

УДК 577.214: 004.9

Д. В. Галиновский, канд. биол. наук, доц. (ИГиЦ, г. Минск);
Н. Е. Мокшина, канд. биол. наук (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань);
Т. А. Подвицкий, асп. (University of Cologne, г. Кельн);
В. З. Богдан, канд. с-х. наук, доц., зав. лаб. (Институт льна, аг. Устье);
Т. А. Горшкова, проф., д-р биол. наук (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань);
А. В. Кильчевский, проф., д-р биол. наук, академик (ИГиЦ, г. Минск)

ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЛЬНОВОЛОКНА

Лен является важной технической культурой, которая выращивается для получения пряжи (лен-долгунец) или масла (масличный лен). Из стеблей льна получают льноволокно, качество которого определяется технологией возделывания и переработки, а также биологическим потенциалом растительного организма.

Для формирования волокон особенно важна стадия быстрого роста растений льна, в процессе которой клетки волокон значительно удлиняются посредством интрузивного роста, а затем утолщается их клеточная стенка [1]. В данной работе предлагается подход, который устанавливает связь между параметрами качества технического волокна, получаемого после созревания растений, и уровнем экспрессии генов, функционирующих на стадии быстрого роста при развитии растений. На основании полученных ранее транскриптомных данных для данной работы были отобраны гены с ткане- и стадияспецифичным характером экспрессии [2].

Исследование выполняли на образцах льна рабочей коллекции, включавшей сорта льна-долгунца (Арамис, Грант, Дракар, Ласка, Могилевский, Эден), льна масличного (Лирина и Орфей) и дикие виды льна (*Linum angustifolium*, *L. bienne*). Общий план эксперимента и схема отбора растительного материала представлены на рис. 1.

В результате получили два набора данных, первый из которых отображал уровень экспрессии генов в клетках флоэмных волокон на стадии интрузивного роста (17 генов) и утолщения клеточной стенки (32 гена) [2], а второй – параметры качества трепанного волокна (техническая длина растений, разрывная нагрузка волокна и его гибкость).

В последующем регрессионном анализе показатели качества были использованы как зависимые переменные, а значения уровня экспрессии генов – как независимые (табл. 1). Регуляризацию регрессионных моделей проводили двумя методами – Stepwise и LASSO [3]. Значения R^2 для полученных моделей указывают, что они описывают большую часть вариативности показателей качества (табл. 1). Как

независимые переменные в моделях присутствуют гены, продукты которых вовлечены в биосинтез целлюлозы (*LusCESA4*, *LusLTP3*, *LusCTL2*, *LusCESA8-A*, *LusFLA11-2*, *LusCESA1*) и нецеллюлозных полисахаридов (*LusGT47-1*), в ауксиновый ответ (*LusDFL*) и другие.

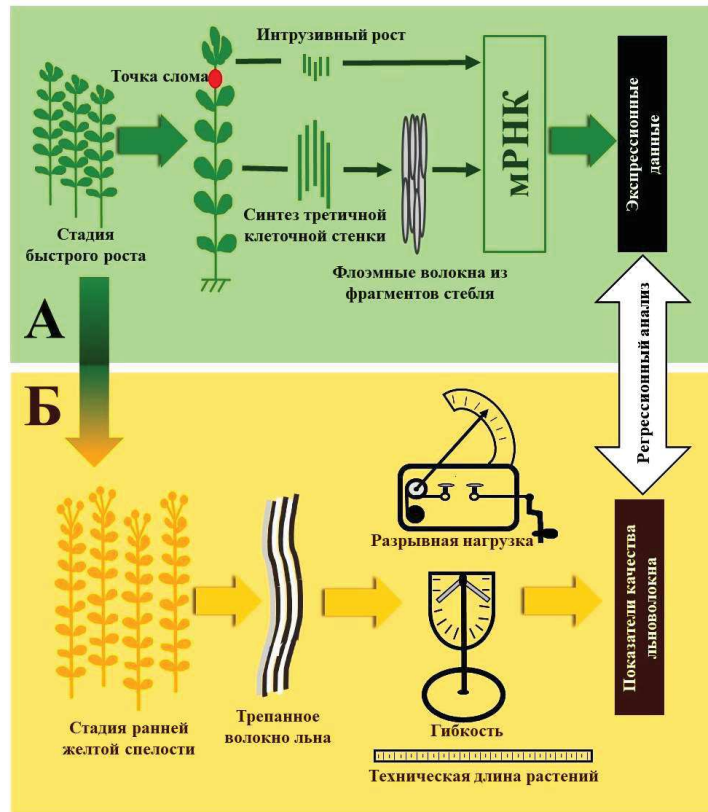


Рисунок 1 – Схема отбора растительного материала и дизайна эксперимента

На рисунке 1 изображена схема отбора растительного материала и дизайна эксперимента. Растительный материал отбирали на стадии быстрого роста (А) и ранней желтой спелости (Б). У отобранных на стадии быстрого роста растений удаляли все листья и корень, а стебли в области точки слома [4] разделяли на две части. Фрагменты стеблей, расположенные выше точки слома, содержали волокна на стадии интрузивного роста. Из данных фрагментов выделяли общую РНК, которую использовали для определения уровня экспрессии целевых генов методом RT-qPCR. Клетки флоэмных волокон, которые располагаются ниже точки слома, находятся на стадии специализации и образуют утолщенную третичную клеточную стенку [1]. Такие волокна изолировали из фрагментов стеблей, расположенных ниже точки слома, а затем из них выделяли общую РНК, которую также использовали для оценки уровня экспрессии целевых генов методом RT-qPCR. Из стеблей растений, собранных на стадии ранней желтой спелости (Б), получали трепанное техническое волокно методом росяной мочки (использовали агрегат СМТ-200М). Определяли параметры качества – разрывная нагрузка волокна и его гибкость, а также учитывали техническую длину растений. На основе полученных экспериментальных данных строили линейные регрессионные модели.

Таблица - Регрессионные модели для параметров качества льноволокна

Показатель	Независимая переменная	Adj. R ²	p-значение	Метод регуляризации модели
Разрывная нагрузка волокна	<i>LusDFL1, LusGT47-1</i>	0.58	2.3E-04	LASSO
	<i>LusDFL1, LusTH8, LusWNK-1, LusSWEET15, LusCESA4, LusLTP3, LusCTL2, LusABH, LusCTL19, LusCESA8-A, LusFLA11-2, LusCESA1</i>	0.97	8.8E-06	Stepwise
Гибкость волокна	<i>LusIPT</i>	0.42	2.1E-03	LASSO
	<i>LusIPT, LusKIN14H, LusAMLT, LusDFL1</i>	0.58	1.6E-03	Stepwise
Техническая длина стебля	<i>LusDFL1, LusGT47-1</i>	0.80	4.2E-07	LASSO
	<i>LusGT47-1, LusWRKY2, LusLTP3, LusWAKL20, LusLTPG5</i>	0.94	5.9E-09	Stepwise

Таким образом, предложенный подход позволяет установить связь между генетическим бэкграундом и хозяйственно-ценными признаками культуры льна, что может быть использовано в программах селекции и редактирования генома льна-долгунца.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РНФ №№ 17-76-20049 (параметры качества) и 20-44-07005 (часть транскриптомного анализа).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Mokshina, N.; Chernova, T.; Galinovsky, D.; Gorshkov, O.; Gorshkova, T. (2018) Key Stages of Fiber Development as Determinants of Bast Fiber Yield and Quality *Fibers*. 6(20). doi:10.3390/fib6020020.
- 2 Mokshina, N., Gorshkov, O., Galinovsky, D., Gorshkova, T. (2020). Genes with bast fiber-specific expression in flax plants - Molecular keys for targeted fiber crop improvement. *Ind. Crops and Prod.* 152:112549. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112549.
- 3 Hastie, T., Tibshirani, R., Tibshirani, R.J. (2017). Extended comparisons of best subset selection, forward stepwise selection, and the lasso. arXiv preprint arXiv:1707.08692.
- 4 Gorshkova, T.A., Sal'nikov, V.V., Chemikosova, S.B., Ageeva, M.V., Pavlencheva, N.V., and van Dam, J.E.G. (2003) The snap point: a transition point in *Linum usitatissimum* bast fiber development *Ind. Crops Prod.* 18: 213–221. doi: 10.1016/S0926-6690(03)00043-8.