doi 10.18699/vjgb-25-41

Метод IIIVmrMLM обнаруживает новые генетические варианты, связанные с устойчивостью к фузариозному увяданию у льна

М.А. Дук 🔟^{1, 2}, А.А. Канапин 🔟¹, А.А. Самсонова 🔟¹, М.П. Банкин 🔟¹, М.Г. Самсонова 🔟¹ 🔤

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия ² Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия m.g.samsonova@gmail.com

> Аннотация. Лен (Linum usitatissimum) – важная сельскохозяйственная культура, выращиваемая для получения волокна и масла. Лен используют для производства красок, линолеума, в пищевой промышленности, для производства одежды и композитных материалов. Значительный экономический ущерб при выращивании льна наносит фузариозное увядание, вызываемое грибом Fusarium oxysporum f. sp. lini. Споры гриба могут долгое время сохраняться в почве, поэтому получение устойчивых к заражению сортов имеет большое значение. Здесь мы использовали данные об устойчивости 297 образцов льна из коллекции Федерального научного центра лубяных культур в Торжке (Россия) к заражению сильно вирулентным изолятом гриба МІЗ9 в 2019–2021 гг. Устойчивость генотипа к заражению оценивали путем вычисления индекса DSI – нормализованной пропорции генотипов с одинаковыми симптомами болезни. Для поиска районов генома льна, ассоциированных с устойчивостью, использовали программу IIIVmrMLM в режиме Single_env. Модель IIIVmrMLM была разработана для устранения методологических недостатков в выявлении всех типов взаимодействий между аллелями, генами и средой и для несмещенной оценки их генетических эффектов. Поскольку это мультилокусная MLM-модель, она оценивает эффекты всех генов, а также эффекты всех взаимодействий одновременно. Всего было найдено 111 QTN, из которых 34 были локализованы в последовательности известного гена или расположены во фланкирующих районах на расстоянии, не превышающем 1 т.п.н. Гены, в которые попадали обнаруженные варианты, были связаны с устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам, с ростом и развитием корня, побега и цветка. Десять из найденных QTN картировались в областях ранее идентифицированных QTL, контролирующих синтез пальмитиновой, олеиновой и других жирных кислот. QTN Chr1_1706865/Chr1_1706872 и QTN Chr8_22542741 маркируют районы, идентифицированные нами ранее при поиске ассоциаций программой GAPIT. Для всех найденных QTN был подтвержден аллельный эффект: произведен тест Манна–Уитни, который подтвердил значимые различия между значением DSI у носителей референсного и альтернативного аллеля. Увеличение в генотипе числа аллелей с негативным эффектом приводит к статистически значимому уменьшению величины DSI для всех трех лет тестирования. Группы сортов с большим количеством аллелей, уменьшающих индекс DSI, имели наилучшую устойчивость. Всего из коллекции было выбрано пять сортов, для которых число аллелей, уменьшающих величину DSI, не превышало число аллелей с обратным эффектом по всем трем годам. Эти сорта могут быть использованы в дальнейшем в селекционных программах. Ключевые слова: лен; Linum usitatissimum; GWAS; фузариозное увядание; Fusarium oxysporum f. sp. lini

> Для цитирования: Дук М.А., Канапин А.А., Самсонова А.А., Банкин М.П., Самсонова М.Г. Метод IIIVmrMLM обнаруживает новые генетические варианты, связанные с устойчивостью к фузариозному увяданию у льна. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025;29(3):380-391. doi 10.18699/vjgb-25-41

Финансирование. Работа поддержана грантом РНФ № 23-16-00037.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Суперкомпьютерному центру Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого (scc.spbstu.ru) за предоставление отличных вычислительных ресурсов и поддержку данного проекта.

The IIIVmrMLM method uncovers new genetic variants associated with resistance to Fusarium wilt in flax

M.A. Duk 🔟^{1, 2}, A.A. Kanapin 🔟¹, A.A. Samsonova 🔟¹, M.P. Bankin 🔟¹, M.G. Samsonova 🔟¹ 🔤

¹ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia ² loffe Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

m.g.samsonova@gmail.com

Abstract. Flax (Linum usitatissimum) is an important agricultural crop grown for fiber and oil production, playing a key role in various industries such as production of paints, linoleum, food, clothes and composite materials. Fusarium wilt caused by the fungus Fusarium oxysporum f. sp. lini is a reason of significant economic damage in flax cultivation. The spores of the fungus can persist in the soil for a long time, so obtaining resistant varieties is important. Here we

used data on the resistance of 297 flax accessions from the collection of the Federal Center for Bast Crops in Torzhok (Russian Federation) to infection by a highly virulent isolate of the fungus MI39 in 2019–2021. Genotype resistance to infection was assessed by calculating the DSI index, a normalized proportion of genotypes with the same disease symptoms. The IIIVmrMLM program in Single_env mode was used to search for regions of the flax genome associated with resistance. The IIIVmrMLM model was designed to address methodological shortcomings in identifying all types of interactions between alleles, genes and environment, and to unbiasedly estimate their genetic effects. Being a multilocus MLM model, it estimates the effects of all genes as well as the effects of all interactions simultaneously. A total of 111 QTNs were found, of which 34 fell within the body of a known gene or were located in flanking regions within 1,000 bp. The genes into which the detected variants fell were associated with resistance to abiotic and biotic stresses, root, shoot and flower growth and development. Ten of the QTNs found mapped to regions of previously identified QTLs controlling the synthesis of palmitic, oleic, and other fatty acids. QTN Chr1_1706865/Chr1_1706872 and QTN Chr8_22542741 mark regions identified previously in an association search by the GAPIT program. The allelic effect was confirmed for all the QTNs found: a Mann-Whitney test was performed, which confirmed significant differences between the DSI index value in carriers of the reference and alternative allele. An increase in the number of alleles with negative effects in the genotype leads to a statistically significant decrease in the DSI value for all three years of testing. The groups of varieties with a large number of alleles reducing the DSI index had the best resistance. A total of 5 varieties were selected from the collection for which the number of alleles reducing the DSI index value did not exceed the number of alleles with the opposite effect for all three years. These varieties can be used further in breeding programs.

Key words: flax; Linum usitatissimum; GWAS; Fusarium wilt; Fusarium oxysporum f. sp. lini

For citation: Duk M.A., Kanapin A.A., Samsonova A.A., Bankin M.P., Samsonova M.G. The IIIVmrMLM method uncovers new genetic variants associated with resistance to Fusarium wilt in flax. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(3):380-391. doi 10.18699/vjgb-25-41

Введение

Лен (Linum usitatissimum) – важная сельскохозяйственная культура, выращиваемая для получения как волокна, так и масла. Льняное масло, являющееся источником ненасыщенных жирных кислот, используется в пищевой промышленности, а также в качестве основного компонента лаков, красок и линолеума. Льняное волокно применяется в текстильной промышленности, в производстве композитов и изоляционных материалов (Goudenhooft et al., 2019). Значительный экономический ущерб при выращивании льна наносит фузариозное увядание, вызываемое грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* (Dean et al., 2012). Это заболевание уменьшает продукцию семян, понижает качество волокна и в отсутствие упреждающих мер может привести к потере урожая.

Первичное грибковое заражение происходит через корни, после чего патоген попадает в ксилему и блокирует поток воды и питательных веществ, вызывая увядание, повреждение стебля и в конечном итоге гибель растения. Споры гриба могут до пятидесяти лет сохраняться в зараженной почве, и их очень сложно устранить (Houston, Knowles, 1949).

Борьба с фузариозным увяданием проводится с помощью различных сельскохозяйственных методов, например с применением пестицидов (Rashid, Kenaschuk, 1993), однако возможная вредность пестицидов для здоровья человека склоняет к идее использования сортов, устойчивых к заражению. Это альтернативный вариант борьбы с потерей урожая, вызываемой фузариозным увяданием (Ondrej, 1993; Рожмина, Лошакова, 2016).

Устойчивость к заболеванию была получена путем селекции, но ее механизмы еще не до конца изучены. Современные сорта льна имеют высокую или среднюю устойчивость к фузариозному увяданию (Рожмина, Лошакова, 2016; Рожмина, 2017). Однако коэволюция патогена и растения может привести к появлению штаммов с большей агрессивностью или к потере устойчивости сортов, определяемой небольшим количеством генов. Поэтому для долгосрочного эффекта важно выведение новых сортов с различными комбинациями обеспечивающих устойчивость генов. Эксперименты по транскриптомике показали, что компоненты клеточной стенки, факторы транскрипции, вторичные метаболиты и антиоксиданты сильно влияют на реакцию льна на заражение *F. oxysporum* f. sp. *lini* (Galindo-González, Deyholos, 2016; Dmitriev et al., 2017; Boba et al., 2021).

Поиск новых геномных вариантов, ассоциированных с устойчивостью к патогенам, и идентификация новых генов, влияющих на устойчивость к грибковому заражению, играют ключевую роль в селекционных программах. Использование классических методов полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) выявило QTN (quantitative trait nucleotides), связанные с устойчивостью к фузариозу (Kanapin et al., 2021), которые расположены в основном на 1-й, а также 8-й и 13-й хромосомах. Большое количество QTN локализуется на хромосоме 1 в пределах 640 т.п.н. (Kanapin et al., 2021; Cloutier et al., 2024).

Устойчивость растения к заболеванию также может определяться множественными косвенными факторами, связанными не только с устойчивостью к заражению грибком, но и с другими характеристиками растения. Так, например, известно, что жирные кислоты у растений участвуют в механизмах защиты от различных стрессоров, в том числе от грибкового заражения (Kachroo et al., 2008; He, Ding, 2020).

Классические модели типа MLM помогают устранить эффекты, вносимые структурой популяции и родством образцов, но страдают от поправки Бонферрони для множественного тестирования, которая слишком строга для выявления ассоциаций со сложными признаками (Zhang Y.M. et al., 2019). Для решения этой проблемы были предложены многолокусные модели MLM, способные обнаруживать QTN с предельными эффектами, для которых порог значимости, установленный поправкой Бонферрони, слишком строг.

Одним из таких методов, использующих мультилокусные модели, является метод mrMLM (Zhang Y.-W. et al., 2020), реализуемый в пакете IIIVmrMLM (Li M. et al., 2022). В данной статье мы применили этот метод для поиска геномных ассоциаций с устойчивостью, оцененной у зараженных растений в 2019, 2020 и 2021 гг., что позволило обнаружить новые генетические варианты, не найденные классическими методами. Эти варианты попали в гены, связанные с устойчивостью, а также в локусы количественных признаков (QTL, quantitative trait locus), опубликованные ранее и связанные с производством жирных кислот (You, Cloutier, 2020).

Материалы и методы

Исследование проводилось на 297 образцах льна из коллекции Федерального научного центра лубяных культур, выращенных на опытном поле ФНЦ лубяных культур в Торжке, Россия. Из 297 образцов 180 были сортами льна-долгунца, выращиваемого для получения волокна, и 117 принадлежали к сортам масличного льна, выращиваемого для получения льняного масла. Из 117 масличных образцов 98 относились к типу «межеумки», 4 – к крупносеменным сортам, 15 – к типу «кудряши».

Устойчивость образцов к *F. охуѕрогит* f. sp. *lini* оценивали в условиях инфекционно-провокационного питомника с регулируемым поливом, но неконтролируемой температурой. Оценки были проведены в 2019, 2020 и 2021 гг. в Торжке, Россия (Rozhmina et al., 2022). Каждый сорт был воспроизведен 16 раз путем высева всех семян в перекрестные ряды контейнеров. Размеры контейнеров составляли 550 × 85 × 20 см. В качестве восприимчивых и устойчивых генотипов к контролю фузариозного увядания использовали два генотипа, AP5 и I-7. Инфекционный фон создавали путем внесения в контейнер 400 г чистой культуры штамма MI39 *F. охуѕрогит* f. sp. *lini*. Семена высаживали на 12-й день после инокуляции чистой культурой гриба.

Чистую культуру готовили путем предварительного выращивания штамма MI39 на среде агар-агар с пивным суслом и последующей инкубации на субстрате из зерна овса (соотношение зерна и воды = 1:1.75) в течение 3-4 недель, до полного заражения овса грибом, после чего патоген вносили в почву. Показателем надежности инфекционного фона служили сорта-эталоны (устойчивые и восприимчивые генотипы), которые высевали по краям и в середине каждой емкости (по 16 семян). Вредоносность болезни оценивали с использованием меры DSS (disease severity score). Оценки DSS варьировали от 0 до 3, где значение 0 – здоровое растение, 1 – частичное побурение растения или побурение стебля с одной стороны, 2 – полностью побуревшее растение с семенными коробочками, 3 – полностью побуревшее растение, которое погибло до образования коробочек. На основе DSS рассчитывался индекс тяжести заболевания (DSI) с использованием формулы, принятой в фитопатологии (Методические указания..., 2000): DSI = ($\sum ab/3A$) × 100 %, где a – количество

растений с одинаковым DSS; *b* – оценка DSS; *A* – общее количество растений; 3 – наибольшая оценка DDS.

ДНК была получена из листьев с помощью набора DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Полногеномное секвенирование ДНК проводили в BGI с использованием протокола Illumina, генерирующего парные прочтения длиной 150 пар оснований. С помощью bwa-mem (Li H., Durbin, 2009) было выполнено сопоставление со сборкой эталонного генома NCBI ASM22429v2 (Wang Z. et al., 2012). Предсказание вариантов осуществлено при помощи программы NGSEP (Tello et al., 2019) версии 4.0. Из полученных 3416829 SNP после фильтрации по MAF = 0.05 и задания условия на присутствие варианта не менее чем в 85 % генотипов было оставлено 72 526 SNP. Использовалась аннотация генома льна с указанными ортологичными генами Arabidopsis (You, Cloutier, 2020), предоставленная группой Cloutier.

С помощью пакета IIIVmrMLM (Li M. et al., 2022) в режиме Single_env был проведен анализ GWAS на генетических данных, отфильтрованных по MAF = 0.05. Для необходимого преобразования данных, требуемого пакетом, применялись программы TASSEL (Bradbury et al., 2007) и PLINK (Purcell et al., 2007) со стандартными настройками согласно рекомендациям авторов метода.

При оценке качества сортов рассматривали аддитивный эффект, рассчитанный пакетом IIIVmrMLM. Аллелем с негативным эффектом считался альтернативный аллель, наличие которого приводило к уменьшению индекса DSI у его носителей, аналогично аллель с положительным эффектом – аллель, наличие которого увеличивало величину DSI. Были выбраны сорта, у которых количество аллелей с негативным эффектом превышало количество аллелей с положительным эффектом.

Убывание неравновесия по сцеплению (LD) оценивали с помощью квадрата коэффициента корреляции Пирсона (r^2). Версия PopLDdecay 3.4.1 (Zhang C. et al., 2019) была запущена для расчета r^2 в окне 300 кб. Убывание LD рассчитывали на основе r^2 и расстояния для каждой пары SNP с использованием скрипта R.

Результаты

На поражение растений фузариозом могут оказывать влияние характеристики окружающей среды во время заражения и развития болезни. Растения выращивались в условиях инфекционно-провокационного питомника с регулируемым поливом, но не контролируемой температурой. Согласно данным метеостанции, в месте выращивания температура в первой декаде мая в 2019 и 2020 гг. была выше средней, а в 2021 – ниже средней (табл. 1). Во второй декаде мая температура в 2019 и 2021 гг. была выше средней, а в 2020 – ниже средней.

Дисперсионный анализ воздействия различных факторов на поражение растений фузариозным увяданием показал, что существует зависимость от года выращивания и от сорта (генотипа). Это можно видеть по большим значениям F для такой модели (табл. 2). При рассмотрении воздействия отдельно температур в разные периоды на величину DSI было обнаружено, что значимое влияние на вариации (F > 1, Pr(>F) < 0.05) имела только температура

Таблица 1. Метеорологические условия вегетационных периодов 2019–2021 гг. по данным Торжокской метеостанции

| Месяц | Декада | Температ | Среднее | | |
|--------|--------|----------|---------|------|-------------------------|
| | | 2019 | 2020 | 2021 | многолетнее значение |
| Май | 1 | 10.1 | 11.3 | 7.9 | 9.9 |
| | 2 | 14.5 | 8.0 | 16.7 | 11.5 |
| | 3 | 16.3 | 11.1 | 12.6 | 12.9 |
| Июнь | 1 | 18.8 | 15.8 | 15.8 | 15.3 |
| | 2 | 17.9 | 19.6 | 19.2 | 15.6 |
| | 3 | 16.0 | 18.9 | 22.5 | 16.5 |
| Июль | 1 | 14.2 | 18.2 | 20.5 | 16.9 |
| | 2 | 13.8 | 15.8 | 23.2 | 17.4 |
| | 3 | 17.1 | 16.8 | 17.9 | 17.5 |
| Август | 1 | 13.3 | 17.7 | 18.4 | 17.2 |
| | 2 | 16.1 | - | - | 15.2 |
| | 3 | 15.7 | _ | _ | 13.9 |

в первую декаду мая. Кроме того, эффект этой температуры, оказываемый на заражение фузариозом, практически полностью идентичен эффекту года (окружающей среды), как можно видеть по величине среднеквадратического значения остатков в дисперсионном анализе (см. табл. 2), тогда как другие характеристики среды вносили лишь небольшой вклад.

В среднем различия между максимальным и минимальным значением DSI в разные годы для каждого сорта составляют 25.9. Тем не менее для всей рассматриваемой популяции различия в DSI от года к году не показывают достаточной значимости: при статистическом сравнении данных 2019 и 2020 гг. *p*-value было равно 0.996, для 2019 и 2021 гг. p = 0.113, для 2020 и 2021 гг. p = 0.12.

Иными словами, несмотря на большое влияние условий выращивания, главный интерес исследования представляет влияние сорта (генотипа) на устойчивость к заболеванию.

Полногеномный поиск ассоциаций выявил 111 QTN (табл. S1 Приложения)¹, ассоциированых с DSI в разные годы, из них 35 ассоциированы с данными 2019 г., 37 – с данными 2020 г., 40 – с данными 2021 г. QTN, ассоциированые со значениями DSI разных лет, расположены на всех хромосомах. Из них 44 попали в известные QTL (You, Cloutier, 2020; Cloutier et al., 2024) или оказались ло-кализованы в последовательности гена или на расстоянии менее 1000 п. н. от генов. Соответствующие Манхэттенские графики приведены на рис. 1, *а*–*в*. Распределение в геноме всех найденных QTN показано на рис. 1, *г*. Для всех обнаруженных QTN был подтвержден аллельный эффект: произведен тест Манна–Уитни, который подтвердил значимые различия между значением DSI у носителей референсного и альтернативного аллеля (см. табл. S1).

Таблица 2. Анализ дисперсии

| Фактор | Mean Sq | F | Pr(>F) |
|-------------------------------|----------------|---------------|----------|
| | DSI ~ copt + r | од | |
| Сорт | 2931.5 | 10.016 | <2e-16 |
| Год | 1927.7 | 6.586 | 0.00148 |
| Остатки | 292.7 | | |
| DSI ~ сорт + | температура | 1-й декады ма | я |
| Сорт | 2931.0 | 10.010 | <2e-16 |
| Температура 1-й декады мая | 3396.0 | 11.590 | 0.000707 |
| Остатки | 293.0 | | |

Больше всего QTN, найденных для данных о заражении каждого года, было расположено на хромосомах 1, 2, 8 и 15. В предыдущем исследовании, где для поиска ассоциаций с устойчивостью к фузариозному увяданию использовался пакет GAPIT, QTN также располагались на хромосомах 1 и 8 (Kanapin et al., 2021). Выявленные QTN объясняют больше 50 % вариации, один QTN объясняет максимально ~5 % вариации для одного года (табл. 3).

Из найденных QTN только один повторяется в данных двух лет, и три пары QTN, найденные для разных лет, оказались расположены достаточно близко друг к другу (табл. 4). В табл. 4 приведены также средние ненормированные значения DSI для носителей референсного и альтернативного аллеля по данному QTN. Можно видеть, что носители альтернативного аллеля по всем указанным QTN показывали гораздо меньшее значение DSI, чем носители референсного. Однако из рассматриваемых QTN только один QTN, общий для данных 2020 и 2021 гг., попадает в последовательность известного гена, функция которого, тем не менее, неизвестна. Остальные три пары расположены на расстоянии более 1 т.п.н. от ближайших генов. Также можно отметить, что QTN Chr1 1706865/ Chr1_1706872 попали в ранее выявленный регион на первой хромосоме с координатами 1213418-1854337, связанный с устойчивостью льна к фузариозному увяданию (Kanapin et al., 2021).

Из 111 найденных QTN, ассоциированных с устойчивостью к фузариозному увяданию в разные годы, 34 были локализованы в последовательности известного гена или располагались на расстоянии менее 1 т.п.н. от гена (табл. 5).

Из 34 QTN, попавших в ген или рядом с геном, в 12 случаях наличие альтернативного аллеля у растений приводило к уменьшению значения DSI и в 22 случаях – к увеличению.

Среди 111 найденных QTN 10 попали в функциональные регионы QTL, опубликованные ранее в (You, Cloutier, 2020). Два из них оказались и рядом с известным геном, и внутри функционального региона (см. табл. 5, отмечены **). Кроме того, один QTN попал в регион, связанный с устойчивостью к фузариозному увяданию на первой хромосоме (табл. 6), описанный в работах (Kanapin et al., 2021; Cloutier et al., 2024).

Метод IIIVmrMLM обнаруживает новые геномные ассоциации с устойчивостью к фузариозу у льна

¹ Табл. S1 и S2 и рис. S1 Приложения см. по адресу:

https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx12.xlsx





а – в – Манхэттенские графики результатов GWAS, полученных с помощью пакета IIIVmrMLM; черным цветом показаны QTN, попавшие в QTL или расположенные вблизи генов вместе с величиной их LOD score, которая используется в IIIVmrMLM для оценки значимости; г – распределение QTN, найденных для DSI для 2019–2021 гг., по хромосомам.

| Таблица | a 3. C | уммарна | ая вариаі | ция в да | нных кажд | дого года, | объясненны | ый QTN |
|---------|--------|---------|-----------|----------|-----------|------------|------------|--------|
|---------|--------|---------|-----------|----------|-----------|------------|------------|--------|

| Данные | Суммарный r ² , % | QTN с наибольшим значением <i>r</i> ² , % | Максимальное значение r ² , % |
|----------|------------------------------|--|--|
| DSI 2019 | 55.99 | Chr3_18720497 | 5.31 |
| DSI 2020 | 58.50 | Chr2_15253612 | 4.43 |
| DSI 2021 | 69.84 | Chr12_10144355 | 5.35 |

Примечание. Имена QTN образованы как ChrX_N, где X – номер хромосомы, N – позиция в хромосоме.

Таблица 4. QTN, найденные для данных разных лет и близко расположенные друг к другу

| Маркер | Chr3_18671763 | Chr1_1706865/ Chr1_1706872 | Chr15_7067724/ Chr15_7067662 | Chr2_25600109/ Chr2_25600116 |
|--------------------------------------|---|--|---------------------------------|---|
| Год | 2020/2021 | 2019/2021 | 2020/2021 | 2020/2021 |
| Расстояние между QTN | 0 п. н. | 7 п.н. | 62 п. н. | 7 п.н. |
| r ² ,% | 1.14/3.47 | 4.24/3.17 | 1.05/0.75 | 4.25/4.66 |
| Среднее значение DSI для REF | 41.55/36.92 | 43.12/38.47 | 41.24/36.31 | 41.85/38.7 |
| Среднее значение DSI для ALT | 25.18/21.02 | 10.55/9.52 | 24.75/20.56 | 14.53/15.06 |
| <i>p</i> -value теста Манна–Уитни | 0.0014/0.0021 | 5.42e-19/1.16e-13 | 0.0026/0.0027 | 1.56e-06/2.92e-10 |
| Ближайший ген | Lus10033807 | Lus10025819 | Lus10001477 | Lus10003500 |
| Положение QTN относительно гена | Тело гена | 1026/1033 п.н. ниже гена | 3605/3543 п.н. ниже гена | 23760/23753 п.н. выше гена |
| Аннотация гена | Белок с неизвестной функцией (DUF1664) | 2-Оксоглутарат (2ОG) и Fe(II)-зависимый белок суперсемейства оксигеназ | Белок семейства реморинов | Фактор транскрипции, суперсемейство basic helix-loop-helix (bHLH) |
| Ортолог у Arabidopsis | AT1G04960.1 | AT3G21360.1 | AT5G23750.2 | AT3G21330.1 |

Примечание. В соответствующих строках через разделитель «/» показаны данные для разных лет. п. н. – пар нуклеотидов, REF – носители референсного аллеля, ALT – носители альтернативного аллеля.

| | 2.01 | | | <u>Ф</u> | | |
|----------------------|-------|-----------------|---|---|---|--|
| QIN | r∸, % | Среднее для REF | тен, положение QTN | Функциональная | тен-ортолог у Arabidopsis | |
| | | Среднее для ALT | относительно гена | аннотациятена | (литературные ССылки на функции генов) | |
| | | среднее диние | 2019 г | - | πα φγηκιμία τέπου | |
| Chr1 740051 | 0 5 1 | 22 67 | Luc10026050 | | ATEC 10260 1 | |
| Chr1_/40951 | 0.51 | 52.07 | сизтоозоозо, ° тело гена | протеинкиназа 34 | AI3G19300.1 | |
| | | 46.32* | | | | |
| Chr1_6391647 | 2.21 | 35.67 | Lus10034284, | Белок семейства натриево- | AT5G17850.1 | |
| | | 43.75* | тело гена | кальциевого обмена | | |
| Chr1_15073726 | 0.90 | 41.12* | Lus10015586, | Белок семейства пролил- | AT1G50380.1 | |
| | | 31.36 | тело гена | олигопептидаз | | |
| Chr1_22688905 | 0.64 | 41.63* | Lus10014640, | Белок суперсемейства | AT2G39210.1 | |
| | | 8.42 | 573 п. н. ниже гена | основных фасилитаторов | | |
| Chr1_25377570 | 3.15 | 41.97* | Lus10027990. | Оксидоредуктаза, белок | AT4G02940.1 | |
| _ | | 30.21 | тело гена | семейства оксигеназ 20G-Fe(II) | (Duan et al., 2017) | |
| Chr4 1087234 | 1.82 | 35.08 | Lus10030349. | Домен DZC (резистентность | AT1G31880.1 | |
| | | 46.20* | 155 п. н. выше гена | к болезням/цинковый палец/ | (Depuydt et al., 2013; | |
| | ••••• | 46.28* | ••••• | область конденсации хромосом) | Rodriguez-Villalon et al., 2014) | |
| Chr5_15553508 | 1.24 | 33.95 | Lus10024055, | Ортолог у Arabidopsis: белок, | AT5G65030.1 | |
| (QPAL-LUS.2, PAL) | | 45.51* | телотена | взаимодеиствующии с синтазой оксида азота | | |
| Chr6_5732293 | 1.86 | 36.49 | Lus10036674, | Гомеобокс 1 | AT3G01470.1 | |
| | | 48.47* | 132 п. н. ниже гена | | (Aoyama et al., 1995) | |
| Chr9_2114668 | 0.68 | 35.09 | Lus10017493, | - | AT4G34630.1 | |
| | | 52.45* | 464 п. н. выше гена | | | |
| Chr13_6339069 | 1.71 | 35.05 | <i>Lus10002083,</i> 88 п. н. ниже гена | Белок суперсемейства регулятора транскрипции NAC | AT5G08790.1 | |
| | | | | | (Delessert et al., 2005; Wang X, at al., 2000; | |
| | | 53.25* | | (отсутствие апикальной меристемы) | Wang X. et al., 2009; Wang X., Culver, 2012) | |
| Chr13_12427556 | 1.21 | 34.20 | Lus10010801, | Цитохром Р450, семейство 721, | AT1G75130.1 | |
| | | 49.92* | 894 п. н. выше гена | подсемейство А, полипептид 1 | | |
| Chr14_12732300 | 1.08 | 41.14* | Lus10008367, | Белок суперсемейства | AT3G08960.1 | |
| | | 21.40 | 263 п. н. выше гена | повторов ARM | (Jia et al., 2023) | |
| Chr15 2097827 | 0.88 | 33.09 | Lus10007320. | RING/ FYVE/ PHD-тип белка | AT1G29800.1 | |
| | | 49 75* | тело гена | семейства цинковых пальцев | (Kim et al., 2023) | |
| | ••••• | | 2020 г | - | | |
| Chr1 2540270 | 2 0 2 | 36.08 | Luc10025024 | | AT3G2//8//0 1 | |
| **(Lu1_2500703, DSI) | 2.02 | 50.90 | - 539 п. н. выше гена | семейства переносчиков | AI3024040.1 | |
| | | 58.99* | | фосфатидил-инозитола | | |
| Chr2_16849610 | 1.01 | 35.50 | Lus10016310, | Цитохром Р450, семейство 721, | AT1G75130.1 | |
| | | 50.85* | тело гена | подсемейство А, полипептид 1 | | |
| Chr3_1992356 | 1.34 | 35.70 | Lus10037255, | Симпортеры раствор натрия; | AT5G45380.1 | |
| | | 58.40* | тело гена | трансмембранные транспор- теры мочевины | (Liu et al., 2003; Kojima et al., 2007) | |
| Chr3 24632490 | 1.27 | 43.84* | Lus10037741. | Липоамид-дегидрогеназа 1 | AT3G16950.2 | |
| | | 28.25 | тело гена | | (Lutziger, Oliver, 2000) | |
| Chr4 19469341 | 0.79 | 40.45* | Lus10039825. | _ | AT4G28290.1 | |
| | | 21.40 | 945 п. н. выше гена | | ATT020270.1 | |
| Chr8_7404794 | 0.81 | 40.23* | Lus10021849, | Богатая цистеином RLK | AT4G23160.1 | |
| | | 15 74 | тело гена | (рецептороподобная | | |
| | | 1 <i>J</i> ./ T | | протеинкиназа) 8 | | |

Таблица 5. QTN, попавшие в последовательность гена или расположенные рядом с ним

Окончание табл. 5

| QTN | r ² , % | Среднее для REF | Ген, положение QTN относительно гена | Функциональная аннотация гена | Ген-ортолог у <i>Arabidopsis</i> (литературные ссылки | |
|---------------------|--------------------|-----------------|---|--|--|--|
| | | Среднее для ALT | | | на функции генов) | |
| | | | 2020 ו | г. | | |
| Chr9_2644458 | 3.16 | 36.05 | Lus10010491, | Белок суперсемейства | AT3G07880.1 | |
| ••••• | | 54.10* | тело гена | иммуноглоюулинов E-set | (Carol et al., 2005) | |
| Chr11_15810790 | 0.29 | 37.57 | Lus10023622, | Белок суперсемейства | AT1G74710.1 | |
| | | 64.13* | - тело гена | АЛС-СИНТАЗЫ | (Wildermuth et al., 2001; Strawn et al., 2007) | |
| Chr14_2163238 | 1.74 | 42.23* | Lus10025537, | Белок, содержащий домен PAZ/ | AT5G21030.1 | |
| | | 23.94 | тело гена | белок, содержащий домен piwi | | |
| Chr15_1044247 | 0.95 | 34.39 | Lus10011210, | Белок, содержащий F-box | AT1G32420.1 | |
| | | 43.97* | 33 п. н. выше гена | и связанные домены взаимо- действия | | |
| | | | 2020, 202 | 21 гг. | | |
| Chr3_18671763 | 1.14 | 41.55* | Lus10033807, | Белок с неизвестной функцией | AT1G04960.1 | |
| | | 25.18 | тело гена | (DUF1664) | | |
| | | | 2021 ו | г. | | |
| Chr1_20417569 (| 0.57 | 35.92* | Lus10015886, | Белок семейства нуклеотидил- трансфераз | AT4G00060.1 | |
| | | 14.00 | тело гена | | | |
| Chr2_17726495 | 2.95 | 30.63 | Lus10033187, тело гена | Область K-box и белок семейства транскрипционных факторов MADS-box | AT3G54340.1 | |
| | | 45.43* | | | (KIIZEK, MEYEROWILZ, 1990) | |
| Chr4_2301676 | 3.27 | 29.94 | Lus10029444, | Фактор высвобождения пептидной цепи 1 | <i>AT3G62910.1</i> (Motohashi et al., 2007) | |
| | | 48.51* | тело гена | | | |
| Chr4_12925693 | 2.22 | 32.24 | Lus10015799, | Белок семейства протеинкиназ, богатый повторами лейцина | AT1G67510.1 | |
| | | 55.99* | тело гена | | | |
| Chr6_8828608 | 2.89 | 31.06 | Lus10036278, | РНК-направленная | AT5G04050.1 | |
| | | 44.86* | 568 п. н. ниже гена | ДНК-полимераза (обратная транскриптаза) | | |
| Chr7_3147157 | 0.87 | 31.48 | Lus10023551, | | AT5G66440.1 | |
| **(QPAL-Lu7.3, PAL) | | 48.22* | 387 п. н. выше гена | | | |
| Chr10_16815632 | 1.08 | 29.87 | Lus10022764, | ABI-five-связывающий белок 3 | AT3G29575.1 | |
| | | 43.13* | 483 п. н. выше гена | | (Garcia et al., 2008) | |
| Chr11_575034 | 0.49 | 32.80 | Lus10027253, | Ортолог у Arabidopsis: | AT3G18050.1 | |
| | | 59.28* | тело гена | GPI-заякоренный белок | | |
| Chr12_9853001 | 1.96 | 36.04* | Lus10024259, | Альдегид-дегидрогеназа 2С4 | AT3G24503.1 | |
| | | 20.76 | тело гена | | (Nair et al., 2004) | |
| Chr15_13834579 | 0.87 | 35.60* | Lus10037970, | Растительный U-box 14, | AT3G54850.1 | |
| | | 16.58 | тело гена | регулятор цветения | (Andersen et al., 2004) | |

Примечание. REF – носители референсного аллеля, ALT – носители альтернативного аллеля. * Наибольшее из средних значений DSI у носителей референсного или носителей альтернативного аллеля QTN; ** отмечены QTN, попавшие и в последовательность гена, и в известный QTL.

Одиннадцать QTN, положение которых пересекается с ранее идентифицированными QTL из (You, Cloutier, 2020; Cloutier et al., 2024), показаны в табл. 6. Большинство из этих QTL ассоциированы с производством жирных кислот: пальмитиновой, олеиновой, линоленовой и т.д., и только два маркера, Chr1_17552378 и Chr1_2540379, попали в регионы, ассоциированные с растительным иммунитетом. В девяти случаях из одиннадцати наличие у

растения альтернативного аллеля QTN приводило к увеличению значения DSI, и только в двух случаях альтернативный аллель способствовал уменьшению величины DSI по сравнению с носителями референсного аллеля.

Чтобы оценить качество сортов, для каждого сорта среди QTN, найденных по данным каждого года, был произведен подсчет количества аллелей с негативным эффектом (уменьшение величины DSI при наличии у расте-

| QTN | <i>r</i> ² , % | Среднее REF | QTL | Признак | Координаты QTL |
|---------------|---------------------------|-------------|-------------------------------------|-------------|-------------------|
| | | Среднее ALT | | | |
| Chr5_15553508 | 1.24 | 33.95 | QPAL-Lu5.2 | PAL | 13796740-15667804 |
| | | 45.51* | | | |
| Chr8_21862725 | 2.47 | 36.27 | QOLE-Lu8.1 | OLE | 21781910-23526575 |
| | •••••• | 51.36* | | | |
| Chr12_7449738 | 1.06 | 36.35 | QOIL-Lu12.6 | OIL | 4591134-7490902 |
| | | 60.51* | | | |
| Chr1_2540379 | 2.02 | 36.98 | Lu1_2500703 | DSI | 2500703-2636369 |
| | | 58.99* | | | |
| Chr5_12086840 | 1.77 | 37.19 | QPAL-Lu5.1 | PAL | 12061283-12181348 |
| | | 53.09* | | | |
| Chr8_22542741 | 2.77 | 41.64* | QOLE-Lu8.1 | OLE | 21781910-23526575 |
| | | 23.63 | | | |
| Chr1_17552378 | 0.90 | 28.86 | QPM-crc-LG1 | PM | 16920407-18739647 |
| | | 41.23* | | | |
| Chr7_3147157 | 0.87 | 31.48 | QPAL-Lu7.3 | PAL | 624439-5423600 |
| | | 48.22* | | | |
| Chr7_4787639 | 1.57 | 35.91* | QPAL-Lu7.3 | PAL | 624439-5423600 |
| | | 18.53 | | | |
| Chr12_1240570 | 0.81 | 32.95 | QIOD-Lu12.3/QLIN-Lu12.3/QLIO-Lu12.3 | IOD/LIN/LIO | 489561-2981562 |
| | •••••• | 55.79* | | | |
| Chr12_6862107 | 3.27 | 32.31 | QOIL-Lu12.6 | OIL | 4591134–7490902 |
| | | 55.52* | | | |

| Таблица 6. QTN | , положение которых пе | ересекается с ра | анее идентифиці | ированными QTL |
|----------------|------------------------|------------------|-----------------|----------------|
|----------------|------------------------|------------------|-----------------|----------------|

Примечание. REF – носители референсного аллеля, ALT – носители альтернативного аллеля. * Наибольшее из средних значений DSI у носителей референсного или альтернативного аллеля QTN. Сокращения названий признаков из (You, Cloutier, 2020): PAL (Palmitic %) – процентное содержание пальмитиновой кислоты; OLE (Oleic %) – процентное содержание олеиновой кислоты; OlL (Oil content %) – процентное содержание масла; PM (Powdery mildew rating) – уровень заболевания мучнистой росой; IOD (Iodine value) – содержание йода; LIN (Linoleic %) – процентное содержание линолевой кислоты; LIO (Linolenic %) – процентное содержание линоленовой кислоты.





В верхней части графиков показано значение *p*-value статистического теста.

ния альтернативного аллеля) и с положительным эффектом (табл. S2). Количество негативных и положительно влияющих аллелей на DSI для каждого года различно, однако увеличение у сортов суммарного количества аллелей с негативным эффектом приводит к статистически значимому уменьшению величины DSI для всех трех лет (рис. 2).

Сорта, для которых число аллелей, увеличивающих величину DSI, не превышало число аллелей с обратным эффектом по всем трем годам, показаны в табл. 7. 8.3

8.3

0

| | DSI | | Тип | Страна | Селекционный статус | Название |
|------|------|------|----------|--------|---------------------|------------------|
| 2019 | 2020 | 2021 | | | | |
| 0 | 8.3 | 0 | Долгунец | Япония | Линия | Honkei35, к-5396 |
| 0 | 0 | 0 | Межеумок | Чехия | Линия | АGT987, к-7225 |

Сорт

Линия

Сорт

Франция

Россия

Таблица 7. Сорта, имевшие наилучшее сочетание аллелей с положительным и негативным эффектом по всем трем годам

Обсуждение

0

19

0

В этой статье мы использовали программу IIIVmrMLM для полногеномного поиска ассоциаций между однонуклеотидными полиморфизмами и данными об устойчивости растений льна к заражению грибом *F. oxysporum* f. sp. *lini*. Всего обнаружено 111 QTN, ассоциированных с величиной индекса тяжести заболевания (DSI), рассчитанной для разных лет.

0

0

0

Обнаруженные этим методом QTN Chr1_1706865, Chr1_1706872, и Chr8_22542741, по-видимому, маркируют ранее найденные с помощью пакета GAPIT районы на 1-й и 8-й хромосомах, опубликованные в статье (Kanapin et al., 2021), находясь от них на расстоянии меньше среднего LD для соответствующих хромосом, которое было равно 16 и 45 Kb для 1-й и 8-й хромосом соответственно (рис. S1).

Многие из найденных QTN попадают в гены с важными функциями или оказываются вблизи от них, и не исключено, что эти гены являются казуальными (см. табл. 5). Некоторые из таких QTN оказывают благоприятный эффект на величину признака. Например, альтернативный аллель в QTN Chr1 25377570 в гене Lus10027990 уменьшает величину DSI, что является положительным эффектом. Ортолог этого гена у Arabidopsis AT4G02940.1 кодирует диоксигеназу, которая деметилирует m⁶A в мРНК. Мутации в данном гене влияют на стабильность мРНК регуляторов времени цветения FT, SPL3 и SPL9 и замедляют переход от вегетативного роста к цветению (Duan et al., 2017). Увеличение значения DSI наблюдается у носителей альтернативного аллеля в QTN Chr3 1992356 (см. табл. 5), попадающем в ген Lus10037255, его ортолог кодирует симпортер DUR3, участвующий в транспорте мочевины через плазматическую мембрану в клетки корня (Liu et al., 2003; Kojima et al., 2007). Поскольку заражение фузариозным увяданием происходит через корни из зараженной почвы, процессы транспорта веществ в корнях могут оказывать влияние на восприимчивость растения к заражению.

Некоторые QTN попадают в гены, связанные с растительным иммунитетом (см. табл. 5). Так, QTN Chr15_2097827 с альтернативным аллелем, увеличивающим индекс DSI, локализуется в гене Lus10007320, ортолог которого у Arabidopsis регулирует аутофагию (Kim et al., 2023). QTN в генах Lus10021849, Lus10008367 и Lus10024259, наоборот, уменьшают величину индекса DSI. Lus10021849 – ортолог гена CRK8 Arabidopsis, кодирующего рецептор-подобную протеинкиназу. Ортолог Lus10008367 у Arabidopsis кодирует эффектор Ran KA120. Этот эффектор предотвращает аутоиммунную активацию в отсутствие патогенов и ограничивает активность гена *SNC*, который кодирует TIR-NB-LRR-подобный рецептор, участвующий в иммунном ответе, опосредованном салициловой кислотой (Jia et al., 2023). Ортолог *Lus10024259* у *Arabidopsis* участвует в биосинтезе феруловой и синаповой кислот (Nair et al., 2004), которые важны для устойчивости растения к биотическим и абиотическим стрессам.

Eolle, ĸ-7034

ВНИИЛ, ЛМ92, к-6672

Воронежский 1308/138, к-3052

Во многих случаях наличие альтернативного аллеля приводило к увеличению значения DSI у его носителей. Многие из генов, в которые попали такие QTN, тоже связаны с ростом корня или листьев. Например, Lus10030349 (см. табл. 5) (ортолог AT1G31880.1) кодирует белок BREVIS RADIX, регулирующий удлинение и дифференцировку клеток в корне и побеге (Depuydt et al., 2013; Rodriguez-Villalon et al., 2014). Lus10036674 (ортолог АТЗG01470.1) кодирует белок НАТ5 с доменами «гомеобокс» и «лейциновая застежка», который вовлечен в механизм регуляции роста листьев (Aoyama et al., 1995), a Lus10010491 (ортолог AT3G07880.1) кодирует RhoGDI, ингибитор диссоциации ГДФ у ГТФазы Rho. Этот ингибитор ограничивает в пространстве сайты роста одной точкой на трихобласте и регулирует NADPH-оксидазу RHD2/AtrbohC, необходимую для роста корневых волосков (Carol et al., 2005).

Мутации в генах, связанных с растительным иммунитетом и реакцией на стресс, могут оказывать и негативный эффект на устойчивость растения к фузариозному увяданию (см. табл. 5). Например, Lus10002083 (ортолог AT5G08790.1) кодирует белок ATAF2, участвующий в регуляции базальных защитных реакций растения-хозяина против вирусной инфекции (Delessert et al., 2005; Wang X. et al., 2009; Wang X., Culver, 2012). Lus10023622 (ортолог AT1G74710.1) кодирует хлоропластную изохоризматсинтазу 1, которая участвует в синтезе салициловой кислоты, необходимой для защиты растения от патогенов (Wildermuth et al., 2001; Strawn et al., 2007). Lus10015799 (ортолог AT1G67510.1) кодирует протеинкиназу RLK, богатую лейциновыми повторами. Многие киназы RLK участвуют в процессах ответа клетки на патогены и абиотические стрессы (Lease et al., 1998; Gish, Clark, 2011; Yan et al., 2023). Ортолог AT3G29575.1, Lus10022764 действует как негативный регулятор абсцизовой кислоты (АВА) и реакции на стресс (Garcia et al., 2008).

Также некоторые мутации расположены в генах, связанных с энергетическим обменом и ростом цветка. Например, *AT3G16950.2*, ортолог гена *Lus10037741* (см. табл. 5), кодирует дегидрогеназу, которая является компо-



Рис. 3. Нормированные значения DSI у носителей референсного (REF) и альтернативного (ALT) аллелей в независимой выборке из 100 образцов для некоторых QTN, общих для обеих выборок.

Указаны p-value статистического теста Манна–Уитни между значениями DSI у носителей референсного и альтернативного аллелей.

нентом пластидного пируват-дегидрогеназного комплекса (pyruvate dehydrogenase complex, PDC) (Lutziger, Oliver, 2000). Этот комплекс участвует в процессе гликолиза. Lus10037741 содержит QTN Chr3 24632490, у которого альтернативный аллель уменьшает значение индекса DSI (см. табл. 5). Альтернативные алллели QTN Chr4 2301676 и Chr2 17726495 в генах Lus10029444 и Lus10033187, напротив, увеличивают значение индекса DSI (см. табл. 5). AT3G62910.1, ортолог гена Lus10029444, кодирует хлоропластный фактор высвобождения пептидной цепи APG3, который необходим для нормального развития хлоропластов (Motohashi et al., 2007). АТЗG54340.1, ортолог Lus10033187, кодирует гомеобелок APETALA 3, регулирующий процесс развития цветка у растения (Krizek, Meyerowitz, 1996). С другой стороны, QTN Chr15 13834579 в гене Lus10037970, ортологичном регулятору цветения AT3G54850.1, наоборот, положительно влияет на устойчивость к фузариозу, уменьшая величину DSI у носителей альтернативного аллеля.

Интересно также отметить, что одиннадцать из найденных QTN пересеклись с опубликованными ранее функциональными районами QTL, однако только два района были связаны с растительным иммунитетом, тогда как остальные – с производством жирных кислот (см. табл. 6). Жирные кислоты у растений выступают в качестве защиты от патогенов и абиотических стрессов (Kachroo et al., 2008; He, Ding, 2020). Кроме того, пальмитиновая кислота уменьшает заражение фузариозом у других растений (Ma et al., 2021). Таким образом, QTN, расположенные в районах, связанных с выработкой жирных кислот, могут оказывать влияние на устойчивость растений к фузариозному увяданию. Четыре QTN попали в районы, ассоциированные с пальмитиновой кислотой (см. табл. 6), что может говорить о важной роли этой кислоты в защите от фузариозной инфекции у льна. QTN Chr8_22542741 пересекался с QTL QOLE-Lu8.1, ассоциированным с выработкой олеиновой кислоты. В этом же регионе расположены QTN Chr8_22560236 и Chr8_22560290, ранее найденные с помощью пакета GAPIT (Kanapin et al., 2021), что также указывает на возможную важность выработки олеиновой кислоты для защиты растения от фузариозного увядания. Один QTN, Chr1_2540379, тоже пересекался с недавно опубликованным регионом, связанным с устойчивостью льна к фузариозному увяданию (Cloutier et al., 2024).

Для дополнительного подтверждения результатов мы проверили на независимой выборке из 100 образцов достоверность обнаруженных ассоциаций между QTN и значением DSI (рис. 3). Выборка из 100 образцов, выращенных в тех же условиях, была ранее секвенирована отдельно от рассматриваемой выборки и не пересекается с выборкой, которая используется в данном исследовании. Можно видеть, что QTN Chr5_15553508 и Chr7_3147157, расположенные в регионах, связанных с пальмитиновой кислотой, и QTN Chr8_22542741, попавший в регион, связанный с олеиновой кислотой, демонстрируют значимое различие в величине DSI у носителей референсного и альтернативного аллелей (см. рис. 3). Также значимый аллельный эффект наблюдался у QTN, локализованных в генах, которые, согласно литературным данным, связаны с растительным иммунитетом, защитой от патогенов и реакцией на стресс (см. табл. 5 и 6): Chr13_6339069 (Lus10002083), Chr14 12732300 (Lus10008367), Chr4_12925693 (Lus10015799) и Chr10 16815632 (Lus10022764). Это позволяет предположить, что указанные гены могут участвовать в иммунном ответе льна на инфекцию.

Выявлено пять сортов с наибольшим количеством аллелей, снижающих DSI (см. табл. 7). DSI этих сортов значительно ниже среднего значения, которое для 2019, 2020 и 2021 гг. составило 38.7, 38.9 и 34.4 соответственно. Данные сорта могут быть интегрированы в современные селекционные программы.

Заключение

В результате применения новой мультилокусной модели IIIVmrMLM для поиска геномных ассоциаций с устойчивостью льна к заболеванию фузариозом были выявлены новые геномные варианты, расположенные в важных регуляторных регионах. Сорта, имеющие данные варианты, показывали большую устойчивость к заболеванию и могут быть использованы в селекционных программах.

Список литературы / References

- Методические указания по фитопатологической оценке устойчивости льна-долгунца к болезням. М., 2000
- [Guidelines for the Phytopathological Assessment of the Resistance of Fiber Flax to Diseases. Moscow, 2000 (in Russian)]
- Рожмина Т.А. Идентификация эффективных генов устойчивости к фузариозному увяданию у сортов льна-долгунца. Биология в сельском хозяйстве. 2017;4:10-12

[Rozhmina T.A. Identification of effective genes of resistance to Fusarial wilt at variety of fibre-flax. *Biology in Agriculture*. 2017;4: 10-12 (in Russian)]

Рожмина Т.А., Лошакова Н.И. Образцы прядильного и масличного льна (*Linum usitatissimum* L.) – источники эффективных генов устойчивости к фузариозному увяданию и ее зависимость от температуры. Сельскохозяйственная биология. 2016;51(3):310-317. doi 10.15389/agrobiology.2016.3.310rus

[Rozhmina T.A., Loshakova N.I. New sources of effective resistance genes to Fusarium wilt in flax (*Linum usitatissimum* L.) depending on temperature. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agric Biol.* 2016;51(3):310-317. doi 10.15389/agrobiology.2016.3.310eng]

- Andersen P., Kragelund B.B., Olsen A.N., Larsen F.H., Chua N.H., Poulsen F.M., Skriver K. Structure and biochemical function of a prototypical Arabidopsis U-box domain. J Biol Chem. 2004; 279(38):40053-40061. doi 10.1074/jbc.M405057200
- Aoyama T., Dong C.H., Wu Y., Carabelli M., Sessa G., Ruberti I., Morelli G., Chua N.H. Ectopic expression of the Arabidopsis transcriptional activator Athb-1 alters leaf cell fate in tobacco. *Plant Cell*. 1995;7(11):1773-1785. doi 10.1105/tpc.7.11.1773
- Boba A., Kostyn K., Kozak B., Zalewski I., Szopa J., Kulma A. Transcriptomic profiling of susceptible and resistant flax seedlings after *Fusarium oxysporum* lini infection. *PLoS One.* 2021;16:e0246052. doi 10.1371/journal.pone.0246052
- Bradbury P.J., Zhang Z., Kroon D.E., Casstevens T.M., Ramdoss Y., Buckler E.S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*. 2007;23(19):2633-2635. doi 10.1093/bioinformatics/btm308
- Carol R.J., Takeda S., Linstead P., Durrant M.C., Kakesova H., Derbyshire P., Drea S., Zarsky V., Dolan L. A RhoGDP dissociation inhibitor spatially regulates growth in root hair cells. *Nature*. 2005; 438(7070):1013-1016. doi 10.1038/nature04198
- Cloutier S., Edwards T., Zheng C., Booker H.M., Islam T., Nabetani K., Kutcher H.R., Molina O., You F.M. Fine-mapping of a major locus for Fusarium wilt resistance in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Theor Appl Genet*. 2024;137(1):27. doi 10.1007/s00122-023-04528-2
- Dean R., Van Kan J.A., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Di Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 2012;13(4):414-430. doi 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x

- Delessert C., Kazan K., Wilson I.W., Van Der Straeten D., Manners J., Dennis E.S., Dolferus R. The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis-related genes in Arabidopsis. *Plant J.* 2005;43(5):745-757. doi 10.1111/j.1365-313X.2005.02488.x
- Depuydt S., Rodriguez-Villalon A., Santuari L., Wyser-Rmili C., Ragni L., Hardtke C.S. Suppression of *Arabidopsis* protophloem differentiation and root meristem growth by CLE45 requires the receptor-like kinase BAM3. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(17): 7074-7079. doi 10.1073/pnas.1222314110
- Dmitriev A.A., Krasnov G.S., Rozhmina T.A., Novakovskiy R.O., Snezhkina A.V., Fedorova M.S., Yurkevich O.Y., Muravenko O.V., Bolsheva N.L., Kudryavtseva A.V., Melnikova N.V. Differential gene expression in response to *Fusarium oxysporum* infection in resistant and susceptible genotypes of flax (*Linum usitatissimum* L.) *BMC Plant Biol.* 2017;17(Suppl.2):253. doi 10.1186/s12870-017-1192-2
- Duan H.C., Wei L.H., Zhang C., Wang Y., Chen L., Lu Z., Chen P.R., He C., Jia G. ALKBH10B is an RNA N⁶-methyladenosine demethylase affecting Arabidopsis floral transition. *Plant Cell*. 2017;29(12): 2995-3011. doi 10.1105/tpc.16.00912
- Galindo-González L., Deyholos M.K. RNA-seq transcriptome response of flax (*Linum usitatissimum* L.) to the pathogenic fungus *Fusarium* oxysporum f. sp. lini. Front Plant Sci. 2016;7:1766. doi 10.3389/ fpls.2016.01766
- Garcia M.E., Lynch T., Peeters J., Snowden C., Finkelstein R. A small plant-specific protein family of ABI five binding proteins (AFPs) regulates stress response in germinating *Arabidopsis* seeds and seedlings. *Plant Mol Biol*. 2008;67(6):643-658. doi 10.1007/s11103-008-9344-2
- Gish L.A., Clark S.E. The RLK/Pelle family of kinases. *Plant J.* 2011; 66(1):117-127. doi 10.1111/j.1365-313X.2011.04518.x
- Goudenhooft C., Bourmaud A., Baley C. Flax (*Linum usitatissimum* L.) fibers for composite reinforcement: exploring the link between plant growth, cell walls development, and fiber properties. *Front Plant Sci.* 2019;10:411. doi 10.3389/fpls.2019.00411
- He M., Ding N.Z. Plant unsaturated fatty acids: multiple roles in stress response. *Front Plant Sci.* 2020;11:562785. doi 10.3389/fpls.2020. 562785
- Houston B.R., Knowles P.F. Fifty-years survival of flax fusarium wilt in the absence of flax culture. *Plant Dis Rep.* 1949;33:38-39
- Jia M., Chen X., Shi X., Fang Y., Gu Y. Nuclear transport receptor KA120 regulates molecular condensation of MAC3 to coordinate plant immune activation. *Cell Host Microbe*. 2023;31(10):1685-1699.e7. doi 10.1016/j.chom.2023.08.015
- Kachroo A., Fu D.Q., Havens W., Navarre D., Kachroo P., Ghabrial S.A. An oleic acid-mediated pathway induces constitutive defense signaling and enhanced resistance to multiple pathogens in soybean. *Mol Plant Microbe Interact*. 2008;21(5):564-575. doi 10.1094/MPMI-21-5-0564
- Kanapin A., Bankin M., Rozhmina T., Samsonova A., Samsonova M. Genomic regions associated with Fusarium wilt resistance in flax. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12383. doi 10.3390/ijms222212383
- Kim J.H., Jung H., Song K., Lee H.N., Chung T. The phosphatidylinositol 3-phosphate effector FYVE3 regulates FYVE2-dependent autophagy in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci.* 2023;14:1160162. doi 10.3389/fpls.2023.1160162
- Kojima S., Bohner A., Gassert B., Yuan L., von Wirén N. AtDUR3 represents the major transporter for high-affinity urea transport across the plasma membrane of nitrogen-deficient Arabidopsis roots. *Plant J.* 2007;52(1):30-40. doi 10.1111/j.1365-313X.2007.03223.x
- Krizek B.A., Meyerowitz E.M. The *Arabidopsis* homeotic genes *APETALA3* and *PISTILLATA* are sufficient to provide the B class organ identity function. *Development*. 1996;122(1):11-22. doi 10.1242/dev.122.1.11
- Lease K., Ingham E., Walker J.C. Challenges in understanding RLK function. *Curr Opin Plant Biol.* 1998;1(5):388-392. doi 10.1016/s1369-5266(98)80261-6

- Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009;25(14):1754-1760. doi 10.1093/bioinformatics/btp324
- Li M., Zhang Y.W., Xiang Y., Liu M.H., Zhang Y.M. IIIVmrMLM: the R and C++ tools associated with 3VmrMLM, a comprehensive GWAS method for dissecting quantitative traits. *Mol Plant*. 2022; 15(8):1251-1253. doi 10.1016/j.molp.2022.06.002
- Liu L.H., Ludewig U., Frommer W.B., von Wirén N. AtDUR3 encodes a new type of high-affinity urea/H⁺ symporter in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2003;15(3):790-800. doi 10.1105/tpc.007120
- Lutziger I., Oliver D.J. Molecular evidence of a unique lipoamide dehydrogenase in plastids: analysis of plastidic lipoamide dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*. FEBS Lett. 2000;484(1):12-16. doi 10.1016/s0014-5793(00)02116-5
- Ma K., Kou J., Khashi U., Rahman M., Du W., Liang X., Wu F., Li W., Pan K. Palmitic acid mediated change of rhizosphere and alleviation of Fusarium wilt disease in watermelon. *Saudi J Biol Sci.* 2021; 28(6):3616-3623. doi 10.1016/j.sjbs.2021.03.040
- Motohashi R., Yamazaki T., Myouga F., Ito T., Ito K., Satou M., Kobayashi M., Nagata N., Yoshida S., Nagashima A., Tanaka K., Takahashi S., Shinozaki K. Chloroplast ribosome release factor 1 (AtcpRF1) is essential for chloroplast development. *Plant Mol Biol.* 2007;64(5):481-497. doi 10.1007/s11103-007-9166-7
- Nair R.B., Bastress K.L., Ruegger M.O., Denault J.W., Chapple C. The Arabidopsis thaliana REDUCED EPIDERMAL FLUORESCENCE1 gene encodes an aldehyde dehydrogenase involved in ferulic acid and sinapic acid biosynthesis. *Plant Cell.* 2004;16(2):544-554. doi 10.1105/tpc.017509
- Ondrej M. Evaluation of flax genepool according to resistance to Fusarium wilt of flax and to mildew. *Plant Genet. Resour.* 1993;92: 54-58
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I., Daly M.J., Sham P.C. PLINK: a tool set for whole-genome association and populationbased linkage analyses. *Am J Hum Genet*. 2007;81(3):559-575. doi 10.1086/519795
- Rashid K.Y., Kenaschuk E.O. Effect of trifluralin on fusarium wilt in flax. *Can J Plant Sci.* 1993;3:893-901. doi 10.4141/cjps93-117
- Rodriguez-Villalon A., Gujas B., Kang Y.H., Breda A.S., Cattaneo P., Depuydt S., Hardtke C.S. Molecular genetic framework for protophloem formation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(31):11551-11556. doi 10.1073/pnas.1407337111
- Rozhmina T., Samsonova A., Kanapin A., Samsonova M. An account of Fusarium wilt resistance in flax *Linum usitatissimum*: the disease severity data. *Data Brief*. 2022;41:107869. doi 10.1016/j.dib.2022. 107869

- Strawn M.A., Marr S.K., Inoue K., Inada N., Zubieta C., Wildermuth M.C. *Arabidopsis* isochorismate synthase functional in pathogen-induced salicylate biosynthesis exhibits properties consistent with a role in diverse stress responses. *J Biol Chem.* 2007;282(8): 5919-5933. doi 10.1074/jbc.M605193200
- Tello D., Gil J., Loaiza C.D., Riascos J.J., Cardozo N., Duitama J. NGSEP3: accurate variant calling across species and sequencing protocols. *Bioinformatics*. 2019;35(22):4716-4723. doi 10.1093/bioinformatics/btz275
- Wang X., Culver J.N. DNA binding specificity of ATAF2, a NAC domain transcription factor targeted for degradation by Tobacco mosaic virus. *BMC Plant Biol.* 2012;12:157. doi 10.1186/1471-2229-12-157
- Wang X., Goregaoker S.P., Culver J.N. Interaction of the Tobacco mosaic virus replicase protein with a NAC domain transcription factor is associated with the suppression of systemic host defenses. *J Virol.* 2009;83(19):9720-9730. doi 10.1128/JVI.00941-09
- Wang Z., Hobson N., Galindo L., Zhu S., Shi D., McDill J., Yang L., Hawkins S., Neutelings G., Datla R., Lambert G., Galbraith D.W., Grassa C.J., Geraldes A., Cronk Q.C., Cullis C., Dash P.K., Kumar P.A., Cloutier S., Sharpe A.G., Wong G.K., Wang J., Deyholos M.K. The genome of flax (*Linum usitatissimum*) assembled *de novo* from short shotgun sequence reads. *Plant J.* 2012;72(3): 461-473. doi 10.1111/j.1365-313X.2012.05093.x
- Wildermuth M.C., Dewdney J., Wu G., Ausubel F.M. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature*. 2001;414(6863):562-565. doi 10.1038/35107108
- Yan J., Su P., Meng X., Liu P. Phylogeny of the plant receptor-like kinase (RLK) gene family and expression analysis of wheat RLK genes in response to biotic and abiotic stresses. *BMC Genomics*. 2023;24(1):224. doi 10.1186/s12864-023-09303-7
- You F., Cloutier S. Mapping quantitative trait loci onto chromosomescale pseudomolecules in flax. *Methods Protoc.* 2020;3(2):28. doi 10.3390/mps3020028
- Zhang C., Dong S.-S., Xu J.-Y., He W.-M., Yang T.-L. PopLDdecay: a fast and effective tool for linkage disequilibrium decay analysis based on variant call format files. *Bioinformatics*. 2019;35(10): 1786-1788. doi 10.1093/bioinformatics/bty875
- Zhang Y.M., Jia Z., Dunwell J.M. Editorial: the applications of new multi-locus GWAS methodologies in the genetic dissection of complex traits. *Front Plant Sci.* 2019;10:100. doi 10.3389/fpls.2019. 00100
- Zhang Y.-W., Tamba C.L., Wen Y.-J., Li P., Ren W.-L., Ni Y.-L., Gao J., Zhang Y.-M. mrMLM v4.0.2: an R platform for multi-locus genome-wide association studies. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2020;18(4):481-487. doi 10.1016/j.gpb.2020.06.006

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила в редакцию 08.09.2024. После доработки 23.10.2024. Принята к публикации 23.10.2024.