

УДК 582.632.1:630*811.6+577.21

ВЫЯВЛЕНИЕ УЗОРЧАТОЙ ДРЕВЕСИНЫ У КЛОНОВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*, С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА ВpCW1

Л. В. Ветчинникова^{1*}, К. А. Гудкова², А. Ф. Титов³

¹ Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *vetchin@krc.karelia.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии (ул. Ломоносова, 105, Воронеж, Россия, 394087)

³ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910)

Приводятся результаты оценки эффективности использования молекулярного маркера ВpCW1 для раннего обнаружения признака «узорчатая древесина» у вегетативного потомства карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti на этапе его клонального микроразмножения в культуре *in vitro*. У исходных (материнских) деревьев этот признак проявляется, как правило, к возрасту 8–10 лет в виде выпуклостей или утолщений на поверхности ствола. В качестве контрольных служили клоны (*in vitro*) березы повислой (*Betula pendula* Roth), березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) и их разновидностей (которые имеют преимущественно декоративную форму или окраску листовой пластинки). В результате ПЦР-анализа у 87,5 % клонов карельской березы идентифицированы продукты амплификации (476 п. н. или 530/476 п. н.), соответствующие делеции (утрате) участка ДНК размером 54 п. н., связанной с признаком «узорчатая древесина». Установлено, что у 62 % клонов делеционный аллель представлен в гомозиготном состоянии, а у 38 % – в гетерозиготном. Сравнительный анализ вегетативного потомства в зависимости от его географического происхождения показал, что у карельской березы, имеющей карельское происхождение, аллели значительно чаще (более чем в 1,4 раза) находятся в гетерозиготном состоянии, чем в гомозиготном. У клонов, исходные деревья которых произрастают (или произрастали) в других российских регионах (например, в Смоленской области) или в Беларуси, Дании и Финляндии, соотношение аллелей было иным. Использование маркера ВpCW1 подтвердило также отсутствие аллеля с делецией 54 п. н. у других представителей рода *Betula* (входящих в состав ранее созданной коллекции клонов *in vitro*), что соответствует свойственной для них прямослойной текстуре древесины. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования молекулярного маркера ВpCW1 для выявления делеции, локализованной на 10-й хромосоме в геноме карельской березы, сцепленной с признаком «узорчатая древесина», у клонов, культивируемых в условиях *in vitro*, исходные деревья которых отобраны исключительно на основании внешних косвенных признаков. Это позволяет ускорить решение ряда вопросов, связанных с селекцией карельской березы, а также с отбором исходных генотипов при создании промышленных плантаций с целью выращивания деревьев с заданными свойствами в коммерческих целях.

Ключевые слова: карельская береза; *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti; вегетативное потомство; клоны разного географического происхождения *in vitro*; узорчатая древесина; молекулярный маркер BpCW1; диагностика

Для цитирования: Ветчинникова Л. В., Гудкова К. А., Титов А. Ф. Выявление узорчатой древесины у клонов карельской березы, культивируемых в условиях *in vitro*, с помощью молекулярного маркера BpCW1 // Труды Карельского научного центра РАН. 2026. № 5. С. 51–60. doi: 10.17076/eb2333

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук» (Институт леса КарНЦ РАН, № 126020916838-4).

L. V. Vetchinnikova^{1*}, K. A. Gudkova², A. F. Titov³. IDENTIFICATION OF FIGURED GRAIN IN *IN VITRO* PROPAGATED CURLY BIRCH CLONES USING THE BpCW1 MOLECULAR MARKER

¹Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *vetchin@krc.karelia.ru

²All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (105 Lomonosov St., 394087 Voronezh, Russia)

³Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

This article presents the results of evaluating the effectiveness of the BpCW1 molecular marker for early detection of the 'figured grain' trait in vegetative progeny of curly birch *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti during clonal micropropagation *in vitro*. In the parent trees, this trait is typically visualized by the age of 8–10 years as bulges or thickenings on the trunk surface. Clones (*in vitro*) of silver birch (*Betula pendula* Roth), downy birch (*Betula pubescens* Ehrh.), and their varieties (which have predominantly decorative leaf shapes or colors) served as controls. PCR analysis showed that 87.5 % of curly birch clones contained amplification products (476 bp or 530/476 bp) corresponding to a deletion (loss) of a 54-bp DNA region associated with the 'figured grain' trait. The deletion allele was found to be homozygous in 62 % of clones, and heterozygous in 38 %. A comparative analysis of vegetative progeny based on their geographic provenance revealed that curly birch of Karelian provenance exhibited significantly more heterozygous alleles (>1.4 times more frequent) than homozygous alleles. Clones derived from parent trees from other Russian regions (e.g., Smolensk Oblast), Belarus, Denmark, and Finland exhibited a different allele ratio. Application of the BpCW1 marker also confirmed the absence of the allele with the 54-bp deletion in other members of the genus *Betula* (available in a previously created collection of *in vitro* clones), which is consistent with their characteristic straight-grained wood texture. These data indicate the possibility of using the BpCW1 molecular marker to detect a deletion localized on chromosome 10 in the curly birch genome, linked to the 'figured grain' trait, in clones cultivated *in vitro*, whose parent trees were selected solely on the basis of indirect exterior evidence. This will speed up the resolution of a number of issues related to the selection of curly birch, as well as the selection of initial genotypes when creating commercial plantations for growing trees with the desired characteristics.

Keywords: Curly birch; *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti; vegetative progeny; *in vitro* clones of varying geographical provenance; figured grain; BpCW1 molecular marker; diagnostics

For citation: Vetchinnikova L. V., Gudkova K. A., Titov A. F. Identification of figured grain in *in vitro* propagated curly birch clones using the BpCW1 molecular marker. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2026. No. 5. P. 51–60. doi: 10.17076/eb2333

Funding. The study was funded from the Russian federal budget through state assignment to KarRC RAS (FRI KarRC RAS, # 126020916838-4).

Введение

Ареал карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti), которая считается разновидностью березы повислой, сформировался на территории стран северо-западной части континентальной Европы и имеет выраженный дизъюнктивный характер [Ветчинникова, Титов, 2020]. Появление здесь карельской березы, по всей вероятности, произошло благодаря исторически сложившемуся сочетанию геоморфологических, природно-климатических, фитоценологических и эдафических условий и является отражением особого направления в эволюции рода *Betula* L., в результате которого появился и закрепился качественно новый морфотип [Ветчинникова, Титов, 2021]. При этом узорчатая текстура древесины, которая является одним из главных отличительных признаков карельской березы, устойчиво наследуется в ее семенном потомстве и сохраняется при вегетативном размножении как в природных популяциях, так и в искусственно созданных насаждениях, указывая на генетическую детерминацию этого признака. Однако приходится констатировать, что до сих пор отсутствуют надежные способы прижизненной диагностики узорчатой древесины. Как правило, для этого используют косвенные признаки, к которым, в частности, относятся утолщения или выпуклости, визуально различимые на поверхности ствола (иногда они бывают и на скелетных ветвях кроны), хотя далеко не всегда их величина и количество соответствуют степени выраженности рисунка в древесине. Более того, обычно косвенные признаки внешне проявляются не сразу, а в среднем только на 8–10-й год развития растений, хотя у одних они становятся визуально заметными в возрасте 3–5 лет [Ермаков, 1986; Ryyänen, 1988; Нунунен et al., 2010 и др.], а у других – только в 20–25 [Сакс, Бандер, 1970; Соколов, 1970 и др.]. С возрастом по мере увеличения толщины коры и формирования грубой корки у карельской березы часто наблюдается обратный процесс «сглаживания» (или «заплывания») ранее выпуклой поверхности ствола. Таким образом, оценка наличия узорчатой древесины у карельской березы по косвенным (морфологическим) признакам часто затруднена как на ранних, так и на более поздних этапах ее онтогенеза.

Что касается физиолого-биохимических особенностей, то карельская береза характеризуется значительным сходством с березой повислой (*Betula pendula* Roth) и березой пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.), а выявленные между ними различия носят преимущественно количественный характер и чаще обнаруживаются

только к моменту визуального проявления косвенных признаков узорчатой древесины, в связи с чем не могут быть рекомендованы в качестве диагностических [Ветчинникова, Титов, 2021].

Новые возможности в поиске критериев ранней диагностики отличительных признаков и свойств, присущих карельской березе, открывает использование современных молекулярно-генетических методов. Так, совсем недавно, исходя из анализа более 37 тысяч SNP (Single Nucleotide Polymorphism), расположенных на 10-й хромосоме на отрезке длиной 1,2 млн п. н., у семенного потомства карельской березы были обнаружены участки, сцепленные с признаком «узорчатая древесина» [Gubaev et al., 2024]. Детальный анализ этой части генома показал, что в непосредственной близости от SNP_3465040 у деревьев карельской березы, обладающих «узорчатым» фенотипом, имеется утрата участка ДНК (делеция), которую удалось визуализировать путем стандартного электрофореза в агарозном геле. На основе этих данных разработан и предложен для практического использования молекулярный маркер, получивший название BpCW1 (*Betula pendula* Curly Wood1) [Жигунов и др., 2024].

Целью данного исследования явилось использование молекулярного маркера BpCW1 для выявления признака «узорчатая древесина» в вегетативном потомстве карельской березы, полученном путем клонального микро-размножения *in vitro*, исходные (материнские) деревья которого отобраны на основании косвенных (морфологических) признаков.

Объекты и методы исследований

Объектом исследований служила карельская береза (рис. 1), а в качестве контрольных – ледяная береза (*Eisbirke*, Ice birch), имеющая выпуклости на поверхности ствола, береза карликовая (*B. nana* L.), береза повислая, береза пушистая и их разновидности, которые характеризуются декоративной по форме листовой пластинкой или особой их окраской, но имеют прямослойную текстуру древесины. К последним относятся береза лопастная (*B. pendula* Roth f. *lobulata* (Regel) Anders ex H. J. P. Winkl.), береза криспа (*Betula pendula* Roth f. *crispa* (Reichenb.) Hämet-Ahti), иволлистная береза (*B. pubescens* like *salix*), береза красностная (*Betula pendula* Roth f. *purpurea* (André) Schneid.). Все они являются частью коллекции *in vitro* представителей сем. Betulaceae [Коллекция..., 2016], созданной ранее и поддерживаемой нами в лаборатории лесных биотехнологий Института леса КарНЦ РАН.

Материалом для исследований служили листовые пластинки (3–4 шт. размером ~ 2×2 мм) 53 клонов, среди которых 42 соответствовали карельской березе (рис. 1, б). Отметим, что исходные деревья карельской березы (рис. 1, а) отобраны на основании внешних косвенных признаков, к которым относятся прежде всего утолщения или выпуклости на поверхности ствола, свидетельствующие о наличии узорчатой древесины (рис. 1, в). Добавим, что клоны карельской березы имеют разное географическое происхождение: Россия (Республика Карелия, Ленинградская и Смоленская обл.), Беларусь, Дания, Норвегия и Финляндия, и часть из них к настоящему времени уже отсутствуют в природе.

ДНК из листьев выделяли с помощью модифицированного СТАВ-метода (СТАВ – цетилтриметиламмонийбромид) [Porebski et al.,

1997; Rahimah et al., 2006]. Оценку чистоты и пригодности ДНК (концентрация, степень деградации и наличие примесей) проводили спектрофотометрически по отношению поглощения при длинах волн A260/A280, учитывая, что ДНК имеет максимальное поглощение при длине волны 260 нм, белки – 280 нм, а углеводы, фенолы и др. – 230 нм.

Реакционная смесь для ПЦР (полимеразная цепная реакция) состояла из стерильной дистиллированной воды – 18 мкл, 10х буфера («Евроген», Москва) – 2,5 мкл, смеси 5х dNTP («Евроген») – 1 мкл, прямого праймера (10мкМ) и обратного (10 мклМ) по 0,5 мкл, Taq ДНК-полимеразы («Евроген») – 0,5 мкл, ДНК – 2 мкл. Амплификацию проводили в амплификаторе Bio-Rad T-100 (США). Последовательность праймеров представлена в работе [Жигунов и др., 2024]. Программа амплификации включала

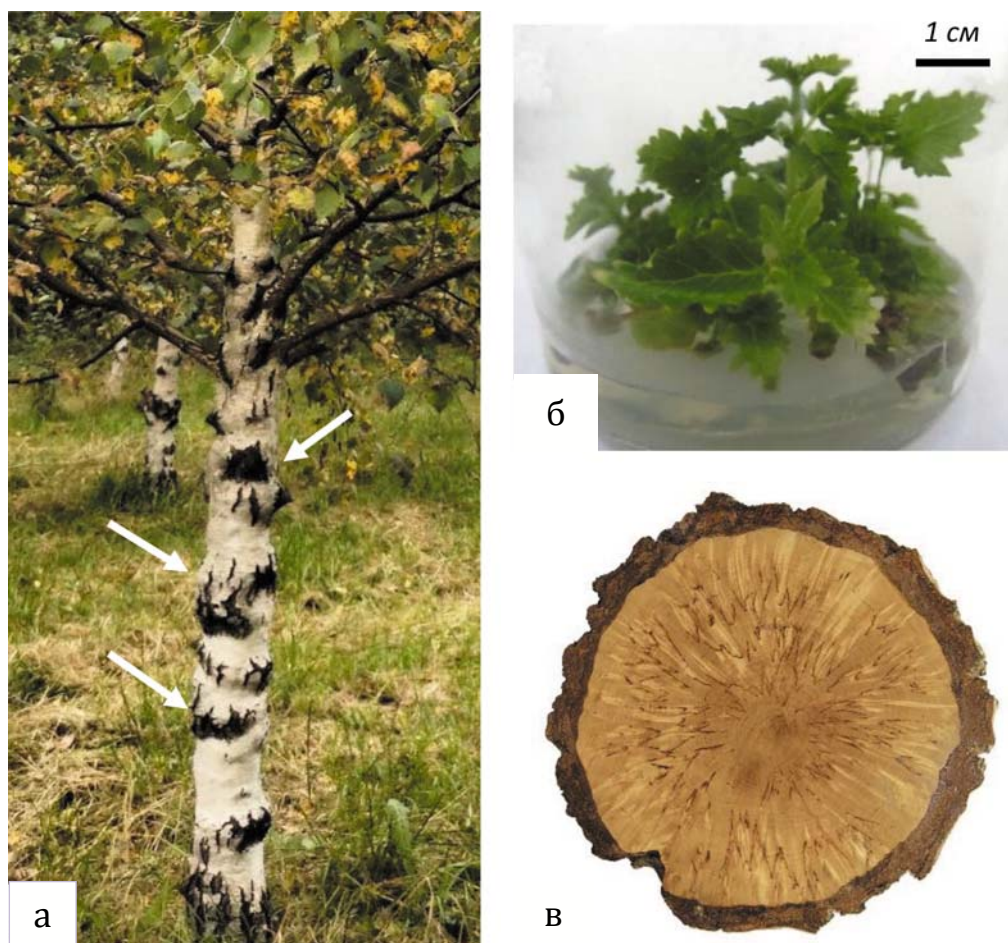


Рис. 1. Карельская береза в природе (а) и культуре *in vitro* (б). Узорчатая текстура древесины на поперечном спиле (в). Стрелками указаны утолщения на поверхности ствола, которые считаются косвенными признаками наличия узорчатой древесины

Fig. 1. Curly birch in the wild (а) and *in vitro* culture (б). Patterned wood texture on a cross-section (в). The arrows indicate thickenings on the trunk surface, which are considered to be indirect indicators of the presence of patterned wood

начальную стадию денатурации при 95 °С в течение 3 мин, затем 30 циклов: денатурация при 95 °С в течение 30 с, отжиг праймеров при 57 °С – 45 с, элонгация при 72 °С – 45 с и заключительный цикл элонгации при 72 °С – 5 мин. Электрофорез проводили в 1,0% агарозном геле в трис-боратном буфере с ЭДТА (TBE). ПЦР-продукты визуализировали в ультрафиолетовом свете после обработки геля раствором бромистого этидия. Обработка данных проведена с помощью программы MS Excel.

Результаты и обсуждение

До проведения диагностики клонов карельской березы и других представителей рода *Betula*, входящих в состав коллекции *in vitro*, с использованием молекулярного маркера BpCW1 на наличие у них генов, связанных с признаком «узорчатая древесина», была осуществлена оценка чистоты и концентрации ДНК, выделенной из листьев микропоголов, инициированных *in vitro* на питательной среде из меристематических тканей апексов вегетативных почек взрослых деревьев. Спектрофотометриче-

ский анализ показал, что среди образцов 33,3 % имели высокое качество ДНК, поскольку значения соотношения оптической плотности 260/280 (оценивает чистоту нуклеиновых кислот от белковых примесей) и 260/230 (оценивает чистоту нуклеиновых кислот от органических примесей) у них находились в интервале 1,8–2,0 и соответствовали оптимальной величине [260/280..., 2009]. Для большинства образцов (60,5 %) чистота ДНК оказалась несколько ниже (от 1,6 до 1,8), но приемлемой (удовлетворительной) по качеству. Дополнительный контроль качества ДНК, проведенный с помощью электрофореза в агарозном геле, подтвердил ее пригодность для дальнейших исследований. Достаточной была и концентрация ДНК: у большинства клонов (более 80 %) она составила от 200 до 800 нг/мкл с преобладанием в диапазоне 300–400 нг/мкл.

Проведение ПЦР-анализа ДНК, выделенной из листьев микропоголов разных клонов карельской березы, позволил выявить аллели длиной как 530 п. н., так и 476 п. н., которые далее обозначены соответственно как N – аллель дикого типа (нормальный) и D – делеционный аллель (рис. 2, а).

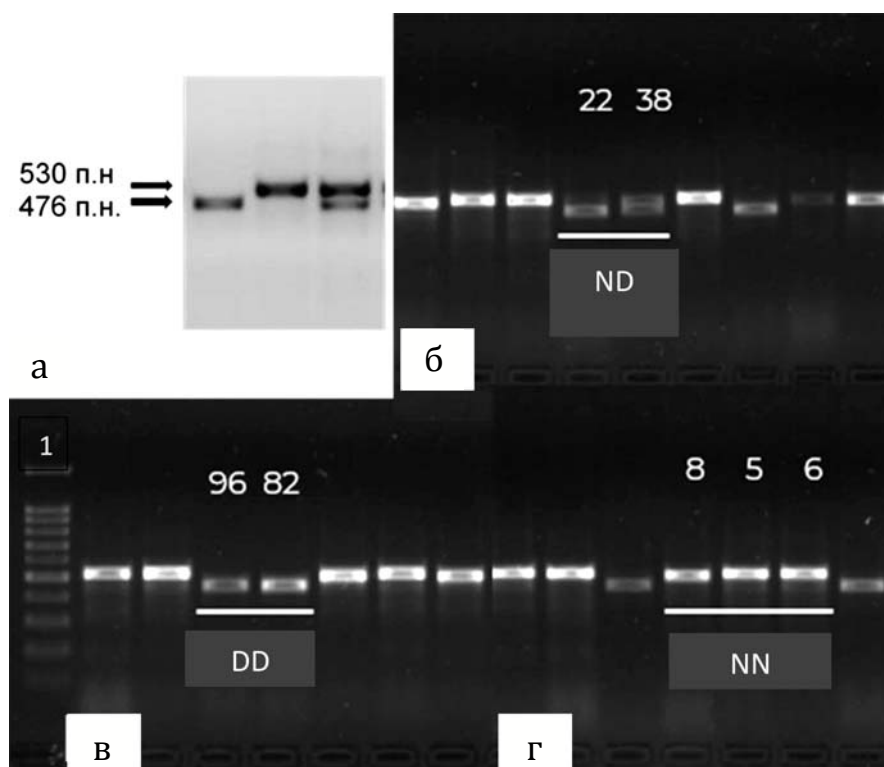


Рис. 2. Визуализация продуктов ПЦР-амплификации (а), где делеционный аллель (D), выявленный с использованием ДНК-маркера BpCW1, сцепленного с признаком «узорчатая древесина», присутствует в гетерозиготном состоянии (N/D) (б) или в гомозиготном (D/D) (в) в тканях клонов карельской березы, генотипы которых отобраны по косвенным признакам. На первой дорожке электрофореграммы (1) – маркер молекулярного веса 1000 п. н. Отсутствие делеции (N/N) (г) характеризует генотипы как «безузорчатые». Цифрами обозначены отдельные номера клонов, N – аллель дикого типа

Fig. 2. Visualization of PCR amplification products (a), where the deletion allele (D) being identified using the BpCW1 DNA marker linked to the “patterned wood” trait, is present in a heterozygous state (N/D) (б) or in a homozygous state (D/D) (в) in the tissues of curly birch clones whose genotypes were selected based on indirect indicators. The first lane of the electropherogram (1) shows a 1,000 bp molecular weight marker. The absence of a deletion (N/N) (г) characterizes genotypes as “patternless”. Numbers indicate individual clone numbers; N is the wild-type allele

Ранее при изучении 15- и 35-летнего семенного (сибсового) потомства (от контролируемого опыления) карельской березы, произрастающего на Заонежской лесосеменной плантации (Республика Карелия) [Ветчинникова и др., 2023], было показано, что у носителей признака «узорчатая древесина» проявляется утрата фрагментов ДНК длиной 54 нуклеотида в регуляторной области гена *Brev01.c0000.g0109*, причем с частотой 92 % и выше [Gubaev et al., 2024]. Отсутствие делеции и гомозиготность по аллелю, выявляемому как ПЦР-продукт 530 п. н., напротив, характеризуют растение как «безузорчатые».

В вегетативном потомстве карельской березы у 42 из 48 клонов (87,5 %) обнаружены аллели длиной 476 п. н., характерные для «узорчатых» растений (рис. 3, а). При этом у 62 % они были в гетеро-, а у 38 % – в гомозиготном состоянии (рис. 2, б, в; рис. 3, б). Использование маркера, однако, не позволило обнаружить делецию у 6 клонов карельской березы, находящихся в условиях *in vitro*, хотя у генетически однородных растений в условиях *ex vitro* косвенные признаки наличия узорчатой древесины визуально проявились в возрасте 7 лет. Причины этого могут быть различными, и они уточняются.

Сравнительный анализ вегетативного потомства, имеющего разное географическое происхождение, показал, что у карельской березы карельского происхождения аллели чаще (более чем в 1,4 раза) находятся в гетерозиготном

состоянии, чем в гомозиготном. Об этом свидетельствуют и повышенные значения частоты встречаемости генотипа N/D по сравнению с D/D (табл.). Клоны, исходные деревья которых произрастают (или произрастали) в Беларуси и Дании, содержат преимущественно аллели в гомозиготном состоянии (D/D), а в Ленинградской области (Россия) и Норвегии – в гетерозиготном (N/D). У клонов карельской березы из Смоленской области (Россия) и Финляндии соотношение аллелей в гетеро- и гомозиготном состоянии было примерно равным. Однако для подтверждения выявленного соотношения аллелей в геноме карельской березы, деревья которой имеют разное происхождение, необходимо в дальнейшем увеличить число клонов, представляющих разные страны и регионы.

Интересные результаты получены при изучении клонов березы повислой, березы пушистой и их разновидностей, входящих в состав коллекции *in vitro*. Как и ожидалось, в геноме у большинства из них молекулярный маркер BpCW1 не выявил делеционный аллель (N/N) (рис. 2, г), локализованный на 10-й хромосоме и сцепленный с признаком «узорчатая древесина», поскольку для них характерна прямослойная текстура.

Однако обращает на себя внимание, что делеция (N/D) обнаружена также у клона, соответствующего ледяной березе, которую часто принимают за карельскую березу из-за наличия выпуклостей на поверхности ствола.

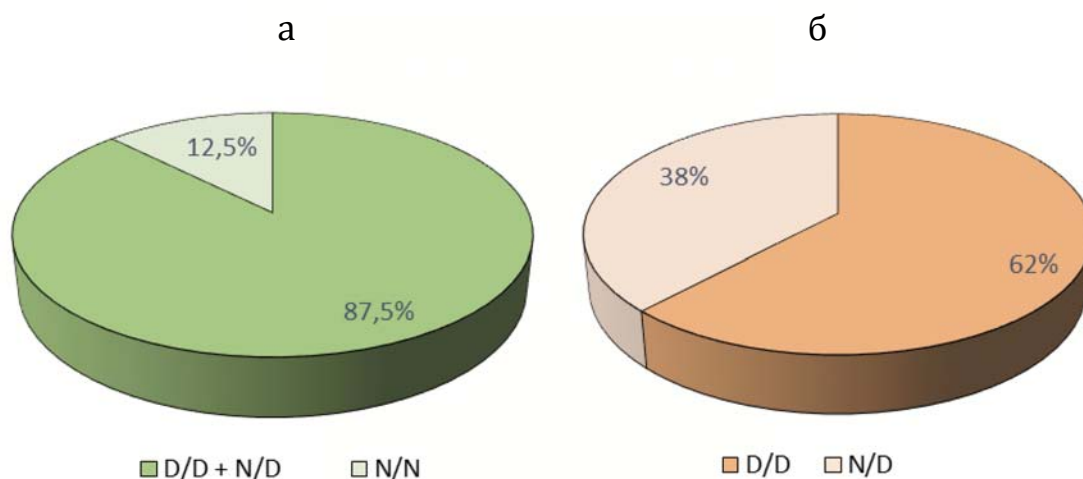


Рис. 3. Соотношение клонов карельской березы: а – по наличию делеции (D/D + N/D) или ее отсутствию (N/N) – «узорчатые» / «безузорчатые» (в % от общего числа клонов); б – по проявлению аллелей: гомозиготы (D/D) или гетерозиготы (N/D) (в % от числа «узорчатых» клонов), выявленных с использованием молекулярного маркера BpCW1

Fig. 3. Ratio of curly birch clones: а – by the presence of a deletion (D/D + N/D) or its absence (N/N) – “patterned” / “patternless” (as a percentage of the total number of clones); б – by the expression of alleles: homozygotes (D/D) or heterozygotes (N/D) (as a percentage of the number of “patterned” clones), identified using the BpCW1 molecular marker

Частота встречаемости аллелей у клонов карельской березы разного географического происхождения, выявленных с помощью молекулярного маркера BpCW

Allele frequencies in curly birch clones of different geographical origins identified using the BpCW molecular marker

Страны (регионы) происхождения Country (region) of origin	Аллель Allele		Генотип Genotype		
	N	D	N/D	D/D	N/N
Беларусь, Дания Belarus, Denmark	0	1,0	0	1,0	0
Россия (Ленинградская обл.), Норвегия Russia (Leningrad Region), Norway	0,50	0,50	1,0	0	0
Россия (Республика Карелия) Russia (Republic of Karelia)	0,37	0,63	0,59	0,41	0
Россия (Смоленская обл.), Финляндия Russia (Smolensk Region), Finland	0,33	0,67	0,50	0,50	0

Примечание. Данные представлены в относительных единицах, где N – аллель дикого типа, D – делеционный аллель.

Note. Data are presented as relative units, where N – wild-type allele, D – deletion allele.

Отличительной особенностью ледяной березы является ее древесина, которая обладает волнистой текстурой с перламутровым оттенком (похожим на лед, что и определило ее название), но не содержит темно-коричневые включения, характерные для карельской березы (рис. 4). Ледяная береза является флористической редкостью и, как правило, сопутствует карельской березе в природных и искусственно созданных популяциях в северной части ее ареала

(преимущественно в Швеции, Финляндии и России – в Республике Карелия и Ленинградской области) [Ветчинникова и др., 2013]. В южной части ареала карельской березы, например на территории Беларуси, Польши и Словакии, она не обнаружена. Заметим, что ледяная береза не имеет и собственного латинского названия, а финские исследователи относят ее к карельской и выделяют как тип R (кольчатая) [Saarnio, 1976; Kosonen et al., 2004; Hagqvist, Mikkola, 2008].

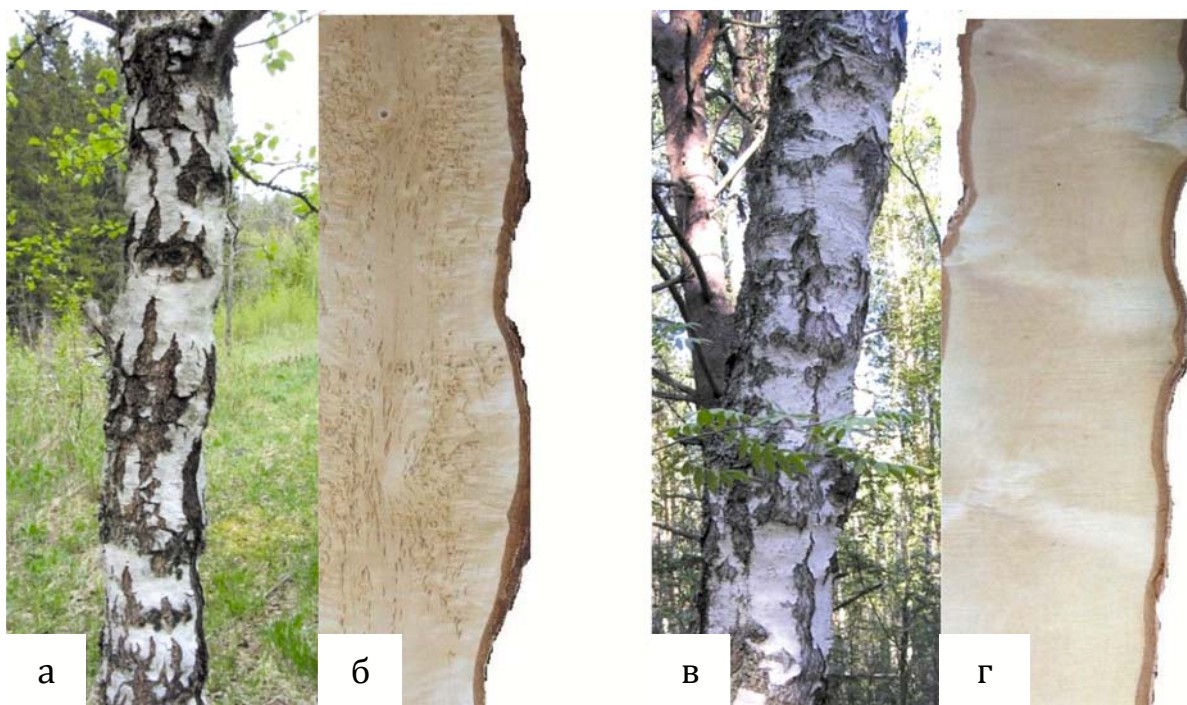


Рис. 4. Карельская береза (а), ледяная береза (в) и их древесина (б, г соответственно) на продольном спиле ствола

Fig. 4. Curly birch (a), ice birch (b) and their wood (б, г, respectively) on a longitudinal cut of the trunk

Наряду с этим открытыми остаются и многие другие важные вопросы, хотя в последние два-три десятилетия исследования карельской березы значительно продвинулись вперед, заметно расширив наши знания об этом уникальном биологическом объекте. Один из них касается происхождения карельской березы. Неясно, каким образом среди видов рода *Betula*, являющихся важнейшими лесообразующими породами в Евразии и Северной Америке, в пределах довольно ограниченного и фрагментированного ареала могли появиться и эволюционно закрепиться особи, располагающие генетическим контролем другого типа текстуры древесины и вдобавок характеризующиеся полиморфизмом жизненных форм.

Как известно, основные источники генетической изменчивости в популяциях перекрестноопыляемых видов – мутации, рекомбинации и поток генов из других популяций – реализуют себя через половой процесс при скрещивании генетически различающихся родительских форм с образованием новых гибридных форм, что расширяет генетическое разнообразие, предоставляя тем самым новый материал и новые «возможности» для естественного отбора. При этом в популяциях может происходить дивергенция по отдельным признакам, комплексам признаков и т. д., что в конечном счете в определенных случаях ведет к образованию новых видов [Тимофеев-Ресовский и др., 1973; Майр, 1974; Динамика..., 2004]. Однако в отношении карельской березы, по нашим представлениям [Ветчинникова, Титов, 2016, 2021], речь, скорее всего, идет об интрогрессии, т. е. об успешной гибридизации между близкородственными видами или разновидностями в «гибридных зонах». Хотя исключать важную роль мутаций и рекомбинаций в увеличении внутри- и межвидового разнообразия, разумеется, нельзя. Например, сравнительный анализ референсных геномов березы повислой [Salojärvi et al., 2017] и карельской березы позволил обнаружить структурные вариации ДНК, включающие около 600 тыс. SNP, более 80 тыс. инсерций (вставок) и около 70 тыс. делеций [Shumkova, Potokina, 2025].

По результатам нашего исследования, утрата фрагмента ДНК длиной 54 нуклеотида, ассоциированная с признаком «узорчатая древесина», имеет место у 87,5 % изученных образцов микропобегов карельской березы. Это показывает достаточно высокую эффективность использования SNP в качестве маркера для диагностики наличия/отсутствия узорчатой древесины – экономически крайне важного признака, характерного главным образом

для карельской березы, что до сих пор было невозможно сделать другими методами, основанными на оценке ее внешних (морфологических), визуально регистрируемых признаков.

Заключение

В целом использование недавно предложенного молекулярного маркера BpCW1 [Gubaev et al., 2024] уже на уровне культуры микропобегов *in vitro* позволяет выявить наличие делеции (т. е. потери участка ДНК размером 54 п. н.), связанной с признаком «узорчатая древесина», для диагностики клонов карельской березы, входящих в состав ранее созданной и поддерживаемой нами коллекции *in vitro*, генотипы которых изначально были отобраны на основе визуально фиксируемых (морфологических) признаков. Так, в результате ПЦР-анализа у 42 из 48 клонов (или 87,5 %) карельской березы идентифицированы соответствующие продукты амплификации. Причем у 62 % из них один аллель находился в гомозиготном состоянии, а у 38 % – в гетерозиготном. Использование маркера BpCW1 также подтвердило отсутствие делеции у клонов других представителей рода *Betula*, что соответствует присущей им прямой текстуре древесины.

Таким образом, можно заключить, что использование молекулярного маркера BpCW1, связанного с делецией, показало его достаточно высокую эффективность для выявления узорчатой древесины у клонов карельской березы, культивируемых в условиях *in vitro*, исходные деревья которых отобраны исключительно на основе внешних косвенных признаков. Однако данный факт по сути ничего не добавляет в плане раскрытия генетических основ наследования признака «узорчатая текстура древесины». Существующие же на этот счет предположения не имеют пока достаточного экспериментального подтверждения и носят гипотетический характер. По-прежнему также неясны и особенности экспрессии генов, которые отвечают за данный признак (или участвуют в контроле над ним). Поиск ответов на эти крайне важные вопросы требует проведения дальнейших исследований, сочетающих традиционные генетические подходы с использованием новейших методов молекулярной биологии.

Авторы выражают глубокую благодарность д. с.-х. н. А. В. Жигунову за содействие в организации исследований, а также Д. С. Каржаеву – за помощь в освоении методов проведения молекулярно-генетических исследований.

Литература

- Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. Карельская береза: важнейшие результаты и перспективы исследований. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2021. 243 с.
- Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. О границах ареала карельской березы // Изв. вузов. Лесной журнал. 2020. № 6. С. 9–21. doi: 10.37482/0536-1036-2020-6-9-21
- Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. Происхождение карельской березы: эколого-генетическая гипотеза // Экологическая генетика. 2016. Т. XIV, № 2. С. 3–18.
- Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Костина Е. Э., Жигунов А. В. Сибсовое потомство карельской березы на Заонежской лесосеменной плантации // Изв. вузов. Лесной журнал. 2023. № 5. С. 9–26. doi: 10.37482/0536-1036-2023-5-9-26
- Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Кузнецова Т. Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 312 с.
- Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. Ю. П. Алтухова. М.: Наука, 2004. 619 с.
- Ермаков В. И. Механизмы адаптации березы к условиям Севера. Л.: Наука, 1986. 144 с.
- Жигунов А. В., Ветчинникова Л. В., Губаев Р. Ф., Каржаев Д. С., Волков В. А., Потокина Е. К. ВрсW1 – молекулярный маркер для выявления генотипов карельской березы на ранних стадиях развития. Патент на изобретение РФ № 2823809. Заявка от 02.09.2023. Дата регистрации 30.07.2024. Опубликовано 30.07.2024. Бюл. № 22.
- Коллекция *in vitro* клонов редких растений семейства Betulaceae // Научно-технологическая инфраструктура Российской Федерации: центры коллективного пользования научным оборудованием и уникальные научные установки [Электронный ресурс]. 2016. URL: <https://ckp-rf.ru/usu/465691/> (дата обращения: 06.08.2025).
- Майр Э. Популяции, виды и эволюция. М.: Мир, 1974. 460 с.
- Сакс К. А., Бандер В. Л. Опыт по выращиванию карельской березы в Латвийской ССР // Лесная генетика, селекция и семеноводство. Петрозаводск: Карелия, 1970. С. 294–300.
- Соколов Н. О. Отбор и выращивание березы карельской в Ленинградской области с использованием самосева // Лесная генетика, селекция и семеноводство. Петрозаводск: Карелия, 1970. С. 277–281.
- Тимофеев-Ресовский Н. В., Яблоков А. В., Глозов Н. В. Очерк учения о популяции. М.: Наука, 1973. 277 с.
- Gubaev R., Karzhaev D., Grigoreva E., Lytkin K., Safronycheva E., Volkov V., Nesterchuk V., Vetchinnikova L., Zhigunov A., Potokina E. Dissection of figured wood trait in curly birch (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti) using high-throughput genotyping // Sci. Rep. 2024. Vol. 14. P. 50–58. doi: 10.1038/s41598-024-55404-y
- Hagqvist R., Mikkola A. Visakoivun kasvatus ja käyttö. Helsinki: Metsäkustannus Oy, 2008. 168 s.
- Hynynen J., Niemistö P., Viherä-Aarnio A., Brunner A., Hein S., Velling P. Silviculture of birch (*Betula pendula* Roth and *Betula pubescens* Ehrh.) in Northern Europe // Forestry: International Journal of Forest Research. 2010. Vol. 83, no. 1. P. 103–119. doi: 10.1093/forestry/cpp035
- Kosonen M., Leikola M., Hagqvist R., Mikkola A., Väitalo H. Visakoivu. Curly Birch. Metsälehti Kustannus, 2004. 208 p.
- Porebski S., Bailey L. G., Baum B. R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components // Plant Mol. Biol. Report. 1997. Vol. 15, no. 1. P. 8–15. doi: 10.1007/BF02772108
- Rahimah A. B., Cheah S. C., Rajinder S. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA // J. Oil Palm Res. 2006. Vol. 18. P. 296–304.
- Ryynänen L. Cloning of *Betula pendula* and *Betula pubescens* by means of tissue culture // Bulletin of the Finnish Forest Research Institute. 1988. No. 304. P. 24–30.
- Saarnio R. Viljeltyjen visakoivikoiden laatu ja kehitys Etelä-Suomessa // Folia Forestalia. 1976. No. 263. P. 3–28.
- Salojärvi J., Smolander O.-P., Nieminen K. et al. Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of Silver birch // Nat. Genet. 2017. Vol. 49, no. 6. P. 904–912. doi: 10.1038/ng.3862
- Shumkova V. A., Potokina E. K. Whole genome assembly of Karelian birch and analysis of chromosome regions associated with the curly wood phenotype // Сб. тезисов докладов XIV Конгресса молодых ученых ИТМО [Электронный ресурс]. СПб.: Ун-т ИТМО, 2025. URL: <https://kmu.itmo.ru/digests/article/15295> (дата обращения: 06.08.2025).
- 260/280 and 260/230 Ratios // Thermo Scientific. T042-Technical Bulletin. NanoDrop Spectrophotometers [Электронный ресурс]. Wilmington, DE: Thermo Fisher Scientific, 2009. URL: https://dna.uga.edu/wp-content/uploads/sites/51/2019/02/Note-on-the-260_280-and-260_230-Ratios.pdf (дата обращения: 06.08.2025).

References

- Altukhov Yu. P. (ed.). Dynamics of population gene pools under anthropogenic impact. Moscow: Nauka; 2004. 619 p. (In Russ.)
- Ermakov V. I. Mechanisms of birch adaptation to Northern conditions. Leningrad: Nauka; 1986. 144 p. (In Russ.)
- Gubaev R., Karzhaev D., Grigoreva E., Lytkin K., Safronycheva E., Volkov V., Nesterchuk V., Vetchinnikova L., Zhigunov A., Potokina E. Dissection of figured wood trait in curly birch (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti) using high-throughput genotyping. Sci. Rep. 2024;14:50–58. doi: 10.1038/s41598-024-55404-y
- Hagqvist R., Mikkola A. Visakoivun kasvatus ja käyttö. Helsinki: Metsäkustannus Oy; 2008. 168 s.
- Hynynen J., Niemistö P., Viherä-Aarnio A., Brunner A., Hein S., Velling P. Silviculture of birch (*Betula pendula* Roth and *Betula pubescens* Ehrh.) in Northern Europe. Forestry: International Journal of Forest Research. 2010;83(1):103–119. doi: 10.1093/forestry/cpp035
- In vitro collection of rare plant clones of Betulaceae family. Nauchno-tekhnologicheskaya infrastruktura Rossiiskoi Federatsii: tsentry kollektivnogo pol'zovaniya nauchnym oborudovaniem i unikal'nye nauchnye

ustanovki = Scientific and technological infrastructure of the Russian Federation: Centers for collective use of scientific equipment and unique scientific facilities. 2016. (In Russ.). URL: <https://ckp-rf.ru/usu/465691/> (accessed: 06.08.2025).

Kosonen M., Leikola M., Haggqvist R., Mikkola A., Väitalo H. Visakoivu. Curly Birch. Metsälehti Kustannus; 2004. 208 p.

Mayr E. Populations, species and evolution. Moscow: Mir; 1974. 460 p. (In Russ.)

Porebski S., Bailey L. G., Baum B. R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Report.* 1997;15(1):8–15. doi: 10.1007/BF02772108

Rahimah A. B., Cheah S. C., Rajinder S. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA. *J. Oil Palm Res.* 2006;18:296–304.

Ryyänen L. Cloning of *Betula pendula* and *Betula pubescens* by means of tissue culture. *Bulletin of the Finnish Forest Research Institute.* 1988;304:24–30.

Saarnio R. Viljeltyjen visakivikoiden laatu ja kehitys Etelä-Suomessa. *Folia Forestalia.* 1976;263:3–28.

Saks K. A., Bander V. L. Experience of cultivating curly birch in the Latvian SSR. *Lesnaya genetika, selektsiya i semenovodstvo = Forest genetics, breeding and seed production.* Petrozavodsk: Kareliya; 1970. P. 294–300. (In Russ.)

Salojärvi J., Smolander O.-P., Nieminen K. et al. Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of Silver birch. *Nat. Genet.* 2017;49(6):904–912. doi: 10.1038/ng.3862

Shumkova V. A., Potokina E. K. Whole genome assembly of Karelian birch and analysis of chromosome regions associated with the curly wood phenotype. *Sb. tezisev dokladov XIV Kongressa molodykh uchenykh ITMO = Proceed. of the XIV Congress of Young Scientists of ITMO.* St. Petersburg: ITMO University, 2025. URL: <https://kmu.itmo.ru/digests/article/15295> (accessed: 06.08.2025).

Sokolov N. O. Selection and cultivation of curly birch in the Leningrad Region using self-seeding. *Lesnaya*

genetika, selektsiya i semenovodstvo = Forest genetics, breeding and seed production. Petrozavodsk: Kareliya; 1970. P. 277–281. (In Russ.)

Timofeev-Resovskii N. V., Yablokov A. V., Glotov N. V. An Essay on the doctrine of population. Moscow: Nauka; 1973. 277 p. (In Russ.)

Vetchinnikova L. V., Titov A. F. Curly birch: main results and research perspectives. Petrozavodsk: KarRC RAS; 2021. 243 p. (In Russ.)

Vetchinnikova L. V., Titov A. F. The origin of the Karelian birch: An ecogenetic hypothesis. *Russian Journal of Genetics: Applied Research.* 2017;7(6):665–677. doi: 10.1134/S2079059717060144

Vetchinnikova L. V., Titov A. F. Update on the boundaries of the curly birch range. *Izvestiya vuzov. Lesnoi zhurnal = Bulletin of Higher Educational Institutions. Russian Forestry Journal.* 2023;6:9–21. (In Russ.). doi: 10.37482/0536-1036-2020-6-9-21

Vetchinnikova L. V., Titov A. F., Kostina E. E., Zhigunov A. V. Siblings progeny of curly birch on the Zaonezhskaya forest seed plantation. *Izvestiya vuzov. Lesnoi zhurnal = Bulletin of Higher Educational Institutions. Russian Forestry Journal.* 2023;5:9–26. (In Russ.). doi: 10.37482/0536-1036-2023-5-9-26

Vetchinnikova L. V., Titov A. F., Kuznetsova T. J. Curly birch: biological characteristics, resource dynamics, and reproduction. Petrozavodsk: KarRC RAS; 2013. 312 p. (In Russ.)

Zhigunov A. V., Vetchinnikova L. V., Gubaev R. F., Karzhaev D. S., Volkov V. A., Potokina E. K. BpCW1 – molecular marker for early identification of curly birch genotypes. Patent RU2823809C1. Application dated September 2, 2023. Registration date July 30, 2024. Published July 30, 2024. Bulletin No. 22. (In Russ.)

260/280 and 260/230 Ratios. *Thermo Scientific. T042-Technical Bulletin. NanoDrop Spectrophotometers.* Wilmington, DE: Thermo Fisher Scientific, 2009. URL: https://dna.uga.edu/wp-content/uploads/sites/51/2019/02/Note-on-the-260_280-and-260_230-Ratios.pdf (accessed: 06.08.2025).

Поступила в редакцию / received: 16.03.2026; принята к публикации / accepted: 24.03.2026.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ветчинникова Лидия Васильевна

д-р биол. наук, главный научный сотрудник
лаборатории лесных биотехнологий

e-mail: vetchin@krc.karelia.ru

Гудкова Ксения Александровна

младший научный сотрудник отдела лесной
генетики, селекции и биотехнологий

e-mail: blumks@yandex.ru

Титов Александр Федорович

чл.-корр. РАН, д-р биол. наук, профессор,
руководитель лаборатории экологической
физиологии растений

e-mail: titov@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Vetchinnikova, Lidia

Dr. Sci. (Biol.), Chief Researcher

Gudkova, Kseniya

Junior Researcher

Titov, Alexander

RAS Corr. Fellow, Dr. Sci. (Biol.), Professor,
Head of Laboratory