

Научная статья

УДК 633.521:633.854:575.113.32:575.113.34:575.133

DOI: 10.30901/2658-6266-2023-4-04



Линии льна мутантные по хлорофильной окраске в генетической коллекции ВИР

Е. А. Пороховинова, Н. Б. Брач, А. А. Слободкина, А. В. Павлов

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Нина Борисовна Брач, n.brutch@vir.nw.ru

Фотосинтез – один из главных биологических процессов, обеспечивающий жизнь на планете. Использование знаний о генетическом контроле биосинтеза хлорофиллов поможет повысить продуктивность льна. В работе были изучены гибриды от скрещивания пяти линий дефектных по хлорофильной окраске и пяти – с зеленой окраской растения, различающихся по другим морфологическим признакам. Установлено наследование четырёх ядерных генов, контролирующих хлорофильную окраску растения. Независимые гены *ygpl* (*yellow green plant* у линии гк-210) и *ygp2* (у линии гк-473) – контролируют жёлто-зелёную окраску ювенильного растения (*Xanthovirescens*). Показано комплементарное взаимодействие этих генов, проявляющееся как жёлтая окраска ювенильного растения. Доказана аллельность *ygp2* (у гк-473) и *ygp2-2* (у гк-570), но не идентичность, так как мутации получены независимо. Гены *zebl* и *zeb2* (оба у линии гк-281), взаимодействуя по типу некумулятивной полимерии, обуславливают повышенную светочувствительность, чередование белых и зелёных полос на листьях (*Viridoalbostrata*). Эти гены маскируют работу генов *ygp1* и *ygp2*. Впервые в мире у льна установлен материнский тип наследования хлорофильной окраски растения, контролируемой хлоропластным геном *ygp3*. Носителем этого гена является линия гк-480. Установлено, что линия гк-570, помимо гена *ygp2-2*, гомозиготна по генам *CSB1* (наличие ресничек на ложной перегородке коробочки) и *YSED1* (доминантная жёлтосемянность), а линия гк-480, помимо гена *ygp3*, гомозиготна по генам *CSB1* и *dlb3* (светло голубой венчик). Доказана аллельность, но не равенство генов *dlb3* у линий гк-480 и гк-210. Гены хлорофильной окраски *ygp1* и *ygp2* перспективны для маркирования сортов. Необходимо их более подробное изучение с целью возможного создания пластичных сортов, способных переносить неблагоприятные условия на ранних стадиях развития.

Ключевые слова: лен-долгунец, лен-масличный, *Linum usitatissimum* L., генетическая коллекция, гены хлорофильной окраски, хлоропластные гены

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту FGEM-2022-0005 «Коллекция масличных и прядильных культур ВИР: поддержание, изучение, расширение генетического разнообразия».

Для цитирования: Пороховинова Е.А., Брач Н.Б., Слободкина А.А., Павлов А.В. Линии льна мутантные по хлорофильной окраске в генетической коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2023;6(4):14-27. DOI: 10.30901/2658-6266-2023-4-04

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их местам работы.

© Пороховинова Е.А., Брач Н.Б., Слободкина А.А., Павлов А.В., 2023

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2023-4-o4

Flax lines mutant for chlorophyll coloration in the genetic collection of VIR

Elizaveta A. Porokhovinova, Nina B. Brutch, Anastasia A. Slobodkina, Andrey V. Pavlov

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Nina B. Brutch, n.brutch@vir.nw.ru

Photosynthesis is one of the main biological processes that ensure life on the planet. The use of knowledge about the genetic control of chlorophyll biosynthesis will help to increase the productivity of flax. The paper presents a study of hybrids from the crosses of five lines defective in chlorophyll coloration and five with green coloration of the plant, differing in other morphological characteristics.

Inheritance of 4 nuclear genes controlling the chlorophyll coloration of the plant has been established. The independent genes *ygp1* (in the gc-210 line) and *ygp2* (in the gc-473 line) control the yellow-green coloration of a young plant (*Xanthovirescens*). The complementary interaction of these genes, which causes the yellow color of a young plant, has been demonstrated. The genes *ygp2* (in gc-473) and *ygp2-2* (in gc-570) were proved to be allelic but not identical, since mutations were obtained independently. The non-cumulative polymeric gene interaction which has been established in the case of *zeb1* and *zeb2* genes (both in the gc-281 line), cause an increase in photosensitivity and alternation of white and green stripes of leaves (*Viridoalbostrata*). These genes mask the action of the *ygp1* and *ygp2* genes. For the first time in the world, the maternal type of inheritance of the chlorophyll coloration of the plant, controlled by the chloroplast gene *ygp3* of the gc-480 line, has been established in flax. It was found that the gc-570 line, in addition to the *ygp2-2* gene, is homozygous for the genes *CSB1* (ciliation of the false septa of the boll) and *YSED1* (dominant yellow seeds), while the gc-480 line, in addition to the *ygp3* gene, is homozygous for the *CSB1* and *dlb3* genes (light blue corolla). The allelism but not equality of the *dlb3* genes in the gc-480 and gc-210 lines has been proven. The genes *ygp1* and *ygp2*, which are responsible for chlorophyll coloration may be promising for labeling varieties. It is necessary to study them in more detail for the possible creation of plastic varieties capable to endure unfavorable environmental conditions at early stages of development.

Keywords: fiber flax, oilseed flax, *Linum usitatissimum* L., genetic collection, chlorophyll coloration genes, chloroplast genes

Acknowledgements: The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Thematic Plan of VIR, Project No. FGEM-2022-0005 “The collection of oil and fiber crops at VIR: maintenance, study, and genetic diversity expansion”.

For citation: Porokhovinova E.A., Brutch N.B., Slobodkina A.A., Pavlov A.V. Flax lines mutant for chlorophyll coloration in the genetic collection of VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2023;6(4):14-27. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2023-4-o4

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer.

© Porokhovinova E.A., Brutch N.D., Slobodkina A.A., Pavlov A.V., 2023

Введение

Фотосинтез – один из главных биологических процессов, обеспечивающий жизнь на планете. Фотосинтетический аппарат листьев является единственным поставщиком энергии и органических веществ для метаболизма растений (Lisitsyn et al., 2022). У растений фотосинтез происходит в хлоропластах. В нём принимают участие четыре основных комплекса: фотосистема I (ФС1), фотосистема II (ФС2), цитохромный (b₆/f) и АТФ-синтазный комплексы, встроенные в липидные мембраны тилакоидов хлоропластов. Хлоропласт имеет собственную ДНК и рибосомы, но только часть белков хлоропласта формируется в нём, другие же синтезируются в цитоплазме, а затем переносятся в хлоропласт (Shestakov, 1998; Sakamoto et al., 2008).

Широко распространено мнение, что органеллы растением были получены путем эндосимбиоза. Считается, что предки эукариот – археи, жившие около 1,8 миллиарда лет назад. Они содержали актиновый цитоскелет, в обеспечении динамической нестабильности и реструктуризации которого участвует актин-связывающий белок профилин. Такой примитивный цитоскелет мог способствовать фагоцитозу аэробных бактерий, которые в процессе эволюции преобразовались в митохондрии, и цианобактерий, которые эволюционировали в хлоропласты. Данные исследований в области молекулярной биологии подтверждают, что эндосимбиоз α -протеобактерии, прародителя митохондрий, произошел около 1,5 млрд лет назад, а цианобактерии, прародителя хлоропластов, – около 1,2 млрд лет назад (Rose, 2019).

Биогенез хлоропласта контролируется несколькими тысячами ядерных генов и примерно сотней пластидных (Belcher et al., 2015). Каждый из четырёх основных комплексов аппарата фотосинтеза состоит из белков, кодируемых как хлоропластным, так и ядерным геномами. Белки светособирающих и хлорофилл-содержащих комплексов, а также участвующие в переносе электронов от ФС2 к ФС1, кодируются только ядерными генами. Существует и множество других белков, не участвующих в фотосинтезе, но играющих роль в его обслуживании, таких как ферменты биосинтеза хлорофилла, каротиноидов, транспортеры ионов, кофакторов, транслоказы, протеиназы и другие (Shestakov, 1998).

Обычно диплоидная растительная клетка содержит две копии ядерных генов, кодирующих белок, но тысячи копий генов, контролирующих формирование пластид. Количество генов, контролирующих формирование пластид, варьирует от двух до 200 на органеллу, причем копияемость определяется, как правило, не количеством повторов в одной хромосоме, называемой нуклеоидом, а именно количеством нуклеоидов. Количество пластидной ДНК в процессе онтогенеза может меняться. Хлоропластная ДНК имеет кольцевую структуру (Danilenko, Davydenko, 2003).

Хлоропластная ДНК состоит из четырех зон: большой

однокопийный район (LSC), малый однокопийный район (SSC) и два инвертированных повторяющихся района (IR), разделяющих LSC и SSC. Как правило, пластом высших растений содержит 60-80 белок-кодирующих генов, 3-5 генов, кодирующих рРНК и 17-35 – тРНК. Есть открытые рамки считывания (англ. Open Reading Frames, ORF) с неизвестной функцией. Пластидные гены условно разделяют на «генетические» и «фотосинтетические». К первым относят гены, связанные с работой генетического аппарата пластид: гены транспортных и рибосомных РНК и гены, кодирующие белки пластидных рибосом, РНК полимеразу. Ко вторым принадлежат гены большой субъединицы рибулозодифосфат карбоксилазы, фотосистем I и II, цитохромного комплекса b/f, АТФ-синтазные гены (Danilenko, Davydenko, 2003).

Пластом льна имеет размер 156721 пн, типичную структуру, и состоит из четырех зон: два района IR длиной в 31990 пн отделяют районы LSC 81767 пн и SSC 10974 пн. В пластоме льна было найдено 109 уникальных генов и два псевдогена. По сравнению с другими видами, у льна произошло два глобальных изменения: перенос генов *rps19/rpl2/rpl23/trnI* из IR в LSC и перенос генов *trnH*, *psbA*, *trnK* (частично) *matK* (частично) из LSC и генов *ycf1* (частично), *rps15*, *ndhH*, *ndhA* (частично), из SSC в IR, на границах этих зон, что привело к сильному изменению их размеров (Lopes et al., 2018).

Генетический контроль хлорофильной окраски хорошо изучен у однодольных – ячменя, кукурузы, пшеницы, овса, риса, и у двудольных – арабидопсиса, гороха, томатов и подсолнечника (Danilenko, Davydenko, 2003).

Как спонтанные, так и индуцированные с помощью химического или радиационного мутагенеза мутанты, не сразу вовлекаются в генетический анализ, а проходят несколько поколений отборов с инбридингом, чтобы убедиться в наследуемости признака и провести отбор на повышенные жизнеспособность и проявление признака. У этих мутантов, несмотря на все преимущества, такие как однородность, стабильность проявления, способность расти *in vivo*, хорошая изученность, есть серьезный недостаток – они получены на разном генетическом материале и сосредоточены в разных коллекциях, что делает невозможным их одновременное комплексное сравнительное изучение. Поэтому изучают мутанты, искусственно созданные путём инсерционного мутагенеза с помощью Т-ДНК или транспозонов на основе одного сорта. Полученные данными способами мутанты хорошо подходят для фундаментальных исследований, но нестабильны и, как правило, не имеют практического применения. У кукурузы получена коллекция из 2200 транспозонных *Mu*-индуцированных мутантов с нарушенным фотосинтезом. Фенотипически они отличаются по окраске листьев (светло-зелёные, белые, жёлтые, зеленеющие, полосатые), с изменённой хлорофильной флуоресценцией, некрозами и летальностью. При подробном генетическом изучении оказалось, что эти фенотипы были обусловлены мутациями в генах, контролирующих разные этапы

биогеонеа хлоропластов и отвечающих за импорт белков, их сортировку, синтез пигментов, липидов, протеолитических групп, экспрессию хлоропластных генов, сборку фотосинтетического аппарата и светособирающих комплексов. В этой же работе были выявлены неизвестные ранее гены, кодирующие факторы сборки хлоропласта, факторы узнавания белков (protein targeting factors), рибосомные белки, белки с пентатрикопептидными повторами (PPR – pentatricopeptide repeat proteins), аминокислот-тРНК-синтетазы, шаперонины. Всего было описано 94 гена, кодирующих эти белки (Stern et al., 2004; Belcher et al., 2015). Однако в долгосрочной перспективе, существование полученной коллекции вызывает сомнение, так как транспозоны могут вырезаться из гена, в который встроились.

После такой глобальной работы остается недостаточно оцененной идентификация последовательности и продуктов «менделевских» генов, открытых до эры молекулярной генетики. Так, на кукурузе создана старейшая, хорошо описанная коллекция спонтанных хлорофильных мутантов, практически для каждого из которых известен генетический контроль. Но только примерно для половины генов, названия которых соответствуют общепринятой классификации (Kalam, Orav, 1974), определено положение на молекулярно-генетической карте, а только для десятой части (восьми генов) известны последовательности и продукты генов в базе данных [maizegdb.org](https://www.maizegdb.org/), (Andorf et al., 2016) URL: <https://www.maizegdb.org/> [дата обращения 20.10.2023]. В последнем обзоре по биогеонеу хлоропластов показано, что гены, выявленные с помощью *Mu*-мутагенеза, были преимущественно регулятор-

ными, тогда как четыре из пяти генов, ранее выявленных в ходе проведения классического генетического анализа, оказались структурными (Belcher et al., 2015). Последнее увеличивает ценность образцов и позволяет пополнить ими генетическую коллекцию благодаря четкому фенотипическому проявлению мутаций в идентифицированных структурных генах.

Таким образом, необходимо найти точки соприкосновения современных работ, выполненных, безусловно, на высоком уровне, и классического генетического анализа, не потерявшего своей актуальности. В последнем случае, помимо наследования целевых генов и изучения их фенотипического проявления, у мутантов были изучены и другие признаки, а также была проведена работа по повышению жизнеспособности и стабильности мутантных растений.

У льна до конца XX века было известно два типа хлорофильных мутантов (Comstock et al., 1963; Beard, Comstock, 1965; Keijzer, Metz, 1992), но с начала 2000-х годов получено большое разнообразие по этому признаку. Во многом это связано с проведением радиационного мутагенеза с использованием перспективных сортов льна под руководством В.А. Ляха в Запорожском институте масличных культур и Запорожском университете (Lyakh et al., 2003; Polyakova, 2008; 2009; Polyakova et al., 2013; Vaylo, Lyakh, 2014; Yarrantseva, Lyakh, 2015). Уже описано 16 типов мутаций из 44 по классификации, которую предложили Ю. Калам и Т. Орав (Kalam, Orav, 1974). Для 14 мутаций известен характер их наследования, однако тесты на аллелизм между большинством генов, контролирующих сходные признаки, не проводили (табл. 1).

Таблица 1. Мутации по генам хлорофильной окраски растений льна (Porokhovina, 2019, с дополнениями)

Table 1. Mutations in the chlorophyll color genes of flax plants (Porokhovina, 2019, with additions)

Ген/gene	Фенотип/ Phenotype	Авторы/ Authors
<i>yg</i>	<i>yellow-green plants</i> жёлто-зелёный цвет молодых листьев, во время цветения листья зеленые (<i>xanthovirescens</i>)	Comstock et al., 1963
<i>sl1, sl2</i>	хлорофильная недостаточность, комплементарные гены, летальные на стадии всходов (<i>albina</i>)	Knowles, 1962, цит. по: Beard, Comstock, 1965
<i>albina</i>	<i>albina</i> . Мутант поддерживается в культуре клеток	Brethagne-Sagnard et al., 1996
<i>б/н.</i>	<i>chlorina</i> – семядоли светло-жёлто-зелёные, растение жёлто-зелёное	Lyakh et al., 2003; Polyakova et al., 2013
<i>wig</i>	<i>xantha</i> – в начале вегетации растения ярко жёлтого цвета, в конце – бледно зелёные	Lyakh et al., 2003; Polyakova, 2009
<i>dyg</i>	<i>dirty yellow-green; xanthoviridis (viridomaculata?)</i> – листья с грязно-жёлтыми пятнами, по мере роста жёлтая пигментация остается в нижней части, а верхняя часть растения становится зелёной	Polyakova, 2009
<i>yg плейотрон.</i>	<i>yellow-green; viridis</i> – листья верхней части растения в стадии бутонизации светло-зелёные с желтоватым оттенком	Polyakova, 2009; Yarrantseva, Lyakh, 2015
<i>lg1</i>	<i>light-green; viridis</i> – бледно зелёная окраска растения; угнетенность развития низкая семенная продуктивность	Polyakova, 2008
<i>albina</i>	<i>albina</i> – белые семядоли; летальна на стадии всходов	Vaylo, Lyakh, 2014
-	<i>lutescent</i> – верхняя часть растения светло-зелёная с жёлтым оттенком, остальная часть растения зелёная	Polyakova et al., 2013

Ген/gene	Фенотип/ Phenotype	Авторы/ Authors
-	<i>xanthocorroded</i> – листья деформированы, край листа подсыхает и сворачивается	Polyakova et al., 2013
-	<i>striata</i> – растение зелёное, листья имеют желтоватую жилку и продольные белые полосы	Polyakova et al., 2013
-	<i>albocorroded</i> – растение зелёное, листья бело-зелёные, некротичные, подсыхающие	Polyakova et al., 2013
<i>ygp1</i>	<i>yellow green plant 1</i> ; <i>xanthovirescens</i> – жёлто-зелёная окраска растущего растения	Porokhovina, 2011
<i>ygp2</i>	<i>yellow green plant 2</i> ; <i>xanthovirescens</i> – жёлто-зелёная окраска растущего растения	Porokhovina et al., 2016
<i>ygplygp2</i>	<i>xantha</i> – жёлтая окраска растущего растения	Porokhovina et al., 2016
<i>zeb1, zeb2?</i>	<i>zebrine white-green plant</i> ; <i>Viridoalbostrata</i> – при ярком освещении – белая со следами некроза, окраска растущих стебля и листьев, карликовость; при затенении – зелёная окраска стебля, <i>zebrina</i> окраска листьев; цветки деформированные, мелкие	Porokhovina, 2011
<i>ygp3 (хлоропластный)</i>	<i>yellow green plant 3</i> ; <i>Xanthovirescens/ viridoalbostrata</i> жёлто-зелёные семядоли и ювенильные листья, которые затем зеленеют; перед бутонизацией у листьев появляются белые продольные полосы	Пороховина и др., данная публикация

Помимо изменения окраски, изучали и плейотропное действие этих генов. У мутаций, полностью блокирующих окраску, – это летальность всходов, у других часто встречаются некрозы, задержка цветения (Lyakh et al., 2003; Polyakova et al., 2013; Porokhovina, 2011). При изучении мутантов *xantha* (линия M81) и *viridis* (линия M28) по сравнению с исходными формами выявили, что в ювенильных листьях *xantha* хлорофилла *a* столько же, сколько у исходной формы, однако хлорофилла *b* в 2 раза меньше, а каротиноидов в 2 раза больше, хлоропласты в 3 раза тоньше и примерно в 3 раза меньше по площади. В дефинитивных листьях хлорофилла *a* и *b* – незначительно, а каротиноидов в 2,5 раза меньше, хлоропласты увеличены в длину, уменьшены по толщине, но остаются в целом той же площади, что и у исходного сорта, подвергнутого мутагенному воздействию. У мутанта *viridis* имеются подобные, но менее существенные изменения (Yarantseva, Lyakh, 2015).

Количество хлоропластов может компенсировать недостаток их размера. Для трёх мутантов *viridis* (линия M80), *xantha* (линия M81) и *xanthaviridis* (линия M84), имеющих на одном растении как несущие хлорофильный дефект ювенильные листья, так и восполнившие недостаток хлорофилла старые листья, было показано, что у молодых листьев мутанта *xantha* площадь поверхности хлоропласта в 4 раза меньше, чем у исходного сорта 'Циан', а у зрелых она превышает 'Циан', но хлоропластов становится меньше. Для мутанта *xanthaviridis* показано, что на первых этапах развития хлоропласты меньше родительских в 2 раза за счет длины, зато их число примерно в 2 раза больше, тогда как у дефинитивных листьев

хлоропласты в 2 раза больше, но их количество меньше. У мутанта *viridis* на раннем этапе площадь хлоропласта меньше в 3, а количество больше в 1,5 раза, тогда как в старых листьях площадь хлоропласта больше в 2 раза, а число то же, что и у родительского сорта 'Циан'. Это использовали создатели высокопродуктивного сорта 'Золотистый', районированного с 2005 года на Украине (Levchuk et al., 2012).

Считается, что небольшая задержка в развитии льна, вызванная несущественной потерей в биосинтезе хлорофилла, позволяет растению пережить неблагоприятные условия в стадии «ёлочки»¹ и начать быстрый рост после прохождения дождей. Таким образом, использование хлорофильных мутантов может быть перспективным для создания пластичных сортов.

Генетическая коллекция льна ВИР создается с 1970-х годов. Она включает в себя линии шестого и большего поколений инбридинга, созданные сотрудниками ВИР, а также линии из коллекций других научных организаций мира: Всероссийского НИИ льна (Россия), AGRITEC (Чехия, Шумперк, Agritec Plant Research Ltd. (APR), Šumperk, Czech Republic), Белорусского НИИ земледелия², Института масличных культур ВУАН (Запорожье, Украина), университета г. Руана и Terre de Lin (Франция) и некоторых других. На данный момент коллекция ВИР содержит более 570 линий, созданных по устойчивости к ржавчине и другим патогенам, по длительности фаз вегетационного периода, по морфологическим признакам, жирнокислотному составу масла и другим признакам.

Примечания редактора: ¹ – стадия соответствует ВССН19 и ВССН31 по десятичному коду стадий роста и развития льна *Linum usitatissimum* L.; ² Название института в 1956–1989 годах. С 2006 – Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию (Жодино), Республика Беларусь/ Editor's notes: ¹ – the stage corresponds to ВССН19 and ВССН31 according to the decimal code for the stages of flax *Linum usitatissimum* L. growth and development (Meier et al., 2009; Heller et al., 2012; Stepanova, 2021); ² Name of the Institute in 1956–1989. Since 2006 – «Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming» (Zhodino), Republic of Belarus. URL: <https://izis.by/en/> [Accessed Dec. 07, 2023]

В ВИР с 1995 года проводится изучение генетического контроля морфологических признаков льна. Выявлено более 40 генов, контролирующих форму и окраску как всего растения, так и его частей (Porokhovinova et al., 2019).

Первый хлорофильный мутант поступил в коллекцию ВИР в 1996 году от К.Я. Бачялиса (Литовский НИИ Земледелия, ЛитНИИЗ). В 2005 году из мутанта была получена линия шестого поколения инбридинга. Затем в коллекцию было включено ещё несколько мутантов, в том числе один спонтанный, возникший в линии-стандарте ВИР (гк-2, л-1 из к-48, селекции А.Ф. Альтгаузена, Россия).

Эти линии стали активно вовлекаться в скрещивания с линиями, мутантными по другим морфологическим признакам, с целью изучения взаимодействия генов, их контролирующих. На основе полученных гибридов создаются линии, гомозиготные по нескольким маркерным генам, которые после инбридинга пополняют генетическую коллекцию ВИР. На данный момент получена 41 линия, мутантная по хлорофильной окраске.

Таким образом, целью данной работы стало изучение

генетического контроля хлорофильной окраски у линий генетической коллекции ВИР, а также взаимодействия выявленных генов с другими генами морфологических признаков.

Материал и методы

Работу проводили с 1996 по 2023 год на полях Научно-производственной базы (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» в Ленинградской области. Для генетического анализа проводили скрещивания между линиями шестого поколения инбридинга из генетической коллекции, созданной в отделе Генетических ресурсов масличных и прядильных культур ВИР (табл. 2). Гибриды F_1 изолировали и обмолачивали индивидуально по растениям. Полученные семьи F_2 выращивали рядом с родительскими линиями и гибридами F_1 на делянках шириной 40 см, междурядья были шириной 20 см, в рядке выращивали ~50 растений. Обработку данных проводили методами классического генетического анализа (Lakin, 1990; Tikhomirova, 1990).

Таблица 2. Инбредные линии льна генетической коллекции ВИР, вовлечённые в гибридизацию

Table 2. Inbred lines of flax from the VIR genetic collection, involved in hybridization

Линия/ Line	Происхождение/ Pedigree	Гены/ Genes
Линии с изменённой хлорофильной окраской		
гк-210	л-1 из и-588294, Б-125, Литва, ЛитНИИЗ	<i>ygp1, dlb3</i>
гк-281	л-1-8 из к-48, селекции Л.Ф. Альтгаузена, Россия	<i>zeb1, zeb2</i>
гк-473	л-1 из и-606307, Б-200, Литва, ЛитНИИЗ	<i>ygp2</i>
гк-480	л-1 из и-612950, Agt 907/07, Чехия, AGRITEC	<i>ygp3, dlb3, CSB1</i>
гк-570	л-1 из к-8861, Agt14/c3, Чехия, AGRITEC	<i>ygp2, CSB1, YSED1</i>
гк-526	л-2 (гк-281 × гк-210)	<i>zeb1, zeb2, sfc1, rs1</i>
Линии с изменённой антоциановой окраской		
гк-2	л-1 из к-48, сел. Альтгаузена, Россия	
гк-109	л-3-2 из к-6099 Makovi M. and A.G., Аргентина	<i>wf1</i>
гк-121	л-1-1 из к-6272, L. Dominion, Северная Ирландия	<i>rs1, sfc1</i>
гк-159	л-1-1 из к-7659, Bionda, Германия	<i>CSB1, YSED1</i>
гк-292	л-1 из к-6298, Minerwa, США	<i>sfc6, ysed2</i>

Всего в работе были изучены гибриды от скрещивания пяти линий, дефектных по хлорофильной окраске, и пяти с зелёной окраской растения, различающихся по другим морфологическим признакам.

Растения льна дикого типа имеют венчик голубого цвета, зелёную окраску всего растения, коричневую окраску семян.

В статье приняты следующие сокращения: (Л.) – лепестки; (Раст.) – растение; (Ресн.) – реснички на ложных перегородках коробочки; гол. – голубая; ж. – жёлтая;

ж.-зел. – жёлто-зелёная; зел. – зелёная; кор. – коричневая; св. – светло.

Результаты и обсуждение

В генетической коллекции ВИР имеются пять линий с изменённой зелёной окраской. Две мутации были получены с помощью химического мутагенеза в 1970-х годах К.П. Бачялисом в ЛитНИИЗ (Bačelis, 1975). Одна из них (и-588294) на первых этапах отбора показывала у некото-

рых потомков реверсию к дикому типу. Две другие мутации получены М. Павелеком в AGRITEC (Чехия, Шумперк), первая – с помощью химического мутагенеза, вторая – как результат дигаплоидизации. Одна линия (гк-281), ведущая своё начало от спонтанного мутанта, выпившегося в линии гк-2, и насчитывающая более 20-ти поколений инбридинга, отобрана в ВИРе (см. табл. 2). Линии из литовских образцов и одна из чешского (гк-570) обладают жёлто-зеленым цветом растущих вегетативных органов; по мере развития растение становится зеленым, т. е. мутация может быть отнесена к *Xanthovirescens* по классификации, которую предложили Ю. Калам и Т. Орав (Kalam, Orav, 1974). Вторая чешская линия (гк-480) обладает жёлто-зеленым цветом семядолей и молодых листьев, которые потом зеленеют, а перед бутонизацией у листьев появляются белые продольные полосы – *Xanthovirescens*/ *Viridoalbostrata* (Kalam, Orav, 1974). Линия гк-281 имеет повышенную светочувствительность, у листьев чередование продольных белых и зелё-

ных полос – *Viridoalbostrata* (Kalam, Orav, 1974). Цветки деформированные, мелкие, ярко-фиолетовые. Одна линия литовского происхождения (гк-210) и одна чешского (гк-480) имеют также светло-голубой венчик, гк-570 – жёлтосемянная. Линии чешского происхождения имеют реснички на ложной перегородке коробочки, а литовского и российского нет. Все пять линий – позднеспелые, а гк-480 – самая позднеспелая в генетической коллекции ВИР.

Линия гк-210 (л-1 из и-588294, Б-125, ЛитНИИЗ)
Xanthovirescens, окраска растения контролируется геном *ygpl* (*yellow green plant 1*), действие этого гена аналогично описанному ранее гену *yg* по классификации, которую предложили П. Кайзер и П. Метц (Keijzer, Metz, 1992). Эта линия высокорослая, поздно зацветающая и позднеспелая, имеет светло-голубой венчик, окраска которого контролируется геном *dlb3*; коробочки без ресничек на ложной перегородке. Семена красно-коричневые (см. табл. 2, табл. 3, Porokhovina, 2011).

Таблица 3. Генетический контроль жёлто-зелёной окраски растения

Table 3. Genetic control of the yellow-green plant color

Скрещивание/ Crossing		Фенотипы гибридов второго поколения, соответствующих: F ₂ phenotypes corresponding to				Расщепление по классам, соответствующим /Segregation into classes corresponding to				Σ	χ ²
линии/ lines	гены/ genes	F ₁	P ₁	P ₂	новые/ new	F ₁	P ₁	P ₂	новые/ new		
гк-2 × гк-210	<i>ygpl</i>	(Раст) зел.		(Раст) ж.-зел.		3 п.402	1 129			4 531	3,84 0,14
гк-2 × гк-473	<i>ygpl</i>	(Раст) зел.		(Раст) ж.-зел.		3 225 222	1 61 85			4 286 307	3,84 2,06 1,18
гк-2 × гк-570	<i>ygpl</i>	(Раст) зел.		(Раст) ж.-зел.		3 77 84	1 22 26			4 99 110	3,84 0,41 0,11
гк-159 × гк-570	<i>ygpl</i>					3 о.317	1 87			4 204	3,84 2,59
гк-473 × гк-570	<i>ygpl</i>	(Раст) ж.-зел.				единообразие					
гк-210 × гк-473	<i>ygpl</i> <i>ygpl</i>	(Раст) зел.		(Раст) ж.-зел.	(Раст) жёлт.	9 128 213	6 90 142	1 18 15		16 236 370	3,84 0,91 3,05
гк-210 × гк-570	<i>ygpl</i> <i>ygpl</i>	(Раст) зел.		(Раст) ж.-зел.	(Раст) жёлт.	9 п.144	6 84	1 9		16 237	3,84 3,41

п. – прямое направление скрещивания, о. – обратное направление скрещивания

У гибридов F₂ от скрещивания гк-2 × гк-210 с использованием t-критерия Стьюдента было установлено плеiotропное действие гена *ygpl* на увеличение продолжительности фазы всходы-цветение, число листьев на стебле и длину междоузлия. Жёлто-зеленая окраска кор-

релирует (бисериальный коэффициент корреляции) с большим числом листьев 0,63, укороченным междоузлем 0,58, и более продолжительной фазой всходы-цветение 0,39 (табл. 4)

Таблица 4. Влияние хлорофильной окраски растения на хозяйственно ценные признаки льна, по результатам расщепления гибридов F₂ от скрещивания гк-2 × гк-210 (Porokhovinova, 2019 с изменениями)

Table 4. The effect of chlorophyll coloration in plants on the economically valuable flax traits, according to the results of segregation in F₂ from a gc-2 × gc-210 cross (Porokhovinova, 2019, modified)

Фенотип гибридов F ₂ / F ₂ phenotypes		Общая высота, см / Total height, cm	Техническая длина, см / technical length, cm	Длина периода всходы-цветение, сутки / sprouting-flowering stage, days	Число листьев / number of leaves	Длина междоузлия, см / internode length, cm
Зеленое растение (<i>YGPI</i> -)	x±Sd	85±11	77±10	44±3	63±6	1,25±0,16
	N	204	204	333	155	155
Жёлто-зеленое растение (<i>ygpl</i> <i>ygpl</i>)	x±Sd	81±9	74±8	46±2	74±8	1,01±0,12
	N	64	64	108	55	54
t-Стюдента		3,62*	3,25*	12,38*	16,02*	13,62*
r bis		-0,15	-0,13	0,39	0,63	0,58
Достоверность r bis (по t-критерию Стюдента)		2,45	2,17	9,49	14,93	12,79

* – критическое значение t-Стюдента (n>30, p=0,05) = 1,96

Линия гк-473 (л-1 из и-606307, Б-200, ЛитНИИЗ) *Xanthovirescens*, окраска растения контролируется геном *ygpl* (*yellow green plant 2*). Действие этого гена аналогично описанному ранее гену *yg* по классификации, которую предложили П. Кайзер и П. Метц (Keijzer, Metz, 1992), и гену *ygpl* по нашей классификации (Porokhovinova, 2011), но в отличие от *ygpl*, *ygpl* имеет немного менее выраженное действие и проявляется не так долго во время онтогенеза растения. Эта линия также высокорослая, поздно зацветающая и позднеспелая, имеет голубой венчик, а также у нее отсутствуют реснички на ложной перегородке коробочки. Семена красно-коричневые (см. табл. 2, 3; Porokhovinova, 2019).

Линия гк-570, (Agt14/c3, Чехия, AGRITEC) *Xanthovirescens*, окраска растения контролируется геном *ygpl* (*yellow green plant 2-2*), действие этого гена аналогично описанному ранее гену *yg* по классификации, которую предложили П. Кайзер и П. Метц (Keijzer, Metz, 1992), и генам *ygpl*, *ygpl* по нашей классификации (Porokhovinova, 2011). Эта линия также высокорослая, поздно зацветающая и позднеспелая, имеет голубой венчик, коробочки с ресничками на ложной перегородке и жёлтые семена. В 2023 году было установлено, что изменённая хлорофильная окраска контролируется аллелем гена *ygpl* – *ygpl*-2. Вероятнее всего, это разные аллели, так как мутации были получены в разное время на разном генетическом материале (см. табл. 2, 3).

Гены *ygpl* и *ygpl* наследуются независимо и обладают кумулятивным взаимодействием, при котором гибриды, гомозиготные по обоим генам, имеют жёлтую окраску

растения и значительное отставание в росте и развитии. Расщепление в F₂, как в результате скрещивания гк-210 (*ygpl*) × гк-473 (*ygpl*), так и в скрещивании гк-210 (*ygpl*) × гк-570 (*ygpl*-2), соответствовало соотношению 9 «зелёных» : 6 «жёлто-зелёных» : 1 «жёлтых» так, что можно классифицировать выявленное расщепление как результат комплементарного взаимодействия генов (см. табл. 3). Оба гена имеют плейотропный эффект на удлинение периода всходы-цветение; в результате сначала зацветают только «зелёные» гибриды, через 3-5 дней начинают вместе с зелёными зацветать «жёлто-зелёные», и наконец, через неделю и более, когда цветут и отцветают практически все зелёные и цветёт большинство жёлто-зелёных, зацветают «жёлтые». После созревания «зелёные» и «жёлто-зелёные» гибриды не отличаются по продуктивности, тогда как «жёлтые» имеют 1-3 коробочки или не образуют их совсем.

Гк-570 имеет реснички на ложной перегородке коробочки (этот признак контролируется геном *CSBI*) и доминантную жёлтую окраску семян *YSEDI*. Такой характер наследования был доказан в результате скрещиваний линий-стандартов, характеризующихся доминантной и рецессивной жёлтыми окрасками семян, с растениями дикого типа. В F₂ от скрещивания ♀ гк-570 × ♂ гк-2 было показано тригенное расщепление по генам хлорофильной окраски (ген *ygpl*-2), наличия ресничек на ложной перегородке коробочки (ген *CSBI*) и жёлтой окраски семян (ген *YSEDI*). Эти гены наследуются независимо друг от друга (табл. 5).

Таблица 5. Расщепление в F₂ от скрещивания
♀ гк-570 (*ygp2-2*, *CSBI*, *YSED1*) × ♂ гк-2

Table 5. Segregation in F₂ from the ♀ I-1 gc-570
(*ygp2-2*, *CSBI*, *YSED1*) × ♂ gc-2 cross

Растение/ Plant	Зелёное/ Green				Жёлто-зелёное/ Yellow-green				Σ	χ ²
Семена/ Seeds	жёлтые/ yellow		коричневые/ brown		жёлтые/ yellow		коричневые/ brown			
Реснички/ Cilia	есть ³ / present	нет/ absent	есть/ present	нет ² / absent	есть ¹ / present	нет/ absent	есть/ present	нет/ absent		
теоретически ожидаемое расщепление	27	9	9	3	9	3	3	1	64	14,07
практическое расщепление	46	17	14	7	15	6	4	1	110	1,67

1 – фенотип гк-570; 2 – фенотип гк-2; 3 – фенотип F₁ гк-570 × гк-2

В F₂ от скрещивания ♀ гк-570 × ♂ гк-159 (*CSBI*, *YSED1*) было показано единообразие по наличию ресничек на ложной перегородке коробочки и жёлтой окраски семян, то есть гены, контролирующие эти признаки у гк-570 и гк-159, аллельны. Но с большой вероятностью аллели *YSED1*₅₇₀ и *YSED1*₁₅₉ несут мутации в разных участках гена, так как линия гк-570 получена с помощью химического мутагенеза, а гк-159 – из сорта не мутагенного происхождения. В фирме AGRITEC работают с масличным льном, чаще всего имеющим реснички, вероятней всего, что исходный образец, подвергнутый мутагенезу, изначально имел их. В этом скрещивании было еще раз доказано моногенное расщепление по гену *ygp2-2* хлорофильной окраски растения (см. табл. 3).

В F₂ от скрещивания ♀ гк-570 × ♀ гк-292 наблюда-

ли единообразие по наличию ресничек на ложной перегородке коробочки, а также показано четырёхгенное расщепление по генам хлорофильной окраски (ген *ygp2-2*), синей окраске венчика (ген *sfc6*) и жёлтой окраске семян (гены *YSED1* и *yed2*) (табл. 6). Ген хлорофильной окраски наследуется независимо от генов окраски цветка и семян. Ген *sfc6* наследуется независимо от гена *YSED1* и сцеплен с геном *yed2* и находится от него на расстоянии 9 сМ. Сцепление вышеуказанных генов у гк-292 было описано нами ранее (Porokhovina, 2019). Если использовать небольшую выборку (менее 200 растений), то возможно отсутствие рекомбинантных классов в расщеплении. Это могло бы привести к ошибочной интерпретации результатов и предположению о плейотропном эффекте гена *sfc6* на окраску венчика и цвет семян.

Таблица 6. Расщепление в F₂ от скрещивания
♀ гк-570 (*ygp2-2*, *YSED1*) × ♂ гк-292 (*sfc6*, *yed2*)

Table 6. Segregation in F₂ from the
♀ gc -570 (*ygp2-2*, *YSED1*) × ♂ gc-292 (*sfc6*, *yed2*) cross

Растение/ Plant	Зеленое/ Green				Ж.-зелёное/ Yellow-green				Σ	Любое/ Any				Σ
Цветок/ Flower	голубой/ blue		синий/ dark blue		голубой/ blue		синий/ dark blue			голубой/ blue		синий/ dark blue		
Семена/ Seeds	жёлт. ³ / yellow	кор./ brown	жёлт. ² / yellow	кор./ brown	жёлт. ¹ / yellow	кор./ brown	жёлт/ yellow	кор./ brown		жёлт./ yellow	кор./ brown	жёлт./ yellow	кор./ brown	
практ. расщ.	350	102	126	5	92	27	47	2	751	442	129	173	7	751
Гены <i>sfc6</i> и <i>yed2</i> наследуются независимо														
практ. расщ	117	27	39	9	39	9	13	3	256	39	9	13	3	64
теор. расщ.	343,2	79,2	114,4	26,4	114,4	26,4	38,1	8,8		457,6	105,6	152,5	35,2	
χ ²	0,13	6,56	1,17	17,35	4,39	0,01	2,06	5,26	36,93*	0,53	5,18	2,74	22,60	31,05*
Гены <i>sfc6</i> и <i>yed2</i> сцеплены, расстояние между генами 9сМ														
частоты	110,1	33,9	45,9	2,1	36,7	11,3	15,3	0,7	256	36,7	11,3	15,3	0,7	64
теор. расщ.	323,0	99,4	134,7	6,2	107,7	33,1	44,9	2,1		430,7	132,6	179,5	8,2	
χ ²	2,26	0,07	0,56	0,22	2,28	1,14	0,10	0,00	6,62	0,30	0,10	0,24	0,18	0,81

¹ – фенотип гк-570; ² – фенотип гк-292; ³ – фенотип F₁ гк-570 × гк-292;

* χ²_{пр.} > χ²_{теор.}; χ²_{теор.} = 14,07 (p=0,05; v=7), χ²_{теор.} = 7,81 (p=0,05; v=3)

Линия гк-281 (л-1-8 из к-48, селекции Л.Ф. Альтгаузена, Россия) получена как спонтанный мутант из линии гк-2 (л-1 из к-48). Гк-2 – типичный долгунец, выступающий в качестве линии-стандарта в генетической коллекции ВИР. Эта линия имеет высоту около 90-100 см, зелёный стебель и листья, цветок дикого типа, шаровидные коробочки, в каждой из которых находится по 10 красно-коричневых семян среднего размера. Линия гк-281 с фенотипом *Viridoalbostrata* имеет повышенную светочувствительность, что в полевых условиях приводит к карликовости, белой окраске растущих стебля и листьев со следами некроза, поэтому растения гибнут до цветения. При затенении стебель у мутантов становится зелёным и более длинным, у листьев появляется чередование продольных белых и зелёных полос – окраска *zebrina*. Цветки, в отличие от родительской линии, деформированные, мелкие, ярко-фиолетовые, за счет того, что площадь

пластинки лепестка уменьшена, а число жилок не меняется. Тычиночные нити и столбики остаются синими. Коробочек завязывается мало, они мелкие, сплюснутые. Семена в коробочках мелкие, красно-коричневые, шуплые, 1–3 вместо 10 (см. табл. 2). При сильном затенении растение вырастает нормального размера, остаются только единичные белые полосы на листьях, цветок, коробочки и семена дикого типа. Понадобилось более восьми поколений отбора, чтобы линия смогла расти при небольшом затенении. Эта мутация предположительно контролируется двумя генами: *zeb1* и *zeb2* (*zebrine white green plant*), действие которых аналогично действию генов *sl1* и *sl2* (Knowles, 1962, цит. по Beard, Comstock, 1965). Однако, вызывает сомнение наличие спонтанных мутаций сразу в двух генах, возможно из-за пониженной жизнеспособности мутантных семян расщепление отличается от моногенного (табл. 7).

Таблица 7. Генетический контроль окраски растения *zebrina*

Table 7. Genetic control of plant coloration *zebrina*

Скрещивание/ Crossing	Число растений/ Number of plants			Σ	χ	Число растений Number of plants		Σ	χ
	Зелёное /Green	Ж.-зелёное/ Yellow-green	Zebrina			Not zebrina	Zebrina		
H ₀ : Моногенный контроль <i>zebrina</i>									
частоты	9	3	4	16		3	1	4	
ГК-121 × ГК-281						282	26	308	45,04*
ГК-281 × ГК-121						517	36	553	100,83
ГК-281 × ГК-210	45	17	7	69	5,71	62	7	69	8,12
ГК-210 × ГК-281	247	91	13	351	28,62	338	13	351	84,90
ГК-473 × ГК-281	163	43	19	225	35,17	206	19	225	32,89
ГК-570 × ГК-281	187	51	25	263	35,63	238	25	263	33,67
H ₀ : Дигенный контроль (некумулятивная полимерия) <i>zebrina</i>									
частоты	45	15	4	64		15	1	16	
ГК-121 × ГК-281						282	26	308	2,52
ГК-281 × ГК-121						517	36	553	0,06
ГК-281 × ГК-210	45	17	7	69	1,97	62	7	69	1,79
ГК-210 × ГК-281	247	91	13	351	4,57	338	13	351	3,88
ГК-473 × ГК-281	163	43	19	225	3,68	206	19	225	1,85
ГК-570 × ГК-281	187	51	25	263	6,32	238	25	263	4,76
H ₀ : Дигенный контроль <i>zebrina</i> . Гибель гомозигот по одному из генов									
	27	9	4	40		9	1	10	
ГК-121 × ГК-281						282	26	308	0,83
ГК-281 × ГК-121						517	36	553	7,48
ГК-281 × ГК-210	45	17	7	69	0,19	62	7	69	0,00
ГК-210 × ГК-281	247	91	13	351	16,17	338	13	351	15,46
ГК-473 × ГК-281	163	43	19	225	30,20	206	19	225	12,80
ГК-570 × ГК-281	187	51	25	263	1,70	238	25	263	0,07

* $\chi^2_{\text{пр.}} > \chi^2_{\text{теор.}}$; $\chi^2_{\text{теор.}} = 5,99$ ($p=0,05$; $v=2$); $\chi^2_{\text{теор.}} = 3,84$ ($p=0,05$; $v=1$)

Во всех проанализированных скрещиваниях моногенные различия наблюдали только в семьях небольшого размера, где недостаток рецессивных гомозигот не мог проявиться в силу стохастических причин. В большинстве скрещиваний расщепление соответствовало дигенному наследованию по типу некумулятивной полимерии (15:1). Интересно, что в скрещиваниях, где одним из родителей была линия гк-473 (*ygp2*) или гк-570 (*ygp2-2*), был показан достоверный избыток рецессивных гомозигот, а все шесть случайно отобранных семей F_3 гк-473 × гк-281, потомков жёлто-зелёных гибридов F_2 , показали расщепление по окраске *zebrina*, хотя по теории вероятности таких семей должно было быть около половины (табл. 8). Теоретическим доказательством количества

генов, контролирующих признак, может служить наличие расщепления в следующих поколениях у доминантных классов. Так при моногенном контроле доля гетерозигот у оминантного класса (*Zeb-*) должна составлять 2/3, а при дигенном (*Zeb1-Zeb2-*, *zeblzeblZeb2-*, *Zeb1-zeb2zeb2*) – 8/15. Из 36 семей F_3 , отобранных случайным образом, 15 были единообразны, а в 21 – наблюдали расщепление. Выявленное соотношение было ближе к дигенному, но статистически достоверными оказались обе гипотезы ($\chi^2 = 1,13$ и $0,36$, соответственно). Из 21 семьи 11 имели расщепление 3 «не *zebrina*»: 1 «*zebrina*», а 10 – 15 «не *zebrina*»:1 «*zebrina*», что соответствовало модели дигенного наследования.

Таблица 8. Расщепление в семьях F_3 и F_4 по окраске растения *zebrina*. Родительская форма F_2 (F_3) – «не *zebrina*»

Table 8. Segregation for *zebrina* plant color in F_3 and F_4 families. Parent F_2 (F_3) – "not *zebrina*"

Число растений/ Number of plants		Σ	χ² при расщеплении: χ² in case of segregation		Число растений/ Number of plants		Σ	χ² при расщеплении: χ² in case of segregation:	
Not zebrina	zebrina		3 : 1	15 : 1	Not zebrina	zebrina		3 : 1	15 : 1
F₃ гк-281 × гк-121					F₃ гк-210 × гк-281				
50	12	62	1,05	18,17	48	5	53	6,85	0,92
30	7	37	0,73	10,14	без расщепления – 1 семья				
40	8	48	1,78	8,89	F₃ гк-210 × гк-526				
33	4	37	3,97	1,31	35	2	37	7,58	0,05
без расщепления – 7 семей					без расщепления – 3 семьи				
F₃ гк-121 × гк-281					F₄ гк-210 × гк-526				
60	12	72	2,67	13,33	103	30	133	0,42	60,36
77	5	82	15,63	0,00	148	42	190	0,85	81,52
51	2	53	12,74	0,55	без расщепления – 1 семья				
51	3	54	10,89	0,04	F₃ гк-473 × гк-281				
42	3	45	8,07	0,01	35	12	47	0,01	29,82
29	3	32	4,17	0,53	21	6	27	0,11	11,76
без расщепления – 2 семьи					13	2	15	1,09	1,28
F₃ гк-281 × гк-210					20	2	22	2,97	0,30
16	8	24	0,89	30,04	87	20	107	2,27	28,27
без расщепления – 1 семья					44	1	45	12,45	1,25
Итого семей:		без расщепления		с расщеплением 3 : 1			с расщеплением 15 : 1		
		15		11			10		

Гены *ygp1* и *ygp2* наследуются независимо от генов *zebl* и *zeb2*. Действие генов *zebl* и *zeb2* маскирует проявление генов жёлто-зелёной окраски растения (см. табл. 7).

гк-480 (л-1 из и-612950, АГТ 907/07, Чехия, AGRITEC). Исходный образец с хлорофильной мутацией получен в Чехии после дигаплоидизации. Линия, как и исходный образец, имеет жёлто-зелёные семядоли и ювенильные листья, которые потом зеленеют; перед бутонизацией у листьев появляются белые продольные полосы –

Xanthovirescens/ Viridoalbostrata. Также эта линия имеет светло голубой венчик, реснички на ложных перегородках коробочки и красно-коричневые семена (см. табл. 2).

У этой линии нами впервые показано цитоплазматическое (хлоропластное) наследование хлорофильной окраски растения (табл. 9). Выявленный ген получил название *ygp3* (*yellow green plant 3*). Во всех скрещиваниях получены реципрокные различия в F_1 и F_2 : там, где гк-480 выступала в качестве материнского родителя, все потомки были жёлто-зелёными, а в качестве отцовского – все зелёные,

если материнским родителем было растение дикого типа (гк-2, гк-109) или наблюдалось моногенное расщепление 3 зелёных : 1 жёлто-зелёное в скрещиваниях с материнскими линиями, несущими ядерные хлорофильные мутации *ygpl* (гк-210) или *ygpr* (гк-473), то есть по генам *ygpl* или *ygpr*, соответственно. Дополнительно установлено,

что линии гк-210 (*ygpl*, *dlb3*) и гк-480 (*ygpr*, *dlb3*, *CSBI*) несут аллельные гены *dlb3* (светло голубой венчик), а также то, что ген *CSBI* наличия ресничек на ложной перегородке коробочек, наследуется независимо от *ygpl* и *ygpr*. В скрещивании гк-480 (*ygpr*, *dlb3*) × гк-473 (*ygpr*), показано, что ген *dlb3* наследуется независимо от *ygpr* и *ygpr*.

Таблица 9. Расщепление в F₂ от скрещивания гк-480 (*ygpr*, *dlb3*, *CSBI*) с гк-2, гк-109, гк-221 (*ygpl*, *dlb3*) и гк-473 (*ygpr*)

Table 9. Segregation in F₂ from crosses of gc-480 (*ygpr*, *dlb3*, *CSBI*) with gc-2, gc-109, gc-221 (*ygpl*, *dlb3*) and gc-473 (*ygpr*)

Скрещивание/ Crossing		Фенотипы гибридов второго поколения, происходящих от соответствующих родительских форм и гибридов F ₁ / Phenotypes of F ₂ hybrids originating from corresponding parental forms and F ₁				Расщепление по классам, в соответствующих F ₂ Segregation by classes, in the corresponding F ₂				Σ	χ
линии/ lines	гены/ genes	P ₁	F ₁	P ₂	новые/ new	P ₁	F ₁	P ₂	новые/new		
ГК-480 × ГК-2	<i>ygpr3</i>	(Раст.) ж.-зел.		(Раст.) зел. - в F ₂ –нет!		все		Нет			
ГК-2 × ГК- 480	<i>ygpr3</i>	(Раст.) зел.		(Раст.) ж.-зел. - в F ₂ –нет!		все		Нет			
ГК-480 × ГК-109	<i>ygpr3</i>	(Раст.) ж.-зел.		(Раст.) зел. - в F ₂ –нет!		все		Нет			
ГК109 × ГК-480	<i>ygpr3</i>	(Раст.) зел.		(Раст.) ж.-зел. - в F ₂ –нет!		все		нет			
ГК-480 × ГК-210	<i>ygpr3</i>	(Раст.) ж.-зел., (Л) св.гол.				3 55		1 27		4 82	3,84 2,75
	<i>CSB 1</i> <i>ygpr1</i>	(Ресн.) есть		(Ресн.) нет							
ГК-210 × ГК-480	<i>ygpr1</i>	(Л.) св.гол.				1 15	9 91	3 34	3 34	16 174	7,81 2,16
	<i>ygpr3</i> <i>CSB1</i>	(Раст.) ж.-зел., (Ресн.) нет	(Раст.) зел., (Ресн.) есть	(Раст.) ж.-зел., (Ресн.) есть	(Раст.) зел., (Ресн.) нет						
ГК-480 × ГК-473	<i>ygpr3</i> , <i>dlb3</i>	(Раст.) ж.-зел.				1 27	3 57			4 84	3,84 2,29
	<i>ygpr2</i>	(Л.) св.гол.		(Л) гол.							
ГК-473 × ГК-480	<i>ygpr2</i> <i>ygpr3</i> , <i>dlb3</i>	(Раст.) ж.-зел., (Л.) гол.	(Раст.) зел., (Л.) гол.	(Раст.) ж.-зел., (Л.) св.гол.	(Раст.) зел., (Л.) св.гол.	3 42	9 152	1 18	3 34	16 246	7,81 5,35

Таким образом, идентифицировано четыре ядерных гена, контролирующих хлорофильную окраску растения, а также показано цитоплазматическое (хлоропластное) наследование такой окраски. Последнее выявлено у льна впервые в мире. Показано комплементарное взаимодействие генов *ygpl* и *ygpr*, обуславливающее жёлтую окраску растущего растения. Установлено, что линии гк-210 и гк-480 гомозиготны по гену *dlb3* – светло голубой венчик, а линия гк-570, гомозиготна по гену *YSED1* (доминантная жёлтосемянность). Линии гк-480 и гк-570 гомозиготны по доминантной аллели гена *CSBI* (наличие ресничек на ложной перегородке коробочек), а гк-210, гк-473, гк-281 – гомозиготны по рецессивной аллели этого гена.

Закключение

В данной работе установлено, что изученные гены, контролирующие пути биосинтеза антоцианов и хлорофиллов, имеют независимое действие. На основе мировой коллекции созданы пять линий независимого происхождения, мутантных по генам хлорофильной окраски, выявлено четыре ядерных гена, контролирующих эти признаки. Для одной из линий впервые в мире у льна показано цитоплазматическое (хлоропластное) наследование хлорофильной окраски растения. Показано независимое наследование генов хлорофильной окраски и некоторых других – антоциановой окраски (*dlb3*, *YSED1*, *used2*, *sfc6*), а также гена *CSBI* (наличие ресничек на ложной перегородке коробочек).

Гены хлорофильной окраски *ygpl* и *ygpr* могут быть

перспективны для маркирования сортов. Необходимо изучение их влияния на другие хозяйственно ценные признаки (высота растения, качество волокна, продуктивность по семенам и волокну) с целью возможного создания пластичных сортов, способных пережить неблагоприятные условия на ранних стадиях развития.

Несмотря на подробное формально-генетическое изучение, ни один продукт генов хлорофильной окраски не был определён, равно как и место генов в биосинтезе хлорофиллов. Нами подготовлен материал, который может служить для дальнейшего сотрудничества с другими лабораториями с целью изучения функций этих генов.

References/Литература

- Andorf C.M., Cannon E.K., Portwood J.L., Gardiner J.M., Harper L.C., Schaeffer M.L., Braun B.L., Campbell D.A., Vinnakota A.G., Sribalasu V.V., Huerta M., Cho K.T., Wimalanathan K., Richter J.D., Mauch E.D., Rao B.S., Birkett S.M., Sen T.Z., Lawrence-Dill C.J. MaizeGDB update: new tools, data and interface for the maize model organism database. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(D1):D1195-D1201. DOI: 10.1093/nar/gkv1007
- Bačelis K.P. Chlorofilinės mutacijos linų veislėse, paveiktose cheminiais mutagenais. In: *Mutageninio faktoriaus veikimas ir genetinio metodo taikymas selekcijoje*. Vilnius; 1975. p.33-34. [in Lithuanian]
- Beard B.H., Comstock V.E. Flax genetics and gene symbolism. *Crop Science*. 1965;5(2):151-155. DOI: 10.2135/cropsci1965.0011183X000500020015x
- Belcher S., Williams-Carrier R., Stiffler N., Barkan A. Large-scale genetic analysis of chloroplast biogenesis in maize. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2015;1847:1004-1016. DOI: 10.1016/j.bbabi.2015.02.014
- Brethagne-Sagnard B., Fouilloux G., Ghupeau Y. Induced albina mutations as a tool for genetic analysis and cell biology in flax (*Linum usitatissimum*). *Journal of Experimental Botany*. 1996;47(295):189-194. DOI: 10.1093/jxb/47.2.189
- Comstock V.E., Ford J.H., Beard B.H. Association among seed and agronomic characteristics in isogenic lines of flax. *Crop Science*. 1963;3(2):171-172. DOI: 10.2135/cropsci1963.0011183X000300020024x
- Danilenko N.G., Davydenko O.G. Worlds of organelle genomes (Miry genomov organel). Minsk: Technalohija Publishers; 2003. [in Russian] (Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. Минск: Техналогія; 2003).
- Heller K., Baraniecki P., Praczyk M. Fibre flax cultivation in sustainable agriculture. In: *Handbook of Natural Fibres: Volume 1: Types, Properties and Factors Affecting Breeding and Cultivation*. R.M. Kozłowski (ed.). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited; 2012. p.508-512.
- Kalam Yu., Orav T. Chlorophyll mutation (Khlorofilnaya mutatsiya). Tallinn: Valgus; 1974. [in Russian] (Калам Ю., Орав Т. Хлорофильная мутация. Таллин: Валгус; 1974).
- Keijzer P., Metz P.L.J. Breeding of flax for fibre production in Western Europe. In: H.S. Shekhar Sharma, C.F. van Sumere (eds.). *The Biology and Processing of Flax*. Belfast: M Publications; 1992. p.33-66.
- Lakin G.F. Biometrics (Biometriya). Moscow: High School; 1990. [in Russian] (Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва: Высшая Школа; 1990).
- Levchuk H., Polyakova, I., Voitovich N., Lyakh V. Peculiarities of plastid apparatus morphology in chlorophyll mutants of oil flax. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*. 2012;44(3):232-239. [in Russian] (Левчук А.Н., Полякова И.А., Войтович Е.Н., Лях В.А. Особенности морфологии пластидного аппарата хлорофильных мутантов льна масличного. *Фізіологія та біохімія культурних рослин*. 2012;44(3):232-239).
- Lisitsyn E.M., Churakova S.A., Batalova G.A. Genotypic variability in the functioning of photosystem II in leaves of covered and naked oats. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(3):17-26. [in Russian] (Лисицын Е.М., Чуракова С.А., Баталова Г.А. Генотипическая вариабельность функционирования фотосистемы II листьев пленчатого и голозерного овса. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(3):17-26). DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-17-26
- Lopes A.S., Pacheco T.G., Santos K.G., Vieira L.N., Guerra M.P., Nodari R.O., Souza E.M., Pedrosa F.O., Rogalski M. The *Linum usitatissimum* L. plastome reveals atypical structural evolution, new editing sites, and the phylogenetic position of Linaceae within Malpighiales. *Plant Cell Reports*. 2018;37(2):307-328. DOI: 10.1007/s00299-017-2231-z
- Lyakh V.A., Mishchenko L.Yu., Polyakova I.A. Genetic collection of the species *Linum usitatissimum* L. Zaporozhye: IMC UAAN; 2003. [in Russian] (Лях В.А., Мищенко Л.Ю., Полякова И.А. Генетическая коллекция вида *Linum usitatissimum* L. Запорожье: ИМК УААН; 2003).
- Meier U., Bleiholder H., Buhr L., Feller C., Hack H., Heß M., Lancashire P.D., Schnock U., Stauß R., van den Boom Th., Weber E., Zwerger P. The BBCH system to coding the phenological growth stages of plants – history and publications -. *Journal für Kulturpflanzen*. 2009;61(2):41-52.
- Polyakova I.A. Mutation of *viridis* type, induced to oilseed flax. *Bulletin of Zaporizhzhia National University*. 2008;2:163-165. [in Russian] (Полякова И.А. Мутация *viridis* индуцированная у льна масличного. *Вісник Запорізького національного університету*. 2008;2:163-165).
- Polyakova I.A. Inheritance of chlorophyll mutation of *xanthoviridis* in oilseed flax. *Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Oilseed Crops NAAS*. 2009;14:52-55. [in Russian] (Полякова И.А. Наследование хлорофильной мутации *xanthoviridis* у льна масличного. *Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур УААН*. 2009;14:52-55).
- Polyakova I.A., Yaranceva V.V., Levchuk A.N., Lyakh V.A. Phenotypical appearance of chlorophyll-deficient mutations at early stages of ontogenesis in oil flax. *Current Issues of Biology, Ecology and Chemistry*. 2013;1:49-51. [in Russian] (Полякова И.А., Яранцева В.В., Левчук А.Н., Лях В.А. Фенотипическое проявление мутаций хлорофиллдефицитности на ранних этапах онтогенеза льна масличного. *Актуальні питання біології, екології та хімії*. 2013;5(1):49-51).
- Porokhovinova E.A. Genetic control of morphological characters of flax. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2011;167:159-184. [in Russian] (Пороховинова Е.А. Генетический контроль морфологических признаков льна. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2011;167:159-184).
- Porokhovinova E.A. Genetic collection of flax (*Linum usitatissimum* L.): creation, analysis and prospects of use (Geneticheskaya kollektsiya l'na (*Linum usitatissimum* L.): sozdaniye, analiz i perspektivy ispol'zovaniya) [dissertation] St. Petersburg: VIR; 2019. [in Russian] (Пороховинова Е.А. Генетическая коллекция льна (*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования: дис. ... д-ра биол. наук. Санкт-Петербург: ВИР; 2019).
- Porokhovinova E.A., Pavlov A.V., Kutuzova S.N., Brach N.B. VIR flax genetic collection for theoretical research and breeding (Geneticheskaya kollektsiya l'na VIR dlya teoreticheskix issledovaniy i selekcii). In: *Gene pool and plant breeding: Proceeding of the II international conference, dedicated to the 80th anniversary of SRI PCB (Genofond i selektsiya rasteniy: tezisy dokladov II mezhdunarodnoj konferencii, posvyashhennoj 80-letiyu SibNIIRS)*; 2016 March 29-31; Novosibirsk, Russia. Novosibirsk: SRI PCB - Branch of IC&G SB RAS; 2016. p.54. [in Russian] (Пороховинова Е.А., Павлов А.В., Кутузова С.Н., Брач Н.Б. Генетическая коллекция льна ВИР для теоретических исследований и селекции. В кн.: *Генофонд и селекция растений: тезисы докладов II международной конференции, посвященной 80-летию СибНИИРС*; 29-31 марта 2016 г.; Новосибирск, Россия. Новосибирск: СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН; 2016. С.54). URL: <https://www.elibrary.ru/download/>

- elibrary_30047216_57792947.pdf [дата обращения: 24.06.2023].
- Porokhovinova E.A. Pavlov A.V., Kutuzova S.N., Brutch N.B. Interaction of genes controlling some morphological features of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(11):1383-1397. DOI: 10.1134/S1022795419110103
- Rose R.J. Sustaining Life: Maintaining chloroplasts and mitochondria and their genomes in plants. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2019;92(3):499-510.
- Sakamoto W., Miyagishima S.Y. Jarvis P. Chloroplast biogenesis: control of plastid development, protein import, division and inheritance. *The Arabidopsis Book*. 2008;6:e0110. DOI: 10.1199/tab.0110
- Shestakov S.V. Molecular genetics of photosynthesis. *Soros Educational Journal*. 1998;8:22-27. [in Russian] (Шестаков С.В. Молекулярная генетика фотосинтеза. *Соросовский образовательный журнал*. 1998;8:22-27).
- Stepanova N.V. The decimal code for the stages of flax growth and development (Desyatchnyy kod stadiy rosta i razvitiya l'na). In: Stepanova N.V. Cultivation of oil flax for seeds and fiber (Vozdelyvaniye l'na maslichnogo na semena i volokno). Minsk: Belaruskaya Navuka; 2021. p.116-118. [in Russian] (Степанова Н.В. Десятичный код стадий роста и развития льна (*Linum usitatissimum* L.). В кн.: Степанова Н.В. Возделывание льна масличного на семена и волокно. Минск: Беларуская навука; 2021. С.116-118).
- Stern D.B., Hanson M.R., Barkan A. Genetics and genomics of chloroplast biogenesis: maize as a model system. *Trends in Plant Science*. 2004;9(6):293-301. DOI: 10.1016/j.tplants.2004.04.001
- Tikhomirova M.M. Genetic analysis (Geneticheskiy analiz). Leningrad: Leningrad University Publishing House; 1990. [in Russian] (Тихомирова М.М. Генетический анализ. Ленинград: Издательство Ленинградского университета; 1990).
- Vaylo V., Lyakh V. Influence of lethal chlorophyll mutation of "albina" type on seedling characters in oil flax and its inheritance. *Current Issues of Biology, Ecology and Chemistry*. 2014;7(1):111-116. [in Ukrainian] (Вайло В.В., Лях В.О. Вплив летальної хлорофільної мутації типу "albina" на ознаки проростків льону олійного та її успадкування. *Актуальні питання біології, екології та хімії*. 2014;7(1):111-116).
- Yarantseva V.V., Lyakh V.A. Morphology of chloroplasts and pigment composition of leaves of different ages of chlorophyll mutants of flax. *Plant Physiology and Genetics*. 2015;47(3):236-243. [in Russian] (Яранцева В.В., Лях В.А. Морфология хлоропластов и пигментный состав листьев разного возраста хлорофилльных мутантов льна. *Физиология растений и генетика*. 2015;47(3):236-243).

Информация об авторах

Елизавета Александровна Пороховнинова, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Отдел генетических ресурсов масличных и прядильных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, e.porokhovinova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8328-9684>

Нина Борисовна Бруч, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий, Отдел генетических ресурсов масличных и прядильных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.brutch@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2253-6263>

Анастасия Александровна Слободкина, аспирант, младший научный сотрудник, Отдел генетических ресурсов масличных и прядильных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, Snas1999@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2333-1980>

Андрей Валерьевич Павлов, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Отдел генетических ресурсов масличных и прядильных культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, avpavlov77@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4904>

Information about the authors

Elizaveta A. Porokhovinova, Dr. Sci (Biology), Leading Researcher, Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, e.porokhovinova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8328-9684>

Nina B. Brutch, Dr. Sci (Biology), Chief Researcher, Head, Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.brutch@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2253-6263>

Anastasia A. Slobodkina, postgraduate, Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, Snas1999@yandex.ru, orcid.org/0000-0003-2333-1980

Andrey V. Pavlov, Cand. Sci (Agriculture), Senior Researcher, Department of Oil and Fiber Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, avpavlov77@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4904>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 03.10.2023; одобрена после рецензирования 30.11.2023; принята к публикации 11.12.2023.

The article was submitted on 03.10.2023; approved after reviewing on 30.11.2023; accepted for publication on 11.12.2023.