

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.174.015.3:575.83

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-4-284-292>

Поступила в редакцию 28.07.2025

Received 28.07.2025

А. М. Нестюк¹, С. В. Пантелеев², А. В. Падутов², О. Ю. Баранов³

¹Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

³Отделение биологических наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

АЛЛЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРОМОТОРА ГЕНА ЛЕЙКОАНТОЦИАНИДИНРЕДУКТАЗЫ (*PaLAR3*) ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ В БЕЛАРУСИ

Аннотация. В статье изложены результаты генетической оценки разнообразия аллельных вариантов промотора гена *PaLAR3*, детерминирующего отдельные этапы метаболизма флавоноидов ели европейской (*Picea abies* (L.) H. Karst.). Активность образования производных флаван-3,4-диола-(+)-катехина зависит от структуры промотора гена *PaLAR3* и влияет на формирование устойчивости ели европейской к корневой гнили, вызываемой фитопатогенным грибом *Heterobasidion parviporum* Niemelä & Korhonen.

Экспериментальный материал для исследований был собран в 2017–2023 гг. с 950 деревьев ели европейской, произрастающих в различных регионах Беларуси как на лесосеменных плантациях I и II порядков, так и в лесных культурах.

В результате молекулярно-генетического анализа промотора гена *PaLAR3* выявлено 8 размерных вариантов ампликонов, относящихся к 2 основным группам аллелей: А (А – 470 н. о., А₁ – 488 н. о.) – восприимчивый к *H. parviporum* фенотип ели; В (В – 345 н. о., В₁ – 342 н. о., С – 376 н. о., С₁ – 394 н. о., D – 331 н. о. и D₁ – 339 н. о.) – устойчивый фенотип. Проведенный анализ встречаемости аллельных вариантов среди всех изученных деревьев показал, что наибольшей представленностью характеризовалась восприимчивая группа аллелей А (65,40 %) и непосредственно аллель А (62,75 %). Группа В (34,60 %) включала в себя доминирующий аллельный вариант В (32,35 %) и его редкие разновидности с частотой встречаемости менее 1 %.

Ключевые слова: ель европейская, *Heterobasidion parviporum* Niemelä & Korhonen, флавоноиды, лейкоантоцианидинредуктаза, генотип, ДНК-маркеры

Для цитирования: Аллельное разнообразие промотора гена лейкоантоцианидинредуктазы (*PaLAR3*) ели европейской в Беларуси / А. М. Нестюк, С. В. Пантелеев, А. В. Падутов, О. Ю. Баранов // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2025. – Т. 70, № 4. – С. 284–292. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-4-284-292>

Antonina M. Niastsiuk¹, Stanislav V. Panteleev², Alexander V. Padutov², Oleg Yu. Baranov³

¹V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Forest Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

³Department of Biological Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ALLELIC DIVERSITY OF THE NORWAY SPRUCE LEUCOANTHOCYANIDIN REDUCTASE GENE (*PaLAR3*) PROMOTER IN BELARUS

Abstract. The article presents the results of a genetic evaluation of the diversity of allelic variants of the *PaLAR3* gene promoter, which determines some stages of flavonoid metabolism in Norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst.). The activity of production of flavan-3,4-diol-(+)-catechin derivatives depends on the structure of the *PaLAR3* gene promoter and affects the formation of resistance of Norway spruce to spruce root rot, a condition induced by the phytopathogenic fungus *Heterobasidion parviporum* Niemelä & Korhonen.

The experimental material for the research was collected from 950 trees of European spruce during the period 2017–2023. These trees were growing in various regions of Belarus both in forest seed plantations of the 1st and 2nd generation and in forest crops.

A molecular genetic analysis of the *PaLAR3* gene promoter revealed eight amplicon size variants belonging to two major allele groups: А (А – 470 bp, А₁ – 488 bp) – susceptible phenotype of spruce to *H. parviporum*; В (В – 345 bp, В₁ – 342 bp, С – 376 bp, С₁ – 394 bp, D – 331 bp, and D₁ – 339 bp) – resistant phenotype. The analysis of the occurrence of allelic variants among all the trees studied showed that the susceptible А allele group (65.40 %), and А allele (62.75 %) directly had the highest representation. Group В (34.60 %), included the dominant allele variant В (32.35 %) and its rare variants, with an incidence of less than 1 %.

Keywords: Norway spruce, *Heterobasidion parviporum* Niemelä & Korhonen, flavonoids, leucoanthocyanidin reductase, genotype, DNA markers

For citation: Niastiuk A. M., Panteleev S. V., Padutov A. V., Baranov O. Yu. Allelic diversity of the Norway spruce leucoanthocyanidin reductase gene (*PaLAR3*) promoter in Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2025, vol. 70, no. 4, pp. 284–292 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-4-284-292>

Введение. Лейкоантоцианидинредуктаза (LAR) представляет собой растительный фермент из класса оксидоредуктаз, входящий в состав метаболического пути биосинтеза флавоноидов и катализирующий обратимую реакцию превращения (+)-катехина в лейкоантоцианидин. Многие из флавоноидов являются растительными пигментами, характеризуются выраженными антиоксидантными свойствами, участвуют в защитных реакциях против воздействия негативных абиотических факторов, обладают антимикробной, антифунгальной и инсектицидной активностью. Благодаря последнему флавоноиды представляют собой фактор устойчивости растений к патогенам и вредителям [1–6].

Проведенные М. Линдом с соавт. молекулярно-генетические исследования деревьев ели европейской (*Picea abies* (L.) Н. Karst.) позволили идентифицировать 13 ДНК-маркеров, ассоциированных с количественным содержанием (+)-катехина в древесине [7]. Кроме того, на основании лабораторных тестов по оценке интенсивности скорости роста (FGS) мицелия *Heterobasidion annosum* s. l. (Fr.) Bref. в заболони деревьев ели европейской с повышенным содержанием (+)-катехина было отобрано 4 QTL, связанных с резистентностью деревьев к патогену. Последующее секвенирование наиболее информативного ДНК-маркера QTL GQ03204_B13.1 показало его сходство с геном *lar3* ели сизой (*P. glauca* (Moench) Voss). Проведенный структурно-функциональный анализ гена *PaLAR3* (*P. abies LAR3*) показал, что его размер в среднем для *P. abies* составляет $\approx 2,8$ тыс. н. о., включает промоторную часть, 5'-нетранслируемую область (5'-НТО), 5 экзонов, 4 интрона и 3'-нетранслируемую область (3'-НТО) [8]. Последующее генотипирование 773 деревьев ели европейской из природных популяций Швеции позволило идентифицировать 69 полиморфных позиций (64 SNPs и 5 InDels), локализованных в различных участках гена и формирующих в сочетаниях 15 аллельных вариантов последовательностей 2 основных гаплогрупп *PaLAR3A* и *PaLAR3B* [8].

Изучение нуклеотидного полиморфизма транслируемых последовательностей аллелей гаплогруппы *PaLAR3A* показало отсутствие достоверной взаимосвязи SNPs с уровнем биосинтеза (+) катехина. Так, например, несмотря на наличие аминокислотной замены (N175K) даже и в активном центре фермента *PaLAR3*, это не приводило к изменению его каталитической активности.

В то же время у деревьев *P. abies*, содержащих аллели линии *PaLAR3B* в гомозиготной или гетерозиготной форме, наблюдалась повышенная транскрипционная активность гена, и, как следствие, высокое содержание (+)-катехина в древесине интактных растений. Данный хемотип растений определял снижение интенсивности роста мицелия *H. parviporum* в заболонной части древесины инфицированных деревьев ели. Согласно литературным данным наиболее вероятными наследственными предикторами, обуславливающими различия в количественном содержании мРНК, являются вариация числа копий генов между индивидами (CNV) или особенности нуклеотидной структуры промоторной части генов [9]. Проведенный анализ промоторов аллелей генетических линий *PaLAR3A* и *PaLAR3B* показал, что они имеют существенные структурные отличия. Так, промотор *PaLAR3A* содержал в своем составе 35 нуклеотидных участков, не встречающихся в структуре *PaLAR3B*, и наоборот, 22 участка были уникальны по отношению к *PaLAR3B*. Также значительным отличием промоторов являлось число повторов 129-нуклеотидного мотива, который в 3 копиях был представлен в *PaLAR3A* и в 2 копиях – в *PaLAR3B*. При этом одна из копий повторяющегося мотива в *PaLAR3B* являлась неполноразмерной [8]. Изменения нуклеотидной структуры промотора способны напрямую влиять на уровень его сродства с РНК-полимеразами, и, как следствие, определять эффективность инициации процесса транскрипции [10].

Материалы и методы исследования. Экспериментальный материал для исследований (хвоя) был собран в 2017–2023 гг. с 950 деревьев ели европейской, произрастающих в различных регионах

Беларуси: лесосеменные плантации II (ЛСП II, 15 объектов) и I (ЛСП I, 1 объект) порядков, лесные культуры (5 объектов).

Получение препаратов суммарной ДНК проводилось с помощью модифицированного СТАВ-метода [11]. ПЦР-амплификация маркерного участка промотора гена *PaLAR3* выполнялась с применением коммерческой смеси DreamTaq™ Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя.

В ходе предварительного исследования нами были использованы 2 пары специфических праймеров – *paLAR3aF/paLAR3aR* и *paLAR3bF/paLAR3bR* [8], позволяющие диагностировать 2 основные гаплогруппы *PaLAR3*. Данные праймеры фланкируют регионы в 3'-НТО *PaLAR3* [8] и напрямую не могут быть использованы для изучения полиморфизма промоторной области. Исходя из этого, нами были разработаны праймеры для типирования вариантов промотора гена *PaLAR3*. Для идентификации промоторов гаплогруппы *PaLAR3A* использованы *PaLAR3-SusF/PaLAR3-SusR*, промоторов гаплогруппы *PaLAR3B* – *PaLAR3-ResF/PaLAR3-ResR*. Анализ полиморфизма длины диагностического участка промотора *PaLAR3* выполнялся с помощью *PaPrLAR3F/PaPrLAR3R*. Разработка дизайна праймеров была выполнена на основании результатов выравнивания последовательностей референсных депозитов аллелей *PaLAR3A* (ID KX574229.1) и *PaLAR3B* (ID KX574230.1), представленных в базе данных NCBI GenBank. Нуклеотидные структуры праймеров приведены в табл. 1. Схематическое расположение мест отжига праймеров относительно последовательностей аллелей гаплогрупп А и В промотора гена *PaLAR3* приведены на рис. 1.

Т а б л и ц а 1. Нуклеотидные структуры праймеров, использованных для анализа промотора гена *PaLAR3*
Table 1. Nucleotide structures of primers used to analyze the *PaLAR3* gene promoter

Название	Нуклеотидная последовательность 5'–3'	Размер ампликона, п. н.
PaLAR3-ResF	AAATCGATCAGAATTTGACCAGAAA	254 (гаплогруппа В)
PaLAR3-ResR	CAATGGACGGAGGGGCTAA	
PaLAR3-SusF	CCCAGTTAGCCCCCTCCG	315 (гаплогруппа А)
PaLAR3-SusR	TCACATTTTCAGTCCGGCCAT	
PaPrLAR3F (5'-метка FAM)	AGGAAGGCAAAATAGGACTG	476 (аллель А, ID KX574229.1), 347 (аллель В, ID KX574230.1)
PaPrLAR3R	TTTTTGCGGTTTGTTTT	

Амплификацию проводили по следующей программе для всех используемых праймеров: 1-й этап (1 цикл) – денатурация $t = 3$ мин, $T = 95$ °C; 2-й этап (35 циклов) – денатурация $t = 20$ с, $T = 95$ °C, отжиг $t = 20$ с, $T = 60$ °C, элонгация $t = 20$ с, $T = 72$ °C; 3-й этап (1 цикл) – элонгация $t = 7$ мин, $T = 72$ °C; 4-й этап (1 цикл) – охлаждение реакционной смеси $t = 5$ мин, $T = 4$ °C.

Электрофоретическое разделение продуктов полимеразной цепной реакции проводили в 2%-м нативном агарозном геле и в денатурирующих условиях (для PaPrLAR3) с применением полиакриламидного носителя. Последнее выполняли с применением генетического анализатора

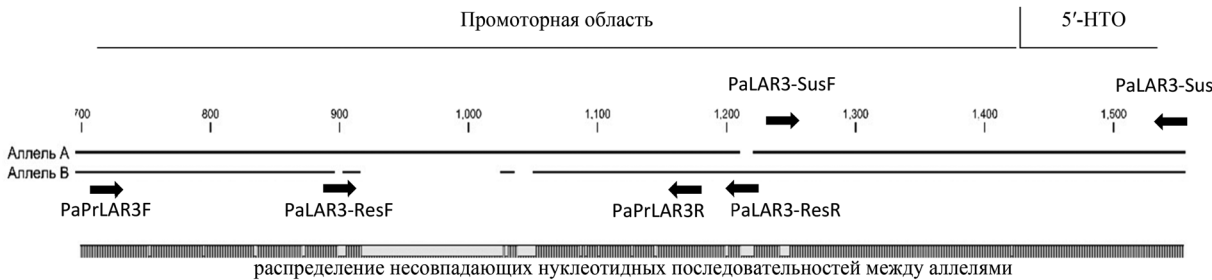


Рис. 1. Графическая схема выравнивания нуклеотидных последовательностей аллелей А (ID KX574229.1) и В (ID KX574230.1) промотора гена *PaLAR3* с указанием мест отжига праймеров

Fig. 1. Graphic scheme of the A (ID KX574229.1) and B (ID KX574230.1) alleles *PaLAR3* gene promoter nucleotide sequences alignment, with sites of primer annealing

3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с рекомендациями компании-изготовителя.

Расчет размеров выявляемых электрофоретических фракций в агарозном геле производился с помощью программного обеспечения Quantity One (Bio-Rad, США). Анализ данных фракционирования при использовании генетического анализатора выполнялся на основе программного обеспечения Gene Mapper 4.1 (Thermo Fisher Scientific).

Для проведения верификации отдельных аллельных вариантов однофракционные ПЦР-продукты секвенировали с применением генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific) на основании использования набора BigDye Terminator Sequence Kit v.1.1 (Thermo Fisher Scientific) согласно протоколу компании-изготовителя. Интерпретация результатов производилась с помощью программы Sequence Analysis 5.1.1 (Thermo Fisher Scientific), выравнивание последовательностей – CLC Sequence Viewer (Qiagen, США).

Результаты и их обсуждение. В результате проведенной ПЦР-амплификации образцов ДНК ели европейской с использованием группаспецифических праймеров серий PaLAR3-Res и PaLAR3-Sus по отдельности на электрофореграммах выявлялись однофракционные спектры. Применительно к каждому образцу наличие продуктов амплификации только для одного типа праймеров указывало на гомозиготный генотип промотора – AA или BB, двух типов одновременно – гетерозиготный (AB). Электрофоретические спектры образцов и их генетическая интерпретация приведены на рис. 2.

Как видно на рис. 2, изменчивость размеров амплифицируемых вариантов PaLAR3A и PaLAR3B не выявлялась.

В случае использования праймеров серии PaPrLAR3 электрофоретические профили содержали одно-, двух- и трехфракционные спектры (рис. 3). Исходя из диплоидного статуса ($2n = 24$) вегетативных тканей ели европейской и кодоминантного характера проявления амплифицируемых аллельных вариантов, гомозиготные образцы на электрофореграммах должны были быть представлены однофракционными спектрами, гетерозиготные – двухфракционными. Наличие широкого разнообразия структуры электрофоретических спектров ПЦР-продуктов (рис. 3), по всей видимости, может быть объяснено не только аллельным полиморфизмом промотора гена *PaLAR3*, но и в ряде случаев вариацией числа копий локусов, фланкированных праймерами PaPrLAR3F и PaPrLAR3R. Прямое секвенирование ПЦР-продуктов образцов, содержащих комплексные спектры, не представлялось возможным.

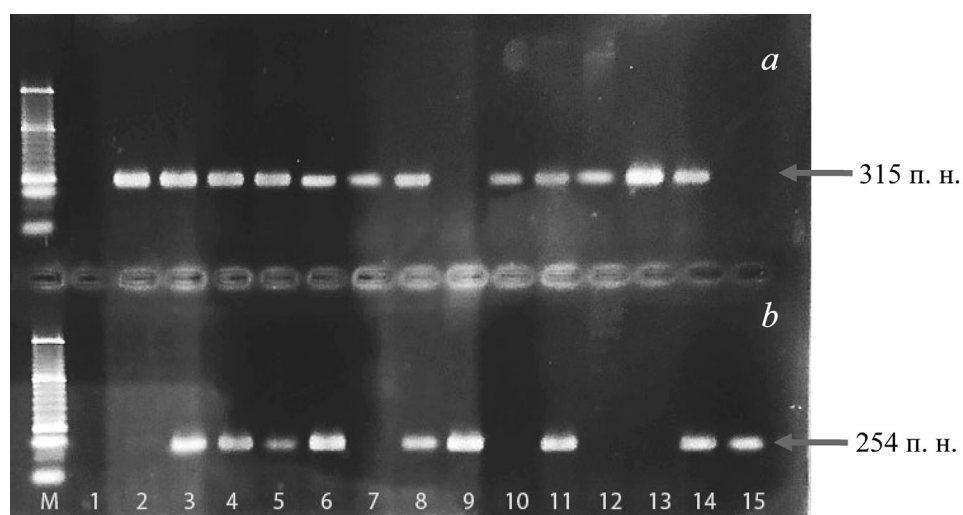


Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР-продуктов с использованием праймеров серий PaLAR3-Sus (a) и PaLAR3-Res (b): М – маркер молекулярных масс; 1 – отрицательный контроль; 2, 7, 10, 12, 13 – генотип AA; 3–6, 8, 11, 14 – генотип AB; 9, 15 – генотип BB

Fig. 2. Electropherogram of PCR products using PaLAR3-Sus (a) and PaLAR3-Res (b): primers: M – size standard; 1 – negative control; 2, 7, 10, 12, 13 – AA genotype; 3–6, 8, 11, 14 – AB genotype; 9, 15 – BB genotype

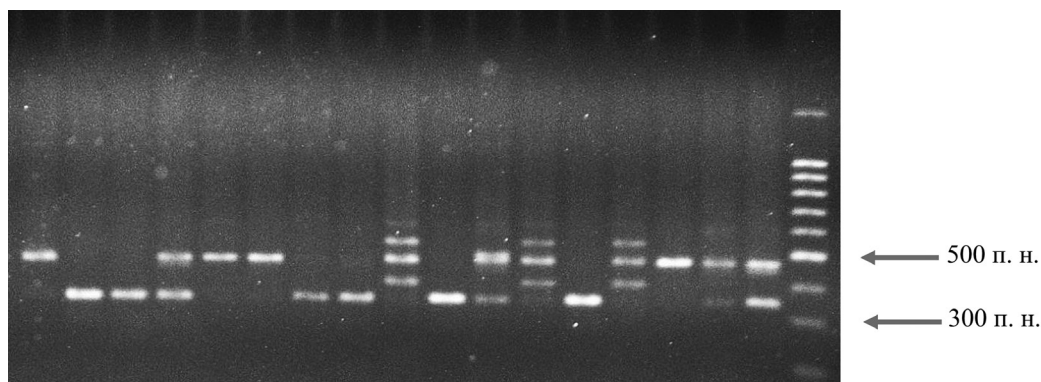


Рис. 3. Электрофореграмма ПЦР-продуктов с использованием праймеров серии PaPrLAR3 (клоны ели европейской, ЛСП II порядка, Крупский лесхоз)

Fig. 3. Electrophorogram of PCR products using primers of the PaPrLAR3 series (clones of European spruce, LSP of the II order, Krupsky forest enterprise)

Следует отметить, что варьирование числа копий локусов является наиболее вероятным вариантом интерпретации комплексности спектров образцов, поскольку полиплоидные деревья ели европейской до настоящего времени в литературе описаны не были, а разработанные универсальные праймеры PaPrLAR3 *in silico* были комплементарны только участкам последовательностей промотора гена *PaLAR3* депозитов, представленных в международной генетической базе данных NCBI GenBank. Вследствие комплексного характера выявляемых электрофоретических спектров результаты молекулярно-генетического анализа деревьев вносились в базу данных в виде генетической формулы, а не генотипа.

Обозначение выявляемых электрофоретических вариантов, как указывалось ранее, было выполнено в соответствии с электрофоретической подвижностью FAM-меченных денатурированных цепей ампликонов (рис. 4). В результате изучения 950 деревьев ели европейской, произрастающих в лесных культурах и на лесосеменных плантациях, было идентифицировано 8 размерных вариантов промотора *PaLAR3*, 2 из которых относились к группе А (А – 470 н. о., А₁ – 488 н. о.), 6 – к группе В (В – 345 н. о., В₁ – 342 н. о., С – 376 н. о., С₁ – 394 н. о., D – 331 н. о. и D₁ – 339 н. о.). Отнесение размерных вариантов к той или иной группе было основано на их избирательной амплификации с групп-специфическими праймерами серии PaLAR3-Sus (гаплогруппа А) или PaLAR3-Res (гаплогруппа В).

Проведенный анализ встречаемости аллельных вариантов среди всех изученных деревьев ели европейской показал, что наибольшей представленностью характеризовалась восприимчивая к *H. parviporum* гаплогруппа А (65,40 %) и непосредственно аллель А (62,75 %) (табл. 2). Гаплогруппа

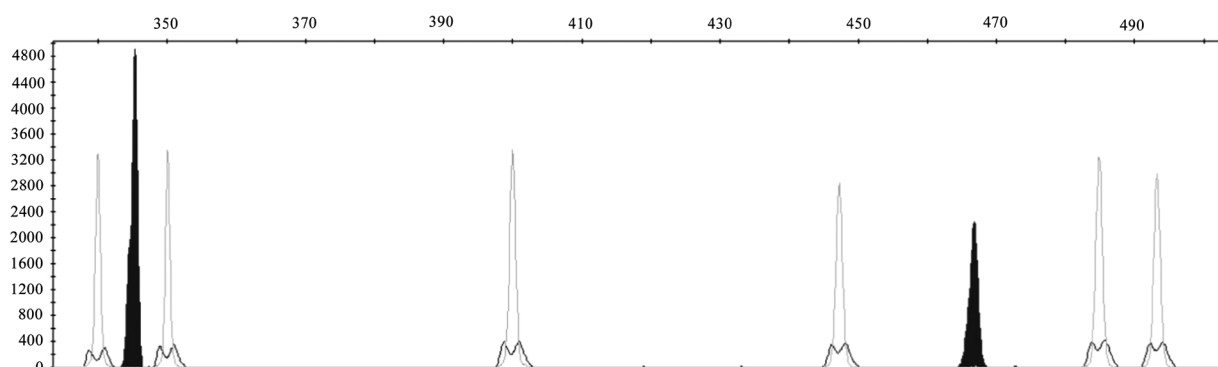


Рис. 4. Электрофореграмма меченных денатурированных ПЦР-продуктов гетерозиготного образца BER3 (генетическая формула А, В) с использованием праймеров серии PaPrLAR3

Fig. 4. Electrophorogram of labeled denatured PCR products of a heterozygous BER3 sample (genetic formula A, B) using PaPrLAR3 series primers

группа В (34,60 %) включала в себя доминирующий вариант В (32,35 %) и его редкие разновидности с частотой встречаемости менее 1 %.

Редкие варианты аллельной группы В (устойчивой) в основном были выявлены в объектах, относящихся к лесосеменным плантациям. Также следует отметить, что в изученной выборке деревьев ели европейской указанные аллели (В₁, С, С₁, D, D₁) не были диагностированы в гомозиготной форме, а идентифицировались только в составе комбинаций с другими вариантами.

Т а б л и ц а 2. Значения частот встречаемости выявленных аллельных вариантов промотора гена *PaLAR3* в изученной выборке

Table 2. The frequency of the *PaLAR3* gene promoter allelic variants in the stands

Лесхоз	Количество проанализированных деревьев	Тип насаждения	Аллельные группы/аллели, %							
			А		В					
			А	А ₁	В	В ₁	С	С ₁	D	D ₁
Барановичский	50	ЛСП II порядка	60,00	3,00	36,00	1,00	0	0	0	0
Березинский	45	ЛСП II порядка	60,00	2,22	35,56	0	2,22	0	0	0
Глубокский опытный	48	ЛСП II порядка	65,63	4,17	30,20	0	0	0	0	0
Горецкий	44	ЛСП II порядка	71,58	1,14	26,14	0	1,14	0	0	0
Гродненский	50	ЛСП II порядка	49,00	1,00	49,00	0	0	1,00	0	0
Жлобинский	50	Лесные культуры	81,00	0	19,00	0	0	0	0	0
Ивацевичский	51	ЛСП II порядка	60,78	3,93	33,33	0,98	0,98	0	0	0
Крупский	50	ЛСП II порядка	56,00	3,00	33,00	0	1,00	6,00	1,00	0
Лепельский	44	ЛСП II порядка	69,32	1,14	28,40	0	0	0	1,14	0
Лиозненский	51	ЛСП II порядка	68,63	2,94	25,49	0	0,98	0,98	0,98	0
Ляховичский	50	ЛСП II порядка	67,00	1,00	31,00	0	1,00	0	0	0
Могилёвский	50	ЛСП II порядка	75,00	0	24,00	0	1,00	0	0	0
Могилёвский	25	Лесные культуры	72,00	2,00	24,00	0	0	2,00	0	0
Могилёвский	25	Лесные культуры	68,00	2,00	28,00	0	2,00	0	0	0
Могилёвский	25	Лесные культуры	64,00	4,00	32,00	0	0	0	0	0
Оршанский	50	ЛСП II порядка	50,00	4,00	44,00	0	0	1,00	0	0
Полоцкий	51	ЛСП II порядка	60,78	4,90	27,45	1,96	0,98	1,96	0,98	0,98
Рогачёвский	49	Лесные культуры	65,31	4,08	28,57	0	0	0	2,04	0
Скидельский	47	ЛСП II порядка	47,87	4,26	45,74	0	1,06	0	1,06	0
Сморгонский	45	ЛСП II порядка	52,22	2,22	41,11	0	2,22	1,11	1,11	0
Чериковский	50	ЛСП I порядка	63,00	4,00	29,00	2,00	1,00	1,00	0	0
В целом	950		62,75	2,65	32,35	0,25	0,75	0,75	0,45	0,05

Особую селекционную ценность представляют собой деревья с сочетанием вариантов аллельной группы В (В, В₁, С, С₁, D, D₁), детерминирующих повышенную устойчивость к еловой корневой губке (*H. parviporum*). Растения, содержащие аллель В в гомозиготной форме, были выявлены как на ЛСП (4–32 %), так и в большинстве исследованных лесных культур (8–16 %). Сочетания В/В₁, В/С и С₁/D₁ были идентифицированы только на ЛСП I (Чериковский лесхоз) и II (Ивацевичский опытный лесхоз, Полоцкий лесхоз) порядков. Исходя из редкой встречаемости комбинаций В/В₁, В/С и С₁/D₁, все выявленные на ЛСП деревья с указанными вариантами, по всей видимости, являются ракетами одних и тех же клонов, высаженных на разных селекционно-семеноводческих объектах. Образец с формулой В/С₁ был представлен единичными образцами в выборках из Могилёвского (лесные культуры), Гродненского и Лиозненского (ЛСП II порядка) лесхозов.

Проведенный сравнительный анализ генетических структур лесных культур и ЛСП показал, что каждая из этих категорий насаждений характеризуется значительным диапазоном значений частот встречаемости аллельных вариантов. Так, для наиболее распространенного аллеля А они составили 64–81 и 48–75 % соответственно.

Применительно к ЛСП их генетическая структура главным образом определяется перечнем клонов на изучаемом участке, представленностью их рамет (долевым участием) и схемой размещения. Таким образом, уровень различий между генетическими структурами отдельных ЛСП будет изменяться исходя из количественного соотношения рамет тех или иных клонов. По всей видимости, данный аспект объясняет более широкий диапазон изменчивости частот аллелей на ЛСП по сравнению с лесными культурами.

Изучение литературных материалов, связанных с генотипированием промотора гена *PaLAR3* ели европейской, показало, что частота встречаемости гаплогруппы А у образцов из Швеции и Финляндии варьировала в диапазоне 60–80 % [8, 12–15]. Данные результаты являются сходными с полученными нами значениями частот для белорусских насаждений. Еще одним аспектом, который отмечают исследователи в изученных выборках ели европейской, является соответствие их генетической (аллельной) структуры генотипической (коэффициент инбридинга $F_{is} \approx 0$), что, по всей видимости, указывает на отсутствие движущего естественного отбора в популяциях ели природного происхождения по признаку устойчивости к корневой губке путем повышения содержания (+)-катехина в древесине. Авторами выдвинут ряд предположений, объясняющих роль гена *PaLAR3* в формировании повышенной устойчивости к *H. parviporum* в зависимости от особенностей фенотипа дерева, способа передачи корневой губки, генотипическими особенностями штаммов патогенов, а также зараженности последних миковирусами [12–15].

Полученные нами данные о генетической и генотипической структуре ЛСП позволяют определить клоны, продуцирующие семена с наибольшим количеством устойчивого потомства, а также рассчитать доленое участие данных генотипов в общей выборке. Так, например, в случае ЛСП II порядка, расположенных в Гродненском, Оршанском, Скидельском и Сморгонском лесах, в семенном потомстве от открытого опыления для деревьев с генотипом ВВ расчетное количество сеянцев с повышенным содержанием (+)-катехина в древесине составит от 17 до 24 %, со средним содержанием – 48–50 %.

Заключение. На основании результатов изучения аллельного разнообразия промотора гена *PaLAR3* ели европейской на территории Беларуси можно сделать следующие выводы: в независимости от местопроизрастания деревьев ели европейской (на ЛСП I и II порядков или в насаждении) наблюдается полиморфизм промотора гена *PaLAR3* и неравномерная встречаемость его аллельных вариантов. Всего нами выделено 8 размерных вариантов, представленных как в гомозиготной, так и в гетерозиготной формах и относящихся к 2 основным группам – группа А (А – 470 н. о., А₁ – 488 н. о.) – восприимчивый к грибу *H. parviporum* фенотип ели, и В (В – 345 н. о., В₁ – 342 н. о., С – 376 н. о., С₁ – 394 н. о., D – 331 н. о. и D₁ – 339 н. о.) – устойчивый фенотип. Наибольшей представленностью характеризовалась восприимчивая группа А (65,40 %) и непосредственно аллель А (62,75 %), в то время как группа В (34,60 %) включала в себя доминирующий вариант В (32,35 %) и его редкие разновидности с частотой встречаемости менее 1 %. Наибольшую селекционную ценность представляют деревья, содержащие сочетания вариантов аллельной группы В (В, В₁, С, С₁, D, D₁), детерминирующих повышенную устойчивость к еловой корневой губке (*H. parviporum*).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке БРФФИ (грант № B22M-055).

Acknowledgements. The work was supported by the BRFFR (grant No. B22M-055).

Список использованных источников

1. Induced Responses in Phenolic Metabolism in Two Norway Spruce Clones after Wounding and Inoculations with *Ophiostoma polonicum*, a Bark Beetle-Associated Fungus / F. Brignolas, B. Lacroix, F. Lieutier [et al.] // Plant Physiology. – 1995. – Vol. 109. N 3. – P. 821–827. <https://doi.org/10.1104/pp.109.3.821>
2. Phenolic predictors for Norway spruce resistance to the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) and an associated fungus, *Ceratocystis polonica* / F. Brignolas, F. Lieutier, D. Sauvard [et al.] // Canadian Journal of Forest Research. – 1998. – Vol. 28, N 5. – P. 720–728. <https://doi.org/10.1139/x98-037>
3. Intra- and inter-provenance variability in phloem phenols of *Picea abies* and relationship to a bark beetle-associated fungus / F. Lieutier, F. Brignolas, D. Sauvard [et al.] // Tree Physiology. – 2003. – Vol. 23. N 4. – P. 247–256. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.4.247>

4. Chemical and transcriptional responses of Norway spruce genotypes with different susceptibility to *Heterobasidion* spp. infection / M. Danielsson, K. Lundén, M. Elfstrand [et al.] // BMC Plant Biology. – 2011. – Vol. 11. – Art. 154. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-154>
5. Indications of heightened constitutive or primed host response affecting the lignin pathway transcripts and phenolics in mature Norway spruce clones / C. G. Fossdal, N. E. Nagy, A. M. Hietala [et al.] // Tree Physiology. – 2012. – Vol. 32, N 9. – P. 1137–1147. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps073>
6. Genetical Genomics Identifies the Genetic Architecture for Growth and Weevil Resistance in Spruce / I. Porth, R. White, B. Jaquish [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 9. – Art. e44397. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044397>
7. A *Picea abies* Linkage Map Based on SNP Markers Identifies QTLs for Four Aspects of Resistance to *Heterobasidion parviporum* Infection / M. Lind, T. Källman, J. Chen [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, N 7. – Art. e101049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101049>
8. Different alleles of a gene encoding leucoanthocyanidin reductase (*PaLAR3*) influence resistance against the fungus *Heterobasidion parviporum* in *Picea abies* / M. Nemesio-Gorriaz, A. Hammerbacher, K. Ihrmark [et al.] // Plant Physiology. – 2016. – Vol. 171, N 4 – P. 2671–2681. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00685>
9. Relative Impact of Nucleotide and Copy Number Variation on Gene Expression Phenotypes / B. E. Stranger, M. S. Forrest, M. Dunning [et al.] // Science. – 2007. – Vol. 315, N 5813. – P. 848–853. <https://doi.org/10.1126/science.1136678>
10. Bansal, M. Role of DNA sequence based structural features of promoters in transcription initiation and gene expression / M. Bansal, A. Kumar, V. R. Yella // Current Opinion in Structural Biology. – 2014. – Vol. 25. – P. 77–85. <https://doi.org/10.1016/J.SBI.2014.01.007>
11. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Мн.: Юнипол, 2007. – 176 с.
12. *PaLAR3* genotype variability for enhanced resistance against *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce: Insights into allelic frequencies, disease response, and the role of mycoviruses / M. Kashif, E. Terhonen, L. Hamberg [et al.] // Biological Control. – 2024. – Vol. 198. – Art. 105633. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105633>
13. Leucoanthocyanidin Reductase 3 (*PaLAR3*) Locus in Norway Spruce (*Picea abies*) and Its Link to Resistance Against *Heterobasidion parviporum* / B. Durodola, N. Hanström, K. Blumenstein, M. Haapanen [et al.] // Forest Pathology. – 2024. – Vol. 54, N 5. – P. e12889. <https://doi.org/10.1111/efp.12889>
14. Root Rot Resistance Locus *PaLAR3* Is Delivered by Somatic Embryogenesis (SE) Pipeline in Norway Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) / J. Edesi, M. Tikkinen, M. Elfstrand [et al.] // Forests. – 2021. – Vol. 12, N 2. – P. 193. <https://doi.org/10.3390/f12020193>
15. Allele *PaLAR3B* in root rot resistance locus does not influence the infection pressure by *Heterobasidion parviporum* through root contacts / E. Terhonen, M. Kashif, T. Piri [et al.] // Forest Pathology. – 2022. – Vol. 52, N 5. – Art. e12769. <https://doi.org/10.1111/efp.12769>

References

1. Brignolas F., Lacroix B., Lieutier F., Sauvard D., Drouet A., Claudot A. C., Yart A., Berryman A. A., Christiansen E. Induced Responses in Phenolic Metabolism in Two Norway Spruce Clones after Wounding and Inoculations with *Ophiostoma polonicum*, a Bark Beetle-Associated Fungus. *Plant Physiology*, 1995, vol. 109, no. 3, pp. 821–827. <https://doi.org/10.1104/pp.109.3.821>
2. Brignolas F., Lieutier F., Sauvard D., Christiansen E., Berryman A. A. Phenolic predictors for Norway spruce resistance to the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) and an associated fungus, *Ceratocystis polonica*. *Canadian Journal of Forest Research*, 1998, vol. 28, no. 5, pp. 720–728. <https://doi.org/10.1139/x98-037>
3. Lieutier F., Brignolas F., Sauvard D., Yart A., Galet C., Brunet M., van de Sype H. Intra- and inter-provenance variability in phloem phenols of *Picea abies* and relationship to a bark beetle-associated fungus. *Tree Physiology*, 2003, vol. 23, no. 4, pp. 247–256. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.4.247>
4. Danielsson M., Lundén K., Elfstrand M., Hu J., Zhao T., Arnerup J., Ihrmark K., Swedjemark G., Borg-Karlson A.-K., Stenlid J. Chemical and transcriptional responses of Norway spruce genotypes with different susceptibility to *Heterobasidion* spp. Infection. *BMC Plant Biology*, 2011, vol. 11, art. 154. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-154>
5. Fossdal C. G., Nagy N. E., Hietala A. M., Kvaalen H., Slimestad R., Woodward S., Solheim H. Indications of heightened constitutive or primed host response affecting the lignin pathway transcripts and phenolics in mature Norway spruce clones. *Tree Physiology*, 2012, vol. 32, no. 9, pp. 1137–1147. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps073>
6. Porth I., White R., Jaquish B., Alfaro R., Ritland C., Ritland K. Genetical Genomics Identifies the Genetic Architecture for Growth and Weevil Resistance in Spruce. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 9, art. e44397. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044397>
7. Lind M., Källman T., Chen J., Ma X.-F., Bousquet J., Morgante M., Zaina G., Karlsson B., Elfstrand M., Lascoux M., Stenlid J. A *Picea abies* linkage map based on SNP markers identifies QTLs for four aspects of resistance to *Heterobasidion parviporum* infection. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 7, art. e101049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101049>
8. Nemesio-Gorriaz M., Hammerbacher A., Ihrmark K., Källman T., Olson Å., Lascoux M., Stenlid J., Gershenzon J., Elfstrand M. Different alleles of a gene encoding leucoanthocyanidin reductase (*PaLAR3*) influence resistance against the fungus *Heterobasidion parviporum* in *Picea abies*. *Plant Physiology*. 2016, vol. 171, no. 4, pp. 2671–2681. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00685>
9. Stranger B. E., Forrest M. S., Dunning M., Ingle C. E., Beazley C., Thorne N. [et al.]. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science*, 2007, vol. 315, no. 5813, pp. 848–853. <https://doi.org/10.1126/science.1136678>

10. Bansal M., Kumar A., Yella V. R. Role of DNA sequence based structural features of promoters in transcription initiation and gene expression. *Current Opinion in Structural Biology*, 2014, vol. 25, pp. 77–85. <https://doi.org/10.1016/J.SBI.2014.01.007>
11. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *Méthodes d'analyse génétique moléculaire*. Minsk, Yunipol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
12. Kashif M., Terhonen E., Hamberg L., Piri T., Haapanen M., Pöykkö S., Vainio E. J., Hantula J. *PaLAR3* genotype variability for enhanced resistance against *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce: Insights into allelic frequencies, disease response, and the role of mycoviruses. *Biological Control*, 2024, vol. 198, art. 105633. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105633>
13. Durodola B., Hanström N., Blumenstein K., Haapanen M., Hantula J., Kashif M., Piri T., Terhonen E. Leucoanthocyanidin Reductase 3 (*PaLAR3*) Locus in Norway Spruce (*Picea abies*) and Its Link to Resistance Against *Heterobasidion parviporum*. *Forest Pathology*, 2024, vol. 54, no. 5, pp. e12889. <https://doi.org/10.1111/efp.12889>
14. Edesi J., Tikkinen M., Elfstrand M., Olson Å., Varis S., Egertsdotter U., Aronen T. Root Rot Resistance Locus *PaLAR3* Is Delivered by Somatic Embryogenesis (SE) Pipeline in Norway Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Forests*, 2021, vol. 12, no. 2, p. 193. <https://doi.org/10.3390/f12020193>
15. Terhonen E., Kashif M., Piri T., Haapanen M., Hantula J. Allele *PaLAR3B* in root rot resistance locus does not influence the infection pressure by *Heterobasidion parviporum* through root contacts. *Forest Pathology*, 2022, vol. 52, no. 5, art. e12769. <https://doi.org/10.1111/efp.12769>

Информация об авторах

Нестюк Антонина Михайловна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: antonina.nestyuk95@gmail.com

Пантелеев Станислав Викторович – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: stasikdesu@mail.ru

Падутов Александр Владимирович – науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: apadutov@yandex.by

Баранов Олег Юрьевич – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, академик-секретарь Отделения биологических наук НАН Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: betula-belarus@mail.ru

Information about the authors

Antonina M. Niastsiuk – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: antonina.nestyuk95@gmail.com

Stanislav V. Panteleev – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: stasikdesu@mail.ru

Alexander V. Padutov – Researcher. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: apadutov@yandex.by

Oleg Yu. Baranov – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Academician-Secretary of the Department of Biological Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: betula-belarus@mail.ru