

РАБОКОНЬ А.М.<sup>1✉</sup>, ПІРКО Я.В.<sup>1</sup>, КАЛАФАТ Л.О.<sup>1</sup>, ГУЗЕНКО Є.В.<sup>2</sup>, БОГДАНОВА М.В.<sup>2</sup>, САКОВИЧ В.І.<sup>2</sup>, ЛЕМЕШ В.А.<sup>2</sup>, БЛЮМ Я.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, e-mail: rabokonnastya@gmail.com

<sup>2</sup> Інститут генетики та цитології НАН Білорусі, Республіка Білорусь, 220072, м. Мінськ, вул. Академіческая, 27

✉ rabokonnastya@gmail.com

## ПОЛІМОРФІЗМ ДОВЖИН ІНТРОНІВ ГЕНІВ $\beta$ -ТУБУЛІНУ У БІЛОРУСЬКИХ ЛАНДРАС *LINUM USITATISSIMUM* L.

**Мета.** Метою роботи була оцінка можливостей використання поліморфізму довжини інтронів  $\beta$ -тубуліну (ТВР, Tubulin Based Polymorphism) для генетичної диференціації стародавніх сортів (ландрас) льону, історично районованих у Білорусі. **Методи.** Використовували метод оцінки поліморфізму довжини першого інтрону  $\beta$ -тубуліну (ТВР). Ампліфіковані фрагменти (інтрони  $\beta$ -тубуліну) фракціонували за допомогою електрофорезу у неденатуруючому поліакриламідному гелі. Смуги ДНК детектували з використанням фарбування нітратом срібла. **Результати.** Розмір ампліфікованих фрагментів варіював від 400 п. н. до 1900 п. н. Встановлено, що 25 із 30 досліджених сортів (ландрас) є генетично неоднорідними. Загальна кількість алельних фенотипів складає 7, а значення PIC (Polymorphism Information Content) варіює від 0,0 до 0,72. **Висновки.** Отримані дані дозволяють рекомендувати ландраси як джерело генів для збільшення генетичного різноманіття наявного генотипу льону, а ТВР-метод, що може бути застосований як у молекулярно-філогенетичному аналізі, так і в молекулярній селекції льону.

**Ключові слова:** *Linum usitatissimum*, ландраса, молекулярні маркери, ДНК-фінгерпринтинг, гени  $\beta$ -тубуліну, поліморфізм інтронів.

Завдяки унікальним характеристикам волокна і олії льон (*Linum usitatissimum* L.) почав використовуватися людиною ще на зорі цивілізації і тому досі представляє інтерес для дослідження. Проте останнім часом накопичується все більше доказів того, що сучасна селекція зменшує генетичну різноманітність сортів сільськогосподарських рослин [1, 2]. Це пов'язано в першу чергу з тим, що нові сорти часто отримують у результаті схрещування генетично близьких генотипів, а старі сорти, генетично більш

різноманітні, але менш продуктивні, не часто залучаються до селекційних програм. Такі схрещування, що продовжуються тривалий час, призводять до зменшення рівня генетичної мінливості селекційного матеріалу. Зменшення генетичної різноманітності сільськогосподарських культур робить їх більш уразливими до хвороб і шкідників, а в перспективі ставить під загрозу можливість їх сталого генетичного поліпшення. Тому в останні десятиліття в світі все більше приділяється увага характеристиці та збереженню генетичного різноманіття. Головні його джерела, на думку ряду вчених [3–5], зосереджені в стародавніх місцевих сортах і популяціях – ландрасах (landrace), які набули свої характерні ознаки в результаті багаторічного вирощування і супутнього відбору в селянських (фермерських) господарствах у конкретній місцевості. Однак більшість ландрас зберігаються тепер тільки в колекціях генетичних банків.

Зазвичай ландраса визначається як культивований, генетично гетерогенний сорт, який розвивався в певній екогеографічній області і тому адаптований до ґрунтово-кліматичних умов і до традиційних методів ведення господарства [6]. Вивчення ландрас може не тільки дати більш повну картину генетичної різноманітності культурного виду, яка в сучасних сортах вельми обмежена, але і дозволити виявити генотипи, які можуть бути корисні як донори рідкісних алелів генів господарсько цінних ознак [7]. У Білорусі була створена та вже багато років підтримується досить велика колекція сортів, у тому числі і ландрас льону [8]. Ці сорти досліджуються за допомогою молекулярно-генетичного аналізу, тому також представляє інтерес можливість використання однієї з перспективних систем молекулярних маркерів, що базується на наявності інтрон-специфічного полі-

© РАБОКОНЬ А.М., ПІРКО Я.В., КАЛАФАТ Л.О., ГУЗЕНКО Є.В., БОГДАНОВА М.В., САКОВИЧ В.І., ЛЕМЕШ В.А., БЛЮМ Я.Б.

морфізму ДНК у родині генів  $\beta$ -тубулінів (tubulin-based polymorphism (TBP)), для дослідження стародавніх сортів льону [9]. Раніше ефективність TBP-методу була доведена під час дослідження ряду рослин, зокрема сортів льону [10, 11], а також сортів та популяцій злакових рослин [12, 13].

### Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження слугували 30 білоруських ландрас *L. usitatissimum* (табл.). Геномну ДНК виділяли з проростків (не менше 10 рослин кожного сорту), використовуючи ЦТАБ-метод [14]. Якість і кількість ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу в 1,5 %-ному агарозному гелі і спектрофотометрично на біофотометрі «Eppendorf». Зразки ДНК зберігали за  $-20^{\circ}\text{C}$ . TBP-аналіз здійснювали згідно з методом, описаним Bardini et al. [9]. Послідовності використаних праймерів наведені нижче:

TBP-F: 5'-AACTGGGCBAARGGNCAУТАУАС-3';

TBP-R: 5'-ACCATRCAYTCRTCDGCRTTYTC-3'.

ПЛР проводили за допомогою ампліфікатора Thermal Cycler 2720 («Applied Biosystems», США). Реакційна суміш (об'ємом 10 мкл) складалася з 10x буфера для ПЛР, що містив 200 мМ сульфату амонію, 2,5 ммоль  $\text{MgCl}_2$ , 50 нг рослинної ДНК, 1 мкМ кожного з праймерів, 200 мкМ кожного дНТФ, 0,5 од. Таq полімерази («Fermentas», Литва). Ампліфікацію проводили у відповідності з таким протоколом: початкова денатурація ( $94^{\circ}\text{C}$ ) – 3 хв., 40 циклів ампліфікації (денатурація  $94^{\circ}\text{C}$  – 30 с, відпал праймерів  $55^{\circ}\text{C}$  – 40 с, елонгація  $72^{\circ}\text{C}$  – 1,5 хв.), завершальна елонгація  $72^{\circ}\text{C}$  – 8 хв.,  $15^{\circ}\text{C}$  – утримання [9]. Продукти ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу в 6 %-ному неденатуруючому поліакриламідному гелі в 1x TBE-буфері [15] з подальшим фарбуванням нітратом срібла [16]. Цифрові фотографії гелів аналізували з використанням програми Gel Analyzer ([gelanalyzer.software.informer.com/1.0/](http://gelanalyzer.software.informer.com/1.0/)). Розмір відтворюваних і найбільш чітких фрагментів визначали, використовуючи ДНК-маркер (O'Gene Ruler™ 100bp Plus DNA Ladder, ready-to-use; «Fermentas», Литва).

Рівень поліморфізму оцінювали за середнім значенням Polymorphism Information Content (PIC), що розраховується за формулою:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad [17];$$

де  $p_i$  – частота присутності  $i$ -го фенотипу у вибірці,  $n$  – загальна кількість різних фенотипів. Зважаючи на складність визначення частот фрагментів (смужок) конкретного TBP-локусу, під час розрахунку PIC замість частоти фрагментів використовували показник частоти фенотипів [18].

### Результати та обговорення

Було досліджено внутрішньосортний поліморфізм 30 ландрас *L. usitatissimum*. Більшість візуалізованих ДНК-фрагментів (ампліконів інтронів) знаходилася в діапазоні від 400 п. н. до 1900 п. н., що є характерним для роду *Linum* [10, 11]. Назви ландрас, їх тип, наявність гетерогенності, кількість фенотипів та значення PIC в межах кожного сорту наведені у таблиці. Гомогенними за наявністю фрагментів виявилися молекулярні профілі лише 5 з 30 ландрас, а саме: *K-5992*, *K-6221*, *K-5455*, *K-5465*, *K-783*. На рисунку представлені результати електрофорезу продуктів ампліфікації з використанням TBP-методу більшої частини проаналізованих сортів. Найбільше значення PIC виявилось у зразках *K-5475*, *K-604*, *K-186* – 0,72. Найменше значення (0,0) було характерним для 5 зразків (*K-5992*, *K-6221*, *K-5455*, *K-5465*, *K-783*).

Загалом у ході дослідження внутрішньосортного поліморфізму у ландрас льону виявилось, що вони суттєво розрізняються за поліморфізмом довжин інтронів генів  $\beta$ -тубуліну. Так, загальна кількість фенотипів у ландрас складає 7, а значення PIC загалом становить 0,78, варіюючи в межах кожного сорту від 0,32 до 0,72. Отримані дані легко пояснити, адже ландраси – це стародавні сорти, які формувалися в різних екогеографічних умовах, і тому є більш гетерогенними. Крім того, це узгоджується з даними, отриманими під час вивчення стародавніх білоруських сортів за допомогою інших методів, а саме SSR-та RAPD-аналізу. Раніше проведено ряд робіт, присвячених вивченню білоруських ландрас льону, які характеризуються більш високою RAPD варіабельністю, ніж культурні сорти [19–21]. У ході проведення SSR-аналізу частота наявності унікальних та рідкісних алелів у вибірці з білоруських стародавніх сортів льону була достовірно вищою, ніж у вибірці з сортів льону, включених до Державного реєстру сортів і деревночагарникових порід Республіки Білорусь [8].

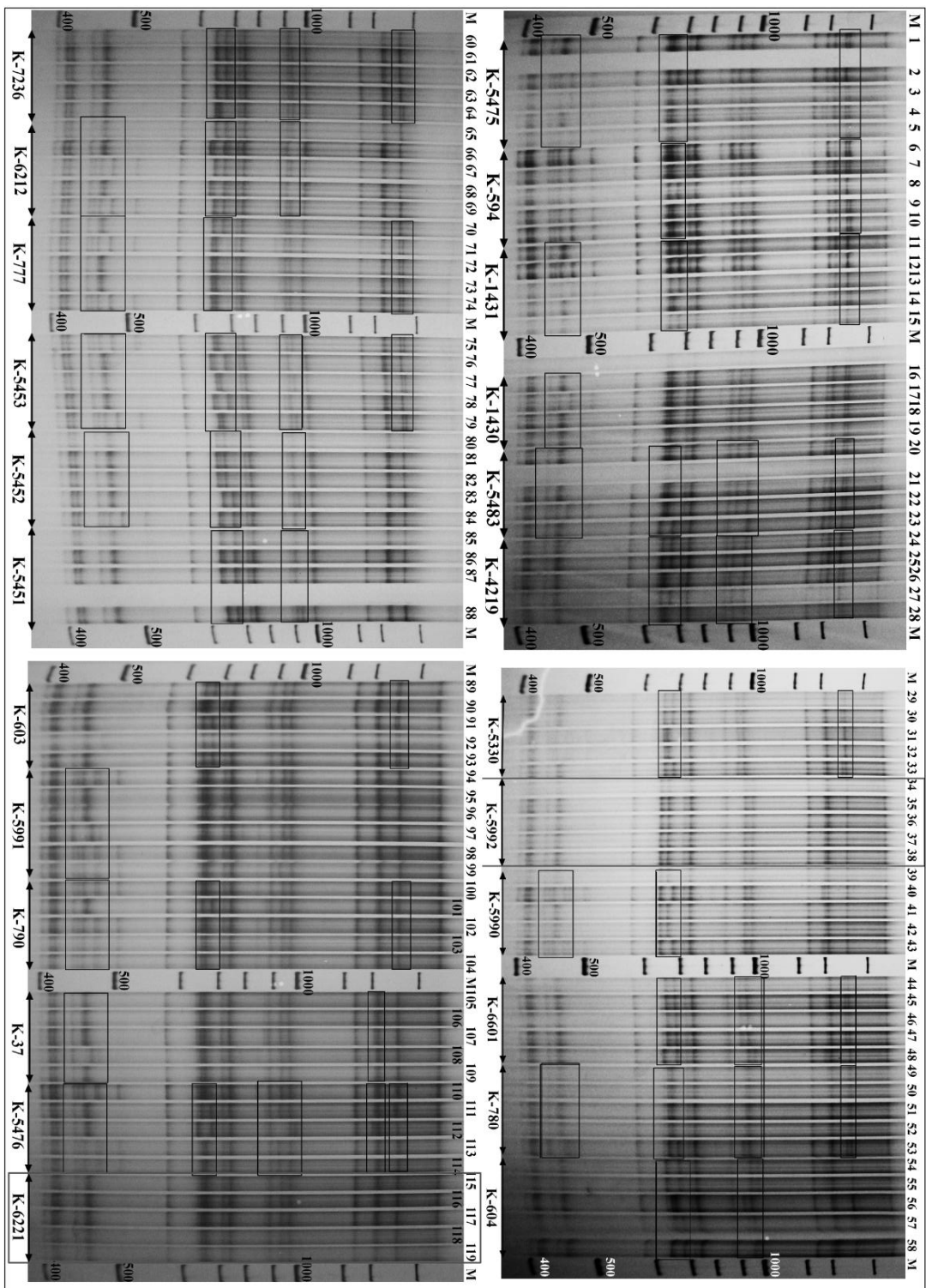


Рис. Молекулярні профілі ландрас львону, отримані за допомогою ТВР-методу: 1–119 – номер зразка; М – ДНК – маркер «100bp Ladder». Прямокутниками позначені зони поліморфізму, К-5992 та К-6221 відмічено як гомогенні сорти.

Таблиця. Результати аналізу генетичного поліморфізму ландрас льону

№	Назва сорту	Тип сорту	Наявність гетерогенності, +/-	Кількість фенотипів	Значення PIC в межах сорту
1	<i>K-5475</i>	довгунцевий	+	4	0,72
2	<i>K-594</i>	довгунцевий	+	2	0,32
3	<i>K-1431</i>	довгунцевий	+	3	0,56
4	<i>K-1430</i>	довгунцевий	+	2	0,32
5	<i>K-5483</i>	довгунцевий	+	3	0,56
6	<i>K-4219</i>	довгунцевий	+	2	0,48
7	<i>K-5330</i>	довгунцевий	+	2	0,48
8	<i>K-5992</i>	олійний	-	1	0,0
9	<i>K-5990</i>	довгунцево-олійний	+	2	0,48
10	<i>K-6601</i>	стародавній олійний	+	2	0,32
11	<i>K-780</i>	довгунцевий	+	2	0,32
12	<i>K-604</i>	олійний	+	4	0,72
13	<i>K-7236</i>	покращений довгунцевий	+	3	0,56
14	<i>K-6212</i>	довгунцевий	+	3	0,64
15	<i>K-777</i>	довгунцевий	+	3	0,64
16	<i>K-5453</i>	довгунцевий	+	3	0,64
17	<i>K-5452</i>	довгунцевий	+	3	0,56
18	<i>K-5451</i>	довгунцевий	+	3	0,56
19	<i>K-603</i>	олійний	+	2	0,32
20	<i>K-5991</i>	довгунцево-олійний	+	3	0,64
21	<i>K-790</i>	довгунцевий	+	2	0,32
22	<i>K-37</i>	стародавній довгунцевий	+	3	0,56
23	<i>K-5476</i>	довгунцевий	+	3	0,56
24	<i>K-6221</i>	довгунцевий	-	1	0,0
25	<i>K-5455</i>	довгунцевий	-	1	0,0
26	<i>K-1042</i>	довгунцевий	+	2	0,48
27	<i>K-186</i>	довгунцевий	+	4	0,72
28	<i>K-5465</i>	довгунцевий	-	1	0,0
29	<i>K-783</i>	довгунцевий	-	1	0,0
30	<i>K-1453</i>	довгунцевий	+	2	0,48
<b>Загалом (міжсортний поліморфізм)</b>				7	0,78

Також у першій половині ХХ ст. найбільш поширеним методом селекції був аналітичний, так званий масовий відбір, за якого насіння кращих рослин об'єднували і висівали разом [22], що також пояснює велику генетичну різноманітність стародавніх сортів льону.

Таким чином, ТВР-метод виявився корисним для оцінки генетичної гетерогенності ландрас льону, а отже, може бути застосований у молекулярно-філогенетичному аналізі цього виду та задіяний у селекційній роботі.

### Література

1. Tripp R. Biodiversity and modern crop varieties: sharpening the debate. *Agricult. Human Values*. 1996. Vol. 13 (4). P. 48–63.
2. Vellve R. The decline of diversity in European agriculture. *Ecologist*. 1993. Vol. 23 (2). P. 64–69.
3. Koeyer D.L., Phillips R.L., Stuthman D.D. Changes in genetic diversity during seven cycles of recurrent selection for grain yield in oat, *Avena sativa* L. *Plant Breed*. 1999. Vol. 118 (1). P. 37–43.

### Висновки

У результаті проведених досліджень із використанням ТВР-методу встановлено високий внутрішньосортний поліморфізм стародавніх сортів льону білоруської селекції, виявлено високу їх генетичну варіабельність. Отримані дані можуть бути використані разом з іншими результатами молекулярно-генетичного аналізу для дослідження філогенезу сортів та у селекційно-генетичних програмах із покращення генфонду льону.

4. Duvick D.N. Genetic diversity in major farm crops on the farm and in reserve. *Econom. Bot.* 1984. Vol. 38 (2). P.161–178.
5. Tanksley S.D., McCouch S.R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science.* 1997. Vol. 277 (5329). P. 1063–1066.
6. Casañas F., Simó J., Casals J., Prohens J. An evolved concept of landrace. *Front. Plant Sci.* 2017. Vol. 8. P. 145. doi: 10.3389/fpls.2017.00145.
7. Богданова М.В. Выявление потенциально адаптивных белорусских ландрас льна (*Linum usitatissimum* L.), несущих инсерцию LIS-1. *Экологическая стабилизация аграрного производства. Научные аспекты решения проблемы: сб. докл. Межд. научно-практ. конф-ции мол. ученых и специалистов (г. Саратов, 18–19 мар. 2015 г.).* Саратов: ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока», 2015. С. 13–18.
8. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Генетические основы селекции растений. Биотехнология в селекции растений. Генетика и генетическая инженерия (В. 4, Т. 4). Минск: Беларуская навука, 2014. 653 с.
9. Bardini M., Lee D., Donini P., Mariani A., Giani S., Toschi M., Lowe C., Breviario D. Tubulin-based polymorphism (TBP): a new tool, based on functionally relevant sequences, to assess genetic diversity in plant species. *Genome.* 2004. Vol. 47. P. 281–291.
10. Рабокoнь А.Н., Демкович А.Е., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. Полиморфизм длины интронов генов бета-тубулина как эффективный инструмент генотипирования растений. *Молекулярная и прикладная генетика.* 2015. Т. 19. С. 35–44.
11. Rabokon A.N., Pirko Ya.V., Demkovych A.Ye., Blume Ya.B. Comparative analysis of the efficiency of intron-length polymorphism of  $\beta$ -tubulin genes and microsatellite loci for flax varieties genotyping. *Cytol. Genet.* 2018. 52 (1). P. 1–10.
12. Рабокoнь А.М., Демкович А.Є., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. Дослідження поліморфізму довжини інтронів генів  $\beta$ -тубуліну у сортів *Triticum aestivum* L. та *Hordeum vulgare* L. *Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр.* К.: Логос. 2015. Т. 1. С. 82–86.
13. Rabokon A., Demkovych A., Sozinov A., Kozub N., Sozinov I., Pirko Ya., Blume Y. Intron length polymorphism of  $\beta$ -tubulin genes of *Aegilops biuncialis* Vis. *Cell Biol. Intl.* 2017. doi: 10.1002/cbin.10886.
14. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bulletin.* 1987. Vol. 19. P. 11–15.
15. Sambrook J., David W.R. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor. 2001. Vol. 2. 763 p.
16. Benbouza H., Jean-Marie J., Jean-Pierre B. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006. Vol. 10 (2). P. 77–81.
17. Anderson J.A., Churchill G.A., Autrique J.E., Tanksley S.D., Sorrells M.E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome.* 1993. Vol. 36. P. 181–186.
18. Кондратюк А.В., Кильчевский А.В., Кузьмина Е.И. Анализ полиморфизма микросателлитных локусов сортов картофеля белорусской и иностранной селекции. *Мол. прикл. генетика.* 2005. Т. 13. С. 24–29.
19. Fu Y.B. Assessment of bulking strategies for RAPD analysis of flax germplasm. *Genet. Resources Crop Evol.* 2003. Vol. 50. P. 743–746.
20. Лемеш В.А. Молекулярный анализ гетерогенности белорусских сортов и ландрас льна *Докл. НАН Беларуси.* 2007. Т. 51 (6). С. 78–81.
21. Fu Y.B. Genetic diversity within a range of cultivars and landraces of flax (*Linum usitatissimum* L.) as revealed by RAPDs. *Genet. Resources Crop Evol.* 2002. Vol. 49. P. 167–174.
22. Голуб И.В. Лен Беларуси. Минск, 2003. 245 с.

## References

1. Tripp R. Biodiversity and modern crop varieties: sharpening the debate. *Agricult. Human Values.* 1996. Vol. 13 (4). P. 48–63.
2. Vellve R. The decline of diversity in European agriculture. *Ecologist.* 1993. Vol. 23 (2). P. 64–69.
3. Koeyer D.L., Phillips R.L., Stuthman D.D. Changes in genetic diversity during seven cycles of recurrent selection for grain yield in oat, *Avena sativa* L. *Plant Breed.* 1999. Vol. 118 (1). P. 37–43.
4. Duvick D.N. Genetic diversity in major farm crops on the farm and in reserve. *Economic Botany.* 1984. Vol. 38 (2). P.161–178.
5. Tanksley S.D., McCouch S.R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science.* 1997. Vol. 277 (5329). P. 1063–1066.
6. Casañas F., Simó J., Casals J., Prohens J. An evolved concept of landrace. *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 145. doi: 10.3389/fpls.2017.00145
7. Bogdanova M.V. Identification of potentially adaptive Belarusian flax landraces (*Linum usitatissimum* L.) bearing the LIS-1 insertion. *Ekolohycheskaia stabylyzatsyia ahrarnoho proyzvodstva. Scientific aspects of solving the problem: collection of Reports of the Int. Sci. Pract. Conf. of Young Scientists and Specialists (Saratov, 18–19 Mar 2015).* Saratov, 2015. P. 13–18.
8. Kylchevskiy A.V., Khotyleva L.V. Genetic basis of plant breeding. Biotechnology in plant breeding. Genomics and genetic engineering (V. 4). Minsk: Belaruskaya navuka, 2014. 653 p.
9. Bardini M., Lee D., Donini P., Mariani A., Giani S., Toschi M., Lowe C., Breviario D. Tubulin-based polymorphism (TBP): a new tool, based on functionally relevant sequences, to assess genetic diversity in plant species. *Genome.* 2004. Vol. 47. P. 281–91. doi: 10.1139/g03-132.
10. Rabokon A.N., Pirko Ya., Demkovych A., Blume Ya. Intron length polymorphism of beta-tubulin genes as an effective instrument for plant genotyping. *Mol. Appl. Genetics* (Minsk). 2015. Vol. 19. P. 35–44 (in Russ.).
11. Rabokon A.N., Pirko Ya.V., Demkovych A.Ye., Blume Ya.B. Comparative analysis of the efficiency of intron-length polymorphism of  $\beta$ -tubulin genes and microsatellite loci for flax varieties genotyping. *Cytol. Genet.* 2018. 52 (1). P. 1–10.
12. Rabokon A.N., Demkovych A., Pirko Ya., Blume Ya. Studing of  $\beta$ -tubulin gene intron length polymorphizm of *Triticum aestivum* L. and *Hordeum vulgare* L. varieties. *Factors in experimental evolution of organisms.* 2015. Vol. 1. P. 82–86.

13. Rabokon A., Demkovych A., Sozinov A., Kozub N., Sozinov I., Pirko Ya., Blume Y. Intron length polymorphism of  $\beta$ -tubulin genes of *Aegilops biuncialis* Vis. *Cell Biol. Intl.* 2017. doi: 10.1002/cbin.10886.
14. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bulletin.* 1987. Vol. 19. P. 11–15.
15. Sambrook J., David W.R. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor. 2001. Vol. 2. 763 p.
16. Benbouza H., Jean-Marie J., Jean-Pierre B. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006. Vol. 10 (2). P. 77–81.
17. Anderson J.A., Churchill G.A., Autrique J.E., Tanksley S.D., Sorrells M.E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome.* 1993. Vol. 36. P. 181–186.
18. Kondratyuk A.V., Kilchevsky A.V., Kuzminova E.I. Microsatellite loci polymorphism analysis of Belarusian and foreign breeding potato varieties. *Mol. Appl. Genetics (Minsk).* 2005. Vol. 13. P. 24–29.
19. Fu Y.B. Assessment of bulking strategies for RAPD analysis of flax germplasm. *Genet. Res. Crop Evol.* 2003. Vol. 50. P. 743–746.
20. Lemesh V.A. Molecular analysis of Belarusian varieties and line flax heterogeneity. *Reports of Belarus NAS.* 2007. Vol. 51 (6). P. 78–81.
21. Fu Y.B. Genetic diversity within a range of cultivars and landraces of flax (*Linum usitatissimum* L.) as revealed by RAPDs. *Genet. Resources Crop Evol.* 2002. Vol. 49. P. 167–174.
22. Holub Y.V. Flax of Belarus. Minsk, 2003. 245 p.

**RABOKON A.M.<sup>1</sup>, PIRKO Ya.V.<sup>1</sup>, KALAFAT L.O.<sup>1</sup>, GUZENKO Ye.V.<sup>2</sup>, BOGDANOVA M.V.<sup>2</sup>, SAKOVITCH V.I.<sup>2</sup>, LEMESH V.A.<sup>2</sup>, BLUME Ya.B.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Food Biotechnology and Genomics, Nat. Acad. of Sci. of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Osipovskogo str., 2A, e-mail: rabokonnastya@gmail.com*

<sup>2</sup> *Institute of Genetics and Cytology, Nat. Acad. of Sci. of Belarus, Belarus, Minsk*

#### **INTRAVARIETAL INTRON-LENGTH POLYMORPHISM OF $\beta$ -TUBULIN GENES IN BELORUSSIAN LANDRACES OF *LINUM USITATISSIMUM* L.**

**Aim.** The aim of the work was to evaluate the possibilities of using the  $\beta$ -tubulin intron length (TBP, **T**ubulin **B**ased **P**olymorphism) for genetic differentiation of ancient flax varieties (landraces), plants that was historically formed in Belarus. **Methods.** The  $\beta$ -tubulin first intron length polymorphism evaluating method (TBP) was used. Amplified fragments ( $\beta$ -tubulin introns) were fractionated by electrophoresis in non-denaturing polyacrylamide gel. DNA bands were detected using silver nitrate staining. **Results.** The size of the amplified fragments varied from 400 bp to 1900 bp. It was found that 25 of 30 studied varieties (landraces) were genetically heterogeneous. The total number of allele phenotypes was 7, and the value of PIC (**P**olymorphism **I**nformation **C**ontent) varied from 0.0 to 0.72. **Conclusions.** The data obtained make it possible to recommend landraces as a source of genes for increasing the genetic diversity of the existing flax gene pool, and the TBP method can be applied both in molecular-phylogenetic analysis and in molecular selection of flax.

**Keywords:** *Linum usitatissimum*, landrace, molecular markers, DNA fingerprinting,  $\beta$ -tubulin genes, intron polymorphism.