohammad-Hasani F. Genetic diversity and genetic structure of *Acer monspessulanum* L. across Zagros forests of Iran using molecular markers // *Gene.* 2021. V. 769. Article 145245.
- Nei M. Genetic distance between populations // *The Amer. Natur.* 1972. V. 106. N. 949. P. 283–292.
- Nei M. Molecular population genetics and evolution. North-Holland Research monographs. Frontiers of biology. V. 40. Amsterdam: Holland Press, 1975. 278 p.
- Nei M. W., Li W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // *PNAS.* 1979. V. 76. N. 10. P. 5269–5273.
- Orlóci L. Multivariate analysis in vegetation research. The Hague, Boston: Dr. W. Junk B. V., Publ., 1978. 451 p.
- Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Mol. Ecol. Not.* 2006. V. 6. Iss. 1. P. 288–295.
- POPGENE Version 1.31. Microsoft Windows-based free-ware for population genetic analysis. Quick user guide / Yeh F. C., Boyle T., Yang R.-C., Ye Z., Mao J. X. Dept. Renewable Res., Univ. Alberta, Edmonton, AB Canada, 1999. 28 p. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>
- Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant Mol. Biol.* 1985. V. 5. Iss. 2. P. 69–76.
- Zietkiewicz E., Rafalski J. A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics.* 1994. V. 20. Iss. 2. P. 176–183.

ON THE IMPACT OF FRAGMENTATION OF BROAD-LEAVED FORESTS ON THE GENETIC RESOURCES OF *Acer platanoides* L. IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

A. R. Akhmetov¹, S. V. Boronnikova², Y. A. Yanbaev¹, Yu. A. Nechaeva²

¹ *Bashkir State Agrarian University*
50 let Oktyabrya str., 34, Ufa, 450001, Russian Federation

² *Perm State National Research University*
Bukirev str., 15, Perm, 614990, Russian Federation

E-mail: bear.ah@mail.ru, SVBoronnikova@yandex.ru, Yanbaev_ua@mail.ru, ulia-2012@mail.ru

Three-quarters of the Russian maple resources are concentrated in Bashkortostan. Norway maple *Acer platanoides* L. forms here in pure stands or dominates in the composition of broad-leaved forests on the western macroslope of mountains of the Southern Urals. But the species is represented in the Bashkir Cis-Urals as a part of this type of vegetation with relatively low participation, and the stands are geographically isolated. Using ISSR-analysis of DNA, we carried out a comparative analysis of the genetic variation of populations, which are fragmented to varying degrees during the centuries-old economic development of this region. The 5 primers used allowed us to detect polymorphism in 77 of 96 markers (80.2 %) in 6 examined stands. Significant differences in the level of genetic diversity of maple samples were revealed (the proportion of polymorphic loci varies in the range $P_{95} = 0.323–0.662$, the expected heterozygosity $H_E = 0.052–0.148$, the average number of alleles $n_a = 1.197–1.385$, the average effective number of alleles $n_e = 1.105–1.261$), these parameters are significantly higher in forest areas with a relatively large proportion of the maple in the composition of stands. A comparatively large differentiation of populations was found in the frequencies of ISSR markers. The inter-sample component of genetic variation has a relatively high level of 60.1 % ($G_{ST} = 0.601$, the parameter varies from 0.523 to 0.676 for the primers), this is confirmed by the relatively high pairwise Nei's genetic distances among populations (they vary from 0.129 to 0.347, on average $D = 0.272$). The clustering of samples and the use the method of principal components demonstrated that neighboring populations have relatively similar gene pools. It is concluded that the entomophilicity of the maple may be a cause of the patterns identified in the study, which limited the gene flow among geographically isolated stands and their groups. The ways of applying the obtained results in the practice of forestry are discussed.

Keywords: Norway maple, ISSR analysis of DNA, genetic diversity, populations.

How to cite: Akhmetov A. R., Boronnikova S. V., Yanbaev Y. A., Nechaeva Yu. A. On the impact of fragmentation of broad-leaved forests on the genetic resources of *Acer platanoides* L. in the Republic of Bashkortostan // *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* (Sib. J. For. Sci.). 2021. N. 4. P. 64–72 (in Russian with English abstract and references).