

Д. В. Галиновский, канд. биол. наук;  
(ИГиЦ, г. Минск)

Н. Е. Мокшина, канд. биол. наук;  
(КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань)

Л. В. Хотылева, академик;

А. В. Кильчевский, академик;  
(ИГиЦ, г. Минск)

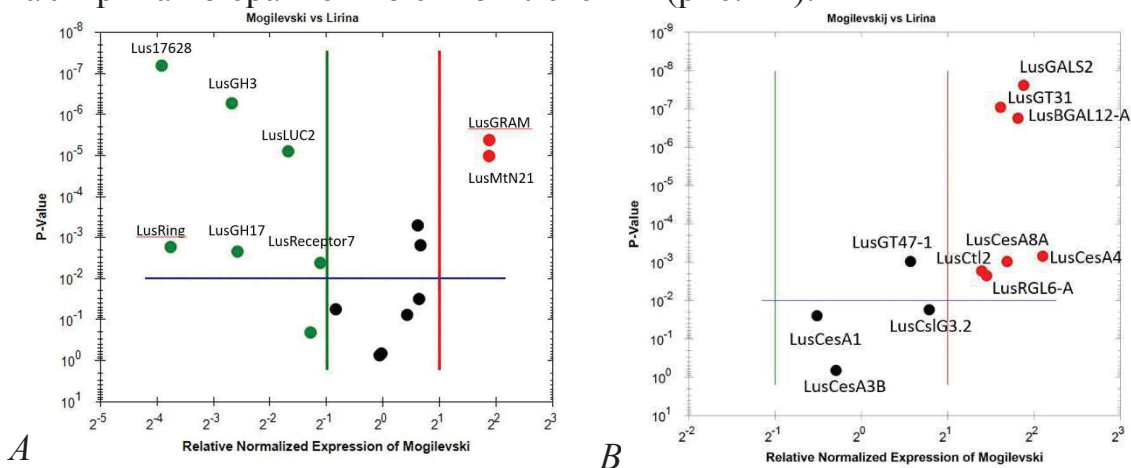
Т. А. Горшкова, проф., д-р биол. наук  
(КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань)

## **РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЬНОВОЛОКНА**

Льноволокно является важным промышленным сырьем, которое традиционно используется в текстильной промышленности, но сегодня это далеко не единственная область его применения. Параметры качества льноволокна являются интегральным показателем, зависящим от особенностей развития клеток волокон внутри растительного организма (биологическая компонента), а также от применяемых технологий при выращивании и переработки льна. Данная работа посвящена изучению биологической компоненты качества льноволокна, а именно – изучению генетических механизмов развития волокон, что в перспективе позволит увеличить урожай и качество льноволокна.

С биологической точки зрения волокна льна – это индивидуальные клетки, которые проходят три стадии развития: инициацию, элонгацию (интрузивный рост) и специализацию (утолщение) [1]. Причем эти стадии можно одновременно найти в одном растении, но в разных его частях. Стадия инициации волокон происходит в прокамбии, который расположен в самой верхушке растения. На расстоянии примерно 0,5 см от верхушки начинается стадия элонгации (интрузивный рост), а «точка слома» [2], которая располагается примерно на 7-10 см ниже верхушки, маркирует переход волокон к стадии специализации. В данной работе мы изучали стадию элонгации и специализации у двух сортов льна – Могилевский (лен-долгунец) и Лирина (лен масличный). Отбирали фрагменты стеблей, содержащие волокна на соответствующих стадиях развития. Из волокон на стадии специализации и фрагментов стебля, содержащих волокна на стадии элонгации, выделяли общую РНК, на основе которой синтезировали кДНК. Полученные препараты кДНК использовали в качестве матрицы в реакции количественной ПЦР для определения уровня экспрессии интересующих генов.

На стадии элонгации происходит многократное (в 1000 и более раз) удлинение клетки. Интенсивность интрузивного роста определяет количество волокон в пучке и его структуру и, как следствие, напрямую влияет на качество льноволокна [1]. При этом механизмы интрузивного роста изучены слабо, хотя были определены гены, которые активно транскрибируются в волокнах на данной стадии развития [3]. При сравнении уровня экспрессии на этой стадии у двух сортов установили, что гены Lus10010167 (кодирующий GEM-LIKE PROTEIN 4-RELATED с GRAM доменом (LusGRAM)) и Lus10033510 (кодирующий EamA-like transporter nodulin MtN21 (LusMtN21)) в 3,7 раза сильнее экспрессируются в сорте Могилевский, чем сорте Лирина (рис. 1А). Еще несколько генов (Lus10017628, Lus10005815 (LusRING), Lus10003598 (LusGH3), Lus10038501 (LusGH17), Lus10031192 (LusLUC2) и Lus10014905 (LusReceptor7)) сильнее экспрессируются у сорта Лирина по сравнению с Могилевским (рис. 1А).



**Рис. 1 – Экспрессия генов у сорта Могилевский относительно сорта Лирина на стадии элонгации (А) и специализации (В) волокон. Красная и зеленая линии на рисунках задают границы двукратной разницы экспрессии (в большую и меньшую стороны, соответственно) у растений сорта Могилевский по сравнению с сортом Лирина. Синяя черта соответствует р значению 0,01. Точки, которые располагаются над этой чертой, соответствуют генам, для которых  $p < 0,01$ .**

На стадии специализации в волокнах льна формируются третичная клеточная стенка [4], которая содержит большое количество целлюлозы и специфический пектин – рамногалактуронан I (RG-I). В работе мы оценили экспрессию генов, продукты которых потенциально включены в метаболизм RG-I и биосинтез целлюлозы.

Гены целлюлозосинтаз LusCESA4 (Lus10008225) и LusCESA8-A (Lus10007296) на стадии специализации волокон экспрессировались сильнее в волокнах льна-долгунца, чем льна масличного (в 4,29 и 3,22 раза, соответственно). Это же верно для гена LusCTL2, который пред-

полжительно кодирует кофактор для биосинтеза целлюлозы. В тоже время уровень экспрессии других целлюлозосинтаз LusCESA1 (Lus10018902) и LusCESA3-B (Lus10007538) был примерно равный у исследованных сортов. Это интересный факт, поскольку указанные целлюлозосинтазы имеют различную функциональную специализацию и регуляцию.

Гены, которые потенциально связаны с метаболизмом RG-I (LusGALS2, LusGT31, LusBGAL12-A, LusRGL6-A), также экспрессировались в 2,7-3,7 раза сильнее в волокнах льна-долгунца по сравнению с волокнами льна масличного (рис. 1B).

Таким образом, полученные данные демонстрируют количественные различия экспрессионных профилей волокон различных сортов льна. Процессы, связанные с формированием третичной клеточной стенки, которая является ключевой детерминантой качества льноволокна и его механических свойств, более интенсифицированы у долгунцов и закреплены, по всей видимости, генетически. Продукты генов, экспрессия которых повышена у долгунцов на стадии интрузивного роста (LusGRAM и LusMtN21), предположительно могут быть ассоциированы с гормональными сетями. Выявленные генетические различия могут быть использованы для создания генетических маркеров качества льноволокна.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФ (проект №17-76-20049). Аннотация генов и их нумерация приведены в соответствии с базой данной Phytozome (phytozome.jgi.doe.gov).*

## ЛИТЕРАТУРА

1 Mokshina, N.; Chernova, T.; Galinousky, D.; Gorshkov, O.; Gorshkova, T. Key Stages of Fiber Development as Determinants of Bast Fiber Yield and Quality // *Fibers*. – 2018 – Vol. 6, N 20 – doi:10.3390/fib6020020.

2 Gorshkova, T.A., Sal'nikov, V.V., Chemikosova, S.B., Ageeva, M.V., Pavlencheva, N.V., and van Dam, J.E.G. The snap point: a transition point in *Linum usitatissimum* bast fiber development // *Ind. Crops Prod.* – 2003 – Vol. 18, pp. 213–221. doi: 10.1016/S0926-6690(03)00043-8

3 Gorshkova, T., Chernova, T., Mokshina, N., Gorshkov, V., Kozlova, L., Gorshkov, O. Transcriptome Analysis of Intrusively Growing Flax Fibers Isolated by Laser Microdissection. // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8:14570. doi: 10.1038/s41598-018-32869-2.

4 Gorshkova, T., Chernova, T., Mokshina, N., Ageeva, M., Mikshina, P. 2018a. Plant “muscles”: Fibers with a tertiary cell wall // *New Phytol.* – 2018. – Vol. 218, 66–72. doi: 10.1111/nph.14997.