

ISSN 1561-8323 (print)

БИОЛОГИЯ
BIOLOGY

УДК 577.21-633.521

Поступило в редакцию 30.06.2017

Received 30.06.2017

В. А. Лемеш, М. В. Богданова*Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ПОЛИМОРФИЗМ *SAD* И *FAD* ГЕНОВ ДЕСАТУРАЗ ЛЬНА
(*LINUM USITATISSIMUM* L.)***(Представлено академиком Л. В. Хотылевой)*

Аннотация. Проведено исследование генетической variability *sad* и *fad* генов десатураз льна по результатам секвенирования и дана оценка степени влияния различных аллельных вариантов этих генов на жирнокислотный состав льняного масла. Полученные данные о структуре и полиморфизме генов десатураз могут быть использованы при разработке маркерных систем для проведения маркер-сопутствующей селекции льна и создания сортов с улучшенным жирнокислотным составом масла.

Ключевые слова: масличный лен, хозяйственно ценные признаки, жирные кислоты, десатуразы жирных кислот, *sad* и *fad* гены

Для цитирования: Лемеш, В. А. Полиморфизм *sad* и *fad* генов десатураз льна (*Linum usitatissimum* L.) / В. А. Лемеш, М. В. Богданова // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2017. – Т. 61, № 6. – С. 58–65.

Valiantsina A. Lemesh, Maryna V. Bahdanava*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***POLYMORPHISM OF *SAD* AND *FAD* DESATURASE GENES IN LINSEED (*LINUM USITATISSIMUM* L.)***(Communicated by Academician Lubov V. Khotyleva)*

Abstract. The genetic variability of *sad* and *fad* desaturase genes of linseed was analyzed according to sequencing data. The impact assessment of various allelic variants of these genes on the fatty acid composition of linseed oil was given. The obtained data for the structure and polymorphism of desaturase genes can be used in developing marker systems for marker-assisted selection of linseed and in creating varieties with an improved fatty acid composition of oil.

Keywords: oil flax, economically valuable signs, fatty acids, desaturase fatty acids, *sad* and *fad* genes

For citation: Lemesh V. A., Bahdanava M. V. Polymorphism of *sad* and *fad* desaturase genes in linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2017, vol. 61, no. 6, pp. 58–65 (in Russian).

Введение. Масличный лен (*Linum usitatissimum* L.) является ценной технической культурой многостороннего использования. Традиционные сорта масличного льна содержат 45–50 % масла. В состав льняного масла входит пять основных жирных кислот – пальмитиновая (C16:0, ~6 %), стеариновая (C18:0, ~2,5 %), олеиновая (C18:1 цис-Δ9; ~19 %), линолевая (C18:2 цис-Δ9, 12; ω-6; ~24 %) и α-линоленовая (C18: 3 цис-Δ9, 12, 15; ω-3; ~55–57 %) кислоты [1].

В последние годы во всем мире возрождается интерес к использованию льняного масла в пищу в связи с его лечебными свойствами, обусловленными высоким содержанием полиненасыщенной α-линоленовой кислоты ω-3. Льняное масло способствует выведению из организма холестерина, улучшению обмена белков и жиров, нормализации артериального давления, уменьшению вероятности образования тромбов и опухолей. Льняное масло значительно снижает риск сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний и уменьшает аллергические реакции [2].

Селекция льна может быть существенно ускорена, если создать молекулярные маркеры к тем аллелям, которые коррелируют с определенными параметрами состава жирных кислот. Молеку-

лярные маркеры позволяют определять наличие той или иной аллели на самых ранних стадиях развития растения, в то время как лабораторные методы анализа масла на содержание жирных кислот весьма трудоемки и дорогостоящи, так как осуществляются с помощью жидкостной хроматографии. Используя молекулярные маркеры можно эффективно отбирать как родительские формы для скрещивания, так и гетерозиготные формы, обладающие необходимой комбинацией признаков.

Молекулярные исследования масличного льна направлены, в основном, на изучение генетического контроля жирнокислотного состава масла. Состав и уровень содержания жирных кислот в льняном масле является количественным признаком, т. е. за его проявление отвечает множество генов. Как известно, селекция по количественным признакам может быть связана с рядом трудностей. Фенотипическое действие большинства подобных генов проявляется на поздних стадиях развития растения, т. е. определять параметры жирнокислотного состава становится возможным только в конце вегетационного периода льна. Более того, обычно требуется получение дополнительного поколения селекционных форм для того, чтобы отбраковывать среди них формы, непригодные для создания сортов, что также повышает продолжительность и стоимость селекционного процесса.

У льна определены и охарактеризованы многие гены, кодирующие ферменты биосинтеза жирных кислот, однако мало известно о степени генетической изменчивости этих генов, существующих аллельных вариантах и их связи с составом жирных кислот [3–8]. Изучение вариабельности генов десатураз даст возможность выявить функционально значимые полиморфизмы и обнаружить внутригенные маркеры, позволяющие с высокой степенью достоверности выделять перспективные для селекции образцы льна масличного с желаемым соотношением основных ненасыщенных жирных кислот в масле семян.

До сих пор подобные исследования в Беларуси не проводились, однако в связи с необходимостью создания отечественных сортов льна с улучшенным жирнокислотным составом масла, изучение генетической вариабельности *sad* и *fad* генов десатураз исходного материала для создания белорусских сортов льна представляется особенно актуальным.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования служили три образца масличного льна (*L. usitatissimum* L., convar. *humile* Mill.), характеризующиеся различным соотношением жирных кислот в льняном масле – сорт Амон (Чехия, содержание α -линоленовой кислоты <5 %), линия гк-394 (получена из сорта Linola (Канада), содержание α -линоленовой кислоты 20–30 %), сорт Циан (Россия, содержание α -линоленовой кислоты >50 %). Для амплификации фрагментов шести генов десатураз было подобрано 58 ген-специфических перекрывающихся праймеров – по 12 праймеров для *sad1*, *sad2*, *fad3a*, *fad3b*, 6 для *fad2a* и 4 для *fad2b*. Выделение продуктов амплификации из геля и их очистку проводили с помощью Wizard[®] SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, США) по протоколам фирмы производителя.

Секвенирование фрагментов генов *sad1*, *sad2*, *fad2a*, *fad2b* и *fad3b* проводили с использованием набора для секвенирования BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) по методу Сэнгера и анализировали на генетическом анализаторе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Секвенирование генов *fad3a* проводили методом секвенирования нового поколения Illumina/Solexa на платформе MiSeq (Illumina, США) при конверсии исходных данных в fastq формат с помощью программы BaseSpace (Illumina, США).

Результаты и их обсуждение. Первоначальным этапом работы являлось проведение предварительных экспериментов по оптимизации методики ПЦР-анализа и подбору ген-специфических праймеров, позволяющих разбить последовательности генов *sad1*, *sad2*, *fad2a*, *fad3b*, *fad3a* и *fad3b* десатураз льна на несколько перекрывающихся фрагментов, длина которых позволит проводить секвенирование с использованием системы генетического анализа ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США), с учетом того, что длина прочтения данной системы составляет 600 п. н. После амплификации фрагментов с помощью подобранных комбинаций праймеров проводили электрофоретическое разделение фрагментов в 1,5 %-ном агарозном геле (рис. 1).

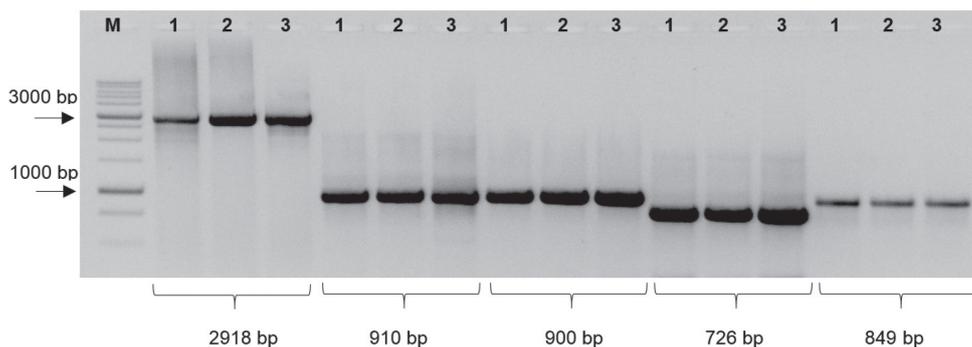


Рис. 1. Электрофореграмма фрагментов *sad1* гена образцов масличного льна: 1 – Амон, 2 – гк-394, 3 – Циан, М – маркер молекулярной массы М1Кб (Праймтех, Беларусь)

Fig. 1. Electroforegram of the *sad1* gene fragments of linseed samples: 1 – Amon, 2 – gk-394, 3 – Cian, M – DNA ladder M1Kb (Primetech, Belarus)

Анализ результатов секвенирования по Сэнгеру проводили в программе Unipro UGENE v1.24.2 с помощью схемы Workflow Designer. На рис. 2 представлен пример сборки консенсусной последовательности, полученной в результате выравнивания перекрывающихся последовательностей *fad2a* гена.

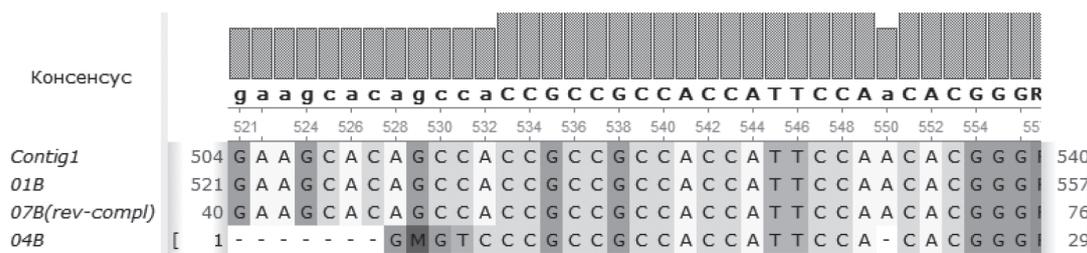


Рис. 2. Пример сборки консенсусной последовательности, полученной в результате выравнивания перекрывающихся последовательностей *fad2a* гена

Fig. 2. Assembly of the consensus sequence obtained as a result of the alignment of crossing sequences of the *fad2a* gene

Сборка генов *fad3a de novo* проводилась в программе Velvet de novo Assembly на базе облачного сервиса BaseSpace (by Illumina Inc.) с последующим выравниванием на референсную последовательность в программе Unipro UGENE v1.24.2 для подтверждения правильности сборки. На рис. 3 представлен пример выравнивания на референсную последовательность контигов *fad3a* гена.

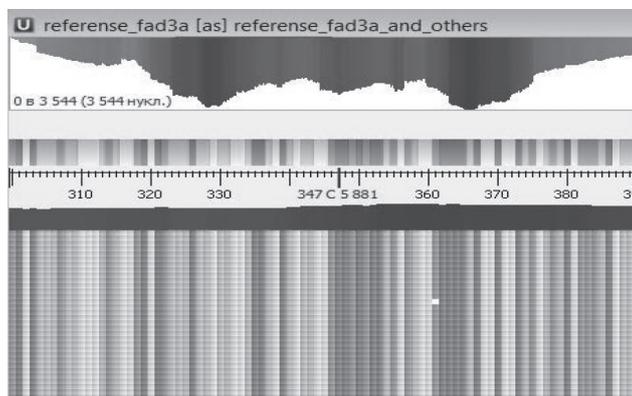


Рис. 3. Пример сборки консенсусной последовательности, полученной в результате выравнивания на референсную последовательность контигов *fad3a* гена

Fig. 3. Assembly of the consensus sequence obtained as a result of the alignment of contigs of the *fad3a* gene to the reference sequence

Анализ данных секвенирования показал, что длина кодирующей области составляет 2515 п. н. для *sad1* и 2519 п. н. для *sad2*. Оба гена кодируют белки, состоящие из 396 аминокислотных остатков. *Sad1* и *sad2* гены идентичны на 91 % по нуклеотидной и на 99 % по аминокислотной последовательностям. Последовательности *sad1* гена были идентичными для трех сортов. В последовательностях *sad2* гена выявлено шесть SNP (табл. 1). Мутация в третьем экзоне у линии гк-394 вызывает замену глицина на серин.

Т а б л и ц а 1. SNP и индели, идентифицированные в *sad* и *fad* генах льна масличногоT a b l e 1. SNP and indels identified in *sad* and *fad* genes of linseed

Ген Gene	Длина кодирующей области, bp Coding region length, bp	Число SNP Number of SNP	Частота SNP (SNP/100 bp) SNP frequency (SNP/100 bp)	Число инделей Number of indels	Частота инделей (индель/100 bp) Indel frequency (indel/100 bp)
<i>sad1</i>	2515	–	–	–	–
<i>sad2</i>	2519	6	0,24	–	–
<i>fad2a</i>	1137	6	0,53	3	0,26
<i>fad2b</i>	1149	6	0,52	30	2,6
<i>fad3a</i>	3280	2	0,06	5	0,15
<i>fad3b</i>	3002	5	0,17	–	–

Fad2a и *fad2b* гены не имеют интронов. Длина кодирующей области составляет 1137 п. н. для *fad2a* и 1149 п. н. для *fad2b*. *Fad2a* ген кодирует белок, состоящий из 378 аминокислотных остатков, *fad2b* – из 382 аминокислотных остатков. Данные гены идентичны на 82 % по нуклеотидной и на 87 % по аминокислотной последовательностям.

В последовательностях *fad2a* гена выявлено шесть SNP и три мутации по типу инделей (инсерций, делеций), а в последовательностях *fad2b* гена 6 SNP и 30 инделей (табл. 1).

Кодирующие области *fad3a* и *fad3b* генов составляют 3280 и 3002 п. н. соответственно, оба гена включают в себе шесть экзонов и пять интронов. Белковые последовательности состоят из 392 и 391 аминокислотного остатка. *Fad3a* и *fad3b* гены идентичны на 85 % по нуклеотидной и на 94 % по аминокислотной последовательностям. В последовательностях *fad3a* гена выявлено два SNP и пять мутаций по типу инделей (инсерций, делеций), а в последовательностях *fad3b* гена 5 SNP (табл. 1).

Точечная мутация в *fad3a* гене линии гк-394 приводит к образованию преждевременного стоп-кодона, что, вероятно, является причиной снижения α -линоленовой кислоты до 37,8 %. У низколиноленового сорта Амон обнаружена точечная мутация в шестом экзоне, приводящая к замене гистидина на тирозин в первом гистидиновом боксе, которая приводит к инактивации FAD3В десатуразы.

Анализ последовательностей шести генов показал значительный уровень вариации на нуклеотидном уровне, причем SNP были наиболее часто наблюдаемым типом мутаций. Большинство этих точечных мутаций были синонимичными заменами, которые не изменяли основные аминокислотные последовательности. SNP являются наиболее распространенным типом генетического полиморфизма ДНК геномов растений [9]. Однако их частота варьирует у разных видов растений [9]. Так, рис и арабидопсис имеют один SNP на каждые 300 п. н. [10], а кукуруза – один SNP на 60 п. н. [11]. В нашем исследовании частота SNP для *fad3b* генов составляла 1 на 500 п. н., тогда как частота для *fad3a* была в 2,5 раза выше – 1 на 200 п. н. Частота нуклеотидных мутаций в экзонах была ниже, чем в интронах, и, в основном, это были миссенс или молчащие мутации. В интронах наблюдались и SNP и индели, тогда как экзоны содержали только SNP (табл. 1). Экзоны находятся под сильным давлением отбора, что приводит к более медленной скорости мутаций, вызванной устранением вредных мутаций из генофонда [9].

Десатуразы, связанные с мембраной растений, характеризуются наличием трех высококонсервативных мотивов HIS-боксов, необходимых для ферментативной активности. Эти мотивы участвуют в образовании ди-ионных активных центров. В соответствии с другими десатуразами растений [14], секвенированные нами *fad* гены имели высококонсервативные мотивы, богатые

гистидином. Только у низколиноленового сорта Amon обнаружена точечная мутация в шестом экзоне, приводящая к замене гистидина на тирозин в первом гистидиновом боксе, которая, как было показано Banik и соавт., приводит к инактивации FAD3B десатуразы [8].

Sad1 и *sad2* гены имеют высококонсервативную структуру экзонов. Несколько SAD десатураз были клонированы и охарактеризованы для различных культур, таких как клешевина, соя, сафлор, арабидопсис и лен [15]. Высокая идентичность ДНК и аминокислотных последовательностей *sad* генов была зарегистрирована и для других растений, что может указывать на ключевую роль $\Delta 9$ -десатуразы в пути биосинтеза липидов у растений [15].

Sad ген отвечает за преобразование стеароил-АПБ в олеоил-АСР путем введения двойной связи в положении $\Delta 9$, что представляется наиболее вероятной мишенью для увеличения содержания ненасыщенных жирных кислот в масличных культурах. С другой стороны, поскольку ненасыщенные жирные кислоты являются частью структурных мембран, а также основными компонентами масла семян, модификация путей их синтеза может привести к увеличению текучести мембран, так как наличие двойных связей способствует нарушению полукристаллической мембранной структуры.

В работе Allaby и соавт. показано, что *sad2* гены имеют более консервативный характер и более выраженную экспрессию у льна, и высказывается предположение, что *sad2* локус является более физиологически важным [12]. Однако в наших исследованиях последовательности *sad1* гена оказались идентичными для сортов с разным жирнокислотным составом (табл. 2), тогда как в последовательностях *sad2* гена выявлено шесть SNP.

Т а б л и ц а 2. Характеристика жирнокислотного состава масла семян сортов льна масличного

T a b l e 2. Characteristic of the fatty acid composition of linseed

Сорт Variety	Содержание масла (%) Oil content (%)	Насыщенные кислоты (%) Saturated acids (%)		Ненасыщенные кислоты (%) Unsaturated acids (%)		
		Пальмитиновая C 16:0 Palmitic C 16:0	Стеариновая C 18:0 Stearic C 18:0	Олеиновая C 18:1 Oleic C 18:1	Линолевая C 18:2 Linoleic C 18:2	α -Линоленовая C 18:3 α -Linoelic C 18:3
		Amon	43,1	3,7	4,2	13,7
гк-394	42,6	6,5	4,2	20,6	30,5	37,8
Циан	43,5	4,5	3,8	16,0	13,3	56,6

Ненасыщенные жирные кислоты в растениях играют важную роль для поддержания целостности и функционирования мембраны, в передаче клеточных сигналов, в термической адаптации и запасании энергии. Десатурация олеиновой кислоты в линолевую является важным этапом, влияющим на качество масла, так как она инициирует синтез полиненасыщенных жирных кислот из олеиновой. Хотя у растений арабидопсиса был идентифицирован один *fad2* ген, у большинства других растений, включая лен, сою, хлопок и сафлор, обнаружены семейства *fad2* генов [6; 7]. Недавние исследования продемонстрировали, что генетическая изменчивость *fad2* генов была связана с последующими изменениями в профилях жирных кислот. Предполагается, что *fad2* гены ограничивают скорость пути биосинтеза жирных кислот у льна и находятся в сильной зависимости от окружающей среды. По некоторым данным транскрипция ацил-АПБ-десатураз индуцируется холодом у холодоустойчивых сортов, в то время как сорта, не способные акклиматизироваться к низким температурам, экспрессируют эти десатуразы конститутивно [15]. В последовательностях *fad2a* гена нами выявлено шесть SNP и три мутации по типу инделей (инсерций, делеций), а в последовательностях *fad2b* гена 6 SNP и 30 инделей (табл. 1), хотя в работе D. Thambugala и соавт. (2013) *fad2b* ген оказался более консервативным [13].

Десатурация жирных кислот может происходить либо в хлоропластах, либо в эндоплазматическом ретикулуме, откуда они в липид-связанной форме транспортируются в плазмалемму. Несколько эндоплазматических *fad3* генов были клонированы и охарактеризованы у различных растений, таких как рапс, сафлор, лен и арабидопсис [5]. Лен характеризуется широкой генетической изменчивостью по содержанию α -линоленовой кислоты – традиционные сорта имеют

50–59 % α -линоленовой кислоты, сорта с высоким содержанием – 60–70 % и соевые сорта – 2–4 %. Естественное аллельное разнообразие растений считается важным генетическим фактором фенотипической изменчивости. Индуцированные мутации элиминируют или вызывают значительное сокращение функционального продукта гена, тогда как встречающиеся в природе аллельные варианты приводят к изменению продуктов, что может являться основным механизмом изменения количественных признаков.

В последовательностях *fad3a* гена нами выявлено два SNP и пять мутаций по типу инделей (инсерций, делеций), а в последовательностях *fad3b* гена 5 SNP (табл. 1). Точечная мутация в *fad3a* гене линии гк-394 приводит к образованию преждевременного стоп-кодона, что, вероятно, является причиной снижения α -линоленовой кислоты до 37,8 %. У низколиноленового сорта Амон обнаружена точечная мутация в шестом экзоне, приводящая к замене гистидина на тирозин в первом гистидиновом боксе, которая приводит к инактивации FAD3B десатуразы и является причиной снижения α -линоленовой кислоты до 4 %, по сравнению с 50–60 % у традиционных сортов. Неспособность мутантной FAD3 десатуразы выполнять десатурацию линолевой кислоты в α -линоленовую подтверждается предыдущими исследованиями, демонстрирующими аддитивные генные эффекты в двух локусах при десатурации линолевой кислоты в α -линоленовую [3].

Также у сорта Амон с низким содержанием α -линоленовой кислоты наблюдалось повышенное содержание линолевой кислоты, что свидетельствует об обратной корреляции содержания данных кислот (табл. 2). Значительная обратная корреляция содержания линолевой и α -линоленовой кислот также была отмечена у ряда культур, включая лен, сою и миндаль [14]. Это согласуется с тем фактом, что биосинтез α -линоленовой кислоты происходит путем ступенчатой десатурации олеиновой кислоты через линолевую. Таким образом, линолевая кислота накапливается в мутантных FAD3 линиях.

В нескольких исследованиях показана корреляция между общим содержанием масла и соотношением насыщенных жирных кислот. Увеличение содержания пальмитиновой кислоты на 1 % привело к снижению содержания масла на 1,4 % у рапса [14]. В мутантных образцах сои с пониженным и повышенным содержанием пальмитиновой кислоты наблюдалось снижение содержания масла в семенах по сравнению с образцами со стандартным жирнокислотным составом. Тем не менее, корреляция между содержанием масла и уровнем содержания ненасыщенных жирных кислот не была полностью выяснена. В нашем исследовании такой корреляции не наблюдалось (табл. 2). Содержание масла в семенах является сложным количественным признаком, поэтому вполне вероятно, что эти корреляции могут определяться не только генетическими факторами, но также влиянием окружающей среды.

Паралогичные гены, образовавшиеся в результате дупликации предкового гена с последующей дивергенцией, способны эволюционировать в пределах одного вида, одновременно сохраняя исходную функцию (функции) основных генов. У льна ферменты SAD, FAD2 и FAD3 кодируются тремя дублированными генами. После дублирования паралоги могут сохранять свою первоначальную функцию, получать новую или замолкать. У льна функциональная избыточность шести паралогичных десатураз обеспечивает дополнительную буферную защиту от мутаций даже в экзонах.

Заключение. Полученные данные о структуре и полиморфизме идентифицированных генов расширяют современные представления о генетическом контроле формирования жирнокислотного состава льняного масла. Исследование молекулярных и физиологических механизмов накопления высокой/низкой концентрации АЛК в масле семян позволит манипулировать композицией льняного масла, создавая сорта пищевого или технического назначения, расширять возможности коммерческого использования льняного масла.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (проект № Б15-032).

Acknowledgements. The work is sponsored by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Project no. B15-032).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Westcott, N. D. Chemical studies on the constituents of *Linum* spp. / N. D. Westcott, N. D. Muir // *Flax, the genus Linum*. – New York: CRC Press, 2003. – P. 55–73.
2. Morris, D. H. *Flax – A Health and Nutrition Primer* / D. H. Morris. – 4th ed. – Ithaca, NY: Flax Council of Canada, 2007. – 140 p.
3. Green, A. G. A mutant genotype of flax (*Linum usitatissimum* L.) containing very low levels of linolenic acid in its seed oil / A. G. Green // *Can. J. Plant Sci.* – 1986. – Vol. 66, N 3. – P. 499–503. doi.org/10.4141/cjps86-068
4. Storage lipid accumulation and acyltransferase action in developing flaxseed / B. M. Sorensen [et al.] // *Lipids*. – 2005. – Vol. 40, N 10. – P. 1043–1049. doi.org/10.1007/s11745-005-1467-0
5. Two Fad3 Desaturase Genes Control the Level of Linolenic Acid in Flax Seed / P. Vrinten [et al.] // *Plant Physiol.* – 2005. – Vol. 139, N 1. – P. 79–87. doi.org/10.1104/pp.105.064451
6. Gene expression of stearyl-ACP desaturase and $\Delta 12$ fatty acid desaturase 2 is modulated during seed development of flax (*Linum usitatissimum*) / B. Fofana [et al.] // *Lipids*. – 2006. – Vol. 41, N 7. – P. 705–712. doi.org/10.1007/s11745-006-5021-x
7. Khadake, R. M. Cloning of a novel omega-6 desaturase from flax (*Linum usitatissimum*) and its functional analysis in *Saccharomyces cerevisiae* / R. M. Khadake, P. K. Ranjekar, A. M. Harsulkar // *Mol. Biotechnol.* – 2009. – Vol. 42, N 2. – P. 168–174. doi.org/10.1007/s12033-009-9150-3
8. Banik, M. Transcript profiling and gene characterization of three fatty acid desaturase genes in high, moderate, and low linolenic acid genotypes of flax (*Linum usitatissimum* L.) and their role in linolenic acid accumulation / M. Banik, S. Duguid, S. Cloutier // *Genome*. – 2011. – Vol. 54, N 6. – P. 471–483. doi.org/10.1139/g11-013
9. Nucleotide diversity and molecular evolution of the WAG-2 gene in common wheat (*Triticum aestivum* L) and its relatives / S. Wei [et al.] // *Genet. Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 34, N 4. – P. 606–615. doi.org/10.1590/s1415-47572011000400013
10. Large scale identification and analysis of genome-wide single-nucleotide polymorphisms for mapping in *Arabidopsis thaliana* / K. J. Schmid [et al.] // *Genome Res.* – 2003. – Vol. 13, N 6. – P. 1250–1257. doi.org/10.1101/gr.728603
11. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines / A. Ching [et al.] // *BMC Genet.* – 2002. – Vol. 3, N 1. – P. 19–33. doi.org/10.1186/1471-2156-3-19
12. Evidence of the domestication history of flax (*Linum usitatissimum* L.) from genetic diversity of the sad2 locus / R. G. Allaby [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2005. – Vol. 112, N 1. – P. 58–65. doi.org/10.1007/s00122-005-0103-3
13. Genetic variation of six desaturase genes in flax and their impact on fatty acid composition / D. Thambugala [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2013. – Vol. 126, N 10. – P. 2627–2641. doi.org/10.1007/s00122-013-2161-2
14. Лось, Д. А. Десатуразы жирных кислот / Д. А. Лось. – М.: Научный Мир, 2014. – 372 с.
15. Shanklin, J. Stearyl-acyl-carrier-protein desaturase from higher plants is structurally unrelated to the animal and fungal homologs / J. Shanklin, C. Somerville // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1991. – Vol. 88, N 6. – P. 2510–2514. doi.org/10.1073/pnas.88.6.2510

References

1. Westcott N. D., Muir N. D. Chemical studies on the constituents of *Linum* spp. *Flax, the genus Linum*. New York, CRC Press, 2003, pp. 55–73.
2. Morris D. H. *Flax – A Health and Nutrition Primer*. 4th ed., Ithaca, NY, Flax Council of Canada, 2007. 140 p.
3. Green A. G. A mutant genotype of flax (*Linum usitatissimum* L.) containing very low levels of linolenic acid in its seed oil. *Canadian Journal of Plant Science*, 1986, vol. 66, no. 3, pp. 499–503. doi.org/10.4141/cjps86-068
4. Sorensen B. M., Furukawa-Stoffer T. L., Marshall K. S., Page E. K., Mir Z., Forster R. J., Weselake R. J. Storage lipid accumulation and acyltransferase action in developing flaxseed. *Lipids*, 2005, vol. 40, no. 10, pp. 1043–1049. doi.org/10.1007/s11745-005-1467-0
5. Vrinten P., Hu Z., Munchinsky M.-A., Rowland G., Qiu X. Two Fad3 Desaturase Genes Control the Level of Linolenic Acid in Flax Seed. *Plant Physiology*, 2005, vol. 139, no. 1, pp. 79–87. doi.org/10.1104/pp.105.064451
6. Fofana B., Cloutier S., Duguid S., Ching J., Rampitsch C. Gene expression of stearyl-ACP desaturase and $\Delta 12$ fatty acid desaturase 2 is modulated during seed development of flax (*Linum usitatissimum*). *Lipids*, 2006, vol. 41, no. 7, pp. 705–712. doi.org/10.1007/s11745-006-5021-x
7. Khadake R. M., Ranjekar P. K., Harsulkar A. M. Cloning of a novel omega-6 desaturase from flax (*Linum usitatissimum*) and its functional analysis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biotechnology*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 168–174. doi.org/10.1007/s12033-009-9150-3
8. Banik M., Duguid S., Cloutier S. Transcript profiling and gene characterization of three fatty acid desaturase genes in high, moderate, and low linolenic acid genotypes of flax (*Linum usitatissimum* L.) and their role in linolenic acid accumulation. *Genome*, 2011, vol. 54, no. 6, pp. 471–483. doi.org/10.1139/g11-013
9. Wei S., Peng Z., Zhou Y., Yang Z., Wu K., Ouyang Z. Nucleotide diversity and molecular evolution of the WAG-2 gene in common wheat (*Triticum aestivum* L) and its relatives. *Genetics and Molecular Biology*, 2011, vol. 34, no. 4, pp. 606–615. doi.org/10.1590/s1415-47572011000400013
10. Schmid K. J., Sørensen T. R., Stracke R., Törjék O., Altmann T., Mitchell-Olds T., Weisshaar B. Large scale identification and analysis of genome-wide single-nucleotide polymorphisms for mapping in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Research*, 2003, vol. 13, no. 6, pp. 1250–1257. doi.org/10.1101/gr.728603

11. Ching A., Caldwell K. S., Jung M., Dolan M., Smith O. S. (Howie), Tingey S., Morgante M., Rafalski A. J. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genetics*, 2002, vol. 3, no. 1, pp. 19–33. doi.org/10.1186/1471-2156-3-19
12. Allaby R. G., Peterson G. W., Merriwether D. A., Fu Y.-B. Evidence of the domestication history of flax (*Linum usitatissimum* L.) from genetic diversity of the sad2 locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, vol. 112, no. 1, pp. 58–65. doi.org/10.1007/s00122-005-0103-3
13. Thambugala D., Duguid S., Loewen E., Rowland G., Booker H., You F. M., Cloutier S. Genetic variation of six desaturase genes in flax and their impact on fatty acid composition. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, vol. 126, no. 10, pp. 2627–2641. doi.org/10.1007/s00122-013-2161-2
14. Los' D. A. *Fatty acid desaturases*. Moscow, Nauchnyi Mir Publ., 2014. 372 p. (in Russian).
15. Shanklin J., Somerville C. Stearoyl-acyl-carrier-protein desaturase from higher plants is structurally unrelated to the animal and fungal homologs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1991, vol. 88, no. 6, pp. 2510–2514. doi.org/10.1073/pnas.88.6.2510

Информация об авторах

Лемеш Валентина Александровна – канд. биол. наук, доцент, директор. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Lemesh@igc.by.

Богданова Марина Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.bogdanova@igc.by.

Information about the authors

Lemesh Valiantsina Aleksandrovna – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Director. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Lemesh@igc.by.

Bahdanava Maryna Vladimirovna – Ph. D. (Biology), Leading researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.bogdanova@igc.by.