

11. McNeil M.D., Kota R., Paux E., Dunn D., McLean R., Feuillet C., Li D., Kong X., Lagudah E., Zhang J.C., Jia J.Z., Spielmeyer W., Bellgard M., Apples R. BAC-derived markers for assaying the stem rust resistance gene, *Sr2*, in wheat breeding programs // *Mol. Breeding*, 2008. – V. 22. – P. 15–24.
12. Карелов А.В., Пірко Я.В., Блюм Я.Б., Козуб Н.О., Созінов І.О., Созінов О.О., Литвиненко М.А. Поліморфізм молекулярно-генетичного маркеру *csSr2* серед сортів м'якої пшениці селекції СГІ // Міжн. наук. конф. «Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи» (до 100-річчя Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення), Одеса. – 2012. – С. 154–155.
13. Карелов А.В., Пірко Я.В., Козуб Н.А., Созинов И.А., Пірко. Н.Н, Блюм Я.Б., Литвиненко Н.А., Лыфенко С.Ф., Колочий В.Т., Созинов А.А. Идентификация аллельного состояния гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* у сортов озимой мягкой пшеницы украинской селекции // *Цитология и генетика*. – 2011. – Т. 45, №5. – С. 3–10.

ZAİKA I.V.¹, SOZINOV A.A.^{2,3}, KARELOV A.V.², KOZUB N.A.², FILENKO A.L.⁴, SOZINOV I.A.²

¹ *National Science Center «Institute of Agriculture NAAS»*

Ukraine, 08162, Kiev region, Kievo-Sviatoshinskij district, Tchabany, Mashinobudivnikiv str., 2b, e-mail: zaika-@mail.ru

² *Institute of plant protection NAAS*

Ukraine, 03022, Kiev, Vaselkivska str., 33, e-mail: sia1@i.com.ua

³ *Institute of food biotechnology and genomics*

Ukraine, 04123, Kiev, Osipovskogo, 2a

⁴ *Laboratory of guiding biotechnology «Neogene»*

Ukraine, 04112, Kiev, Oleni Teligi, 4, e-mail: info@neogene.com.ua

POLYMORPHISM OF THE MODERATE NON-RACE-SPECIFIC DISEASE RESISTANCE GENE *Sr2/Lr27* AND *Lr34/Yr18/Pm38* IN BREAD WHEAT CULTIVARS OF NSC «INSTITUTE OF AGRICULTURE NAAS» BREEDING

Aims. The object of our investigation is allelic state identification of *Sr2/Lr27* and *Lr34/Yr18/Pm38* gene in bread wheat cultivars of Polissia. **Methods.** Allelic state of the *Lr34* gene was identified with the molecular-genetic marker *caISBP1* use and marker for *Sr2/Lr27* locus was *csSr2*. **Results.** In five cultivars (13,5 % of the total number) was detected the «Marquiz-allele» and rest had the «null allele» of *Sr2* locus. The «resistant» allelic state of *Lr34* gene (*Lr34+*) was identified in 11 cultivars (39 %). The «susceptible» allelic state of *Lr34* was identified in 9 wheat cultivars (32 %) and 8 (29 %) cultivars showed polymorphism at the *Lr34* locus. **Conclusions.** It is necessary to involve in wheat breeding process the *Lr34* and *Sr2* gene, because it is valuable source of disease resistance.

Key words: stem rust, Ug99, bread wheat, resistance, *Sr2*, *Lr34*.

ЗЕМЦОВА Л.В.¹, АМОСОВА А.В.¹, САМАТАДЗЕ Т.Е.¹, ГРУШЕЦКАЯ З.Е.², ВОЛОВИК В.Т.³, ЗЕЛЕНИН А.В.¹, ЛЕМЕШ В.А.², МУРАВЕНКО О.В.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН*

Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, 3,; e-mail: olgmur1@yandex.ru

² *Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии НАН Беларуси*

Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: v.lemesh@igc.bas-net.by

³ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт кормов им. В.П. Вильямса РАСХН*

Россия, 141005, Московская область, г. Лобня, Научный городок, e-mail: vik_volovik@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ МАРКЕРОВ СОРТОВ РАПСА РОССИЙСКОЙ И БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Рапс масличный (*Brassica napus oleifera* D.C.) является представителем семейства капустных (*Brassicaceae*). Различают его яровую

(*B.napus oleifera annua* Metzg.) и озимую (*B.napus oleifera biennis* Metzg.) формы. Рапс ($2n=38$, ААСС) является природным аллополип-

лоидом. Этот вид появился, в результате естественного скрещивания капусты обыкновенной (*Brassica oleracea* L., $2n=18$, С-геном) и сурепицы (*Brassica rapa* L., $2n=20$, А-геном) с последующим удвоением числа хромосом [10].

Рапс является хозяйственно ценной культурой: источником пищевого масла, полноценного корма для скота, сырья для биотоплива [1]. Для успешного выведения новых высокопродуктивных сортов рапса необходимо выявление надежных генетических (молекулярных и хромосомных) маркеров у разных сортов. Для этого требуется, в первую очередь, достаточно простая идентификация всех хромосом, поскольку эта проблема до сих пор полностью не решена.

Материалы и методы

Семена 13 сортов рапса, выведенные в России и Беларуси, получены из ФГБУН Всероссийского научно-исследовательского института кормов им. В.Р. Вильямса РАСХН (г. Москва) и РУП «НПЦ по земледелию НАН Беларуси» (г. Жодино, Беларусь) (табл.).

Хромосомные препараты готовили по методике, разработанной ранее для мелкохромосомных растений. С- и DAPI -

Результаты и обсуждение

Кариотип рапса состоит из 38 хромосом, которые характеризуются небольшими размерами, бедным рисунком С-бэндинга [8] и незначительными отличиями по морфологическим критериям (длина, центромерный индекс и т.д.). В связи с этим, результаты морфологического анализа хромосом рапса у различных авторов неоднозначны. В данной работе использована классификация, предложенная ранее в работе Olin-Fatih и Neneen (1992), которая, в основном, базируется на результатах С-дифференциального окрашивания хромосом рапса.

Хромосомы кариотипов всех изученных сортов рапса были разделены по морфологическим показателям на 3 группы: первая группа – метацентрические хромосомы (7 пар), вторая – субметацентрические хромосомы (6 пар), третья группа – акроцентрические хромосомы (6 пар). У всех сортов рапса наблюдался сходный характер распределения С-блоков на хромосомах. Крупные С-бэнды, в основном, располагались в прицентромерных районах, а небольшие и средние – в теломерных и интеркалярных районах хромосом. Такая картина распределения С-блоков на хромосомах характерна для многих мелкохромосомных видов растений [7]. Были выявлены дополнительные интеркалярные С-

Хромосомы рапса сравнительно мелкие (1,53–3,3 мкм) [4] с малоинформативным рисунком С-бэндинга [8]. FISH-анализ выявил на них значительное количество полиморфных сайтов рибосомных генов [6, 9, 5]. Вместе с тем, в литературе нет данных о попытках использования рисунков С-бэндинга и распределения сайтов рибосомных генов на хромосомах для идентификации хромосом и изучения внутривидового полиморфизма рапса.

В настоящей статье проведено исследование геномов сортов ярового и озимого рапса российской и белорусской селекции с помощью С- и DAPI-бэндинга и локализации сайтов 26S и 5S рДНК.

дифференциальное окрашивание хромосом, а также FISH с зондами 26S и 5S рДНК проводили в соответствии с подходом, разработанным ранее [3, 7].

Анализ метафазных пластинок проводили при помощи флуоресцентного микроскопа Olympus BX61с черно-белой ПЗС камерой CoolSnap («Roper ScientificInc», США).

бэнды, облегчающие идентификацию хромосом, благодаря использованию в нашей работе интеркалятора ДНК-9 аминокридина (9-АМА), который позволяет получать метафазные пластинки с удлинёнными хромосомами (1.5–3.7 мкм).

Сравнительный анализ хромосом изучаемых нами сортов рапса показал, что они полиморфны по рисунку С-бэндинга. В частности, была обнаружена значительная вариабельность по длине вторичной перетяжки спутничной хромосомы 14 у всех сортов рапса, что, вероятно, связано с различным функциональным состоянием ядрышкообразующих районов хромосом.

Ранее выявлено, что количество гетерохроматина в кариотипе зависит от условий произрастания вида [2]. В результате проведенного нами визуального анализа показано, что хромосомы и ядра озимых сортов рапса содержат больше гетерохроматина, чем сорта ярового типа развития. Озимые сорта характеризуются наличием более крупных прицентромерных и теломерных С-бэндов. Известно, что озимый рапс отличается от ярового более высокими показателями морозостойкости (минус 8–10 °С), урожайности и масличности, в то время как яровой

рапс менее требователен к условиям произрастания. Наблюдаемые различия в рисунках С-окраски хромосом между яровыми и озимыми сортами рапса, могут быть связаны с особенностями адаптивных свойств этих сортов.

С помощью метода двуцветной FISH с зондами 26S и 5S рДНК проведена локализация

на хромосомах сайтов рибосомных генов у всех изученных сортов рапса. Идентификацию хромосом после процедуры FISH проводили по рисунку DAPI-окрашивания, который был подобен С-бэндингу. В таблице представлено общее количество хромосом, несущих сайты 26S и/или 5S рДНК, в кариотипах изученных сортов рапса.

Таблица. Результаты FISH с пробами 26S и 5S рДНК для изученных сортов рапса

№	Название сорта	Тип развития	Происхождение	Количество хромосом в кариотипе с сайтами гибридизации	
				5S рДНК	26S рДНК
1	Грант	яровой	Россия	16	12
2	Луговской	яровой	Россия	16	12
3	Новик	яровой	Россия	12–14	10–14
4	Подмосковный	яровой	Россия	16	14
5	Гедемин	яровой	Беларусь	14	14
6	Гермес	яровой	Беларусь	16	14
7	Прамень	яровой	Беларусь	14	12
8	ВИК-2	озимый	Россия	16	14
9	Гарант	озимый	Россия	14	12
10	Северянин	озимый	Россия	14–16	12–14
11	Добродей	озимый	Беларусь	14	12
12	Мартын	озимый	Беларусь	14	12
13	Маяк	озимый	Беларусь	14	12

Как видно из таблицы, у яровых российских сортов наблюдали от 10 до 14 сайтов 26S рДНК и от 12 до 16 сайтов 5S рДНК, тогда как у яровых белорусских сортов наблюдалось 12–14 сайтов 26S рДНК и 14–16 сайтов 5S рДНК. У озимых российских сортов локализовано 12–14 сайтов 26S рДНК и 14–16 сайтов 5S рДНК, у белорусских озимых сортов выявлено от 12–14 сайтов 26S рДНК, и 14 сайтов 5S рДНК.

Сайты 26S и 5S рДНК были локализованы в проксимальных и медианных районах длинных плеч, а также в субтеломерных районах коротких плеч хромосом 4, 5, 6, 8, 10, 14, 15, 16 и

18. Наблюдались как отдельная локализация этих зондов, так и их колокализация. В кариотипах всех изученных сортов отдельные сигналы 5S рДНК расположены в проксимальном и медианном районах длинного плеча хромосомы 8 и в субтеломерном районе короткого плеча хромосомы 18. Колокализованные сайты 26S и 5S рДНК наблюдали в области вторичных перетяжек спутничных хромосом 14 и 15, а также в проксимальных районах длинных плеч хромосом 4, 5, 6, 10. В субтеломерном районе короткого плеча хромосомы 16 у большинства сортов выявляется отдельный сигнал 26S рДНК.

Эти результаты согласуются с данными других авторов. Количество пар хромосом, несущих сайты 26S, колокализованные с сайтами 5S рДНК, в работах разных авторов менялось от 3 [6, 9, 5, 11] до 4 [5]. Мы наблюдали на хромосомах разных сортов 4-6 сайтов 26S, колокализованных с сайтами 5S рДНК. Причем, в наших экспериментах на спутничных хромосомах обнаружено только колокализованные сайты 26S и 5S рДНК.

В нашем исследовании выявлено от 6 до 8 пар локусов 5S рДНК на кариотип. В цитированных выше работах описывается меньшее число этих локусов (от 5 до 7 пар на кариотип), что может быть связано с особенностями кариотипов разных сортов рапса или с условиями их произрастания. Однако, не исключено, что благодаря использованию в нашей работе интеркалятора ДНК 9 – АМА, позволяющего получать метафазные пластинки с более длинными хромосомами, чувствительность нашего метода выявления сигналов гибридизации выше, чем у других авторов.

Сравнительное изучение результатов FISH с зондами рибосомных генов показало, что по распределению на хромосомах и размерам (интенсивности) сигналов гибридизации 5S и 26S рДНК у сортов рапса также наблюдался межсортовой полиморфизм. Так, на хромосоме 16 сигнал гибридизации сайтов 26S рДНК имеет крупные размеры у всех озимых сортов, небольшие размеры у яровых сортов Гермес, Новик, Подмосковный и Гедемин. У яровых сортов Грант, Луговской и Прамень данный сигнал полностью отсутствует. У всех яровых сортов в проксимальной области длинного плеча хромосомы 10 выявляются колокализованные сигналы 5S и 26S рДНК. У большинства изученных озимых сортов (кроме сорта Северянин) на этой хромосоме сигналы полностью отсутствуют. У

нескольких яровых сортов (Новик, Гедемин, Прамень) мы наблюдали отдельный крупный сигнал 26S рДНК в проксимальной области длинного плеча хромосомы 4, в то время как у остальных яровых и у всех озимых сортов на данной хромосоме колокализируются сигналы 5S и 26S рДНК. Отметим, что по числу сайтов локализации 26S и 5S рДНК белорусские сорта отличались меньшей вариабельностью по сравнению с российскими сортами (табл.), что указывает на их относительно более высокую генетическую однородность.

У сортов российской селекции Новик и Северянин был выявлен внутрисортовой полиморфизм по числу сайтов рибосомных генов. На хромосоме 10 у них наблюдались полиморфные колокализованные сигналы 26S и 5S рДНК, которые у некоторых растений отсутствовали. У сорта Новик обнаружен также полиморфный сигнал 26S рДНК на хромосоме 16.

Таким образом, в результате проведенного сравнительного молекулярно-цитогенетического исследования выявлен полиморфизм по рисунку С-бэндинга, по числу и распределению сайтов рибосомных генов на хромосомах 13 сортов рапса, имеющих разные селекционные истории, с учетом ярового или озимого типа развития. Выявленный полиморфизм важен для характеристики сорта и может использоваться для идентификации отдельных хромосом. Составлена обобщенная видовая идиограмма генома рапса с учетом всех вариантов рисунка С-окрашивания и расположения сайтов 26S и 5S рДНК. На основе предложенного цитогенетического анализа в дальнейшем возможен отбор перспективных для селекции сортов рапса и/или предоставления рекомендаций по выбору сортов для выращивания в различных эколого-географических зонах.

Работа поддержана грантами РФФИ № 11-08-00716, 12-04-90046 Программой фундаментальных исследований РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека» Президиума РАН.

Литература

1. Воловик В.Т. Качество семян рапса перспективных сортов селекции ГНУ ВИК Россельхозакадемии // Материалы Всероссийской научно-практической конференции по кормопроизводству. – Казань. – 2011. – С. 71–75.
2. Саматадзе Т.Е., Зеленин А.В., Суслина С.Н. и др. Сравнительная цитогенетическая характеристика форм *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. Из различных мест произрастания // Генетика. – 2012. – Т. 48. – № 1. – С. 72–79.
3. Семенова О.Ю., Саматадзе Т.Е., Зеленин А.В., Муравенко О.В. Сравнительное изучение геномов видов льна секции *Adenolinum* и *Stellerolinum* с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) // Биол. Мембраны. – 2006. – Т. 23, №6. – С. 453–460.
4. Hasterok R., Maluszynska J. Cytogenetic markers of *Brassica napus* chromosomes // Journal of Applied Genetics.

- 2000. – Vol. 41. – P. 1–9.
5. Hasterok R., Wolny E., Hosiawa M. et al., Comparative analysis of rDNA distribution in chromosomes of various species of *Brassicaceae* // *Ann. Bot.* – 2006. – V. 97. – P. 205–216.
 6. Kamisugi Y., Nakayama S., O'Neil C.M. et al. Visualization of the *Brassica* self-incompatibility S-locus on identified oilseed rape chromosomes // *Plant Molecular Biology.* – 1998. – Vol. 38. – P. 1081–1087.
 7. Muravenko O.V., Yurkevich O.YU., Bolsheva N.L. et al, Comparison of genomes of eight species of sections *Linum* and *Adenolinum* from the genus *Linum* based on chromosome banding, molecular markers and RAPD analysis // *Genetika.* – 2009. – V. 135, №2. – P. 245–255.
 8. Olin-Fatih M. and Heneen W.K. C-banded karyotypes of *Brassica campestris*, *B. oleracea* and *B. napus* // *Genome.* – 1992. – Vol. 35. – P. 583–589.
 9. Snowdon R. J., Friedrich T., Friedt W., Kohler W. Identifying the chromosomes of the A- and C-genome diploid *Brassica* species *B. rapa* (syn. *campestris*) and *B. oleracea* in their amphidiploid *B. napus* // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – Vol. 104. – P. 533–538.
 10. U N. Genome-analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization // *Japanese Journal of Botany.* – 1935. – Vol. 7. – P. 389–453.
 11. Xiong Z. and Pires J.C. Karyotype and identification of all homoeologous chromosomes of allopolyploid *Brassica napus* and its diploid progenitors // *Genetics.* – 2011. – Vol. 187. – P. 37–49.

ZEMTSOVA L.V.¹, AMOSOVA A.V.¹, SAMATADZE T.E.¹, GRUSHETSKAYA Z.E.²,
VOLOVIK V.T.³, ZELENIN A.V.¹, LEMESH B.A.², MURAVENKO O.V.¹

¹ Engelgardt Institute of Molecular Biology of RAS

Russia, 119991, Moscow, Vavilov str., 32, e-mail: olgmur1@yandex.ru

² The Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus

Belarus, 220072, Minsk, Academichnaya str., 27, e-mail: v.lemesh@igc.bas-net.by

³ All-Russian Williams Fodder Research Institute of RAAS

Russia, 141005, Lobnya, Moscow region, e-mail: vik_volovik@mail.ru

CHROMOSOME MARKERS STUDY OF RAPE VARIETIES OF RUSSIAN AND BELORUSSIAN SELECTION

Aims. Dependable marking of rape chromosomes is necessary for breeding of agriculturally important varieties. Using chromosome markers the karyotypes of 13 spring and winter rape varieties of Russian and Belorussian selection were studied. **Methods.** C-, DAPI-banding and FISH with 26S and 5S rDNA were used. **Results.** More informative C/DAPI-banding was obtained by using DNA intercalator 9-aminoacridine, and rape chromosome identification was made. 26S and 5S rDNA loci were localized on chromosomes 4, 5, 6, 8, 10, 14, 15, 16 and 18. Intra- and intervarietal polymorphism of these chromosome markers was found. **Conclusions.** The generalized species karyogram that included all the alternates of C/DAPI-patterns as well as 26S and 5S rDNA localization was constructed.

Key words: rape varieties, chromosome markers, polymorphism.

ИШМУРАТОВА Н.М., ЯКОВЛЕВА М.П., ТАМБОВЦЕВ К.А., ИШМУРАТОВ Г.Ю.

Институт органической химии Уфимского научного центра Российской академии наук

Россия, 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71, e-mail: insect@anrb.ru

ПРОТИВОРОЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОС-3 НА ТРУТНЕВОМ РАСПЛОДЕ

Ранее нами был разработан эффективный способ противороевой обработки пчелиных семей в начальной фазе роевого состояния (в развивающейся и развитой стадии) внесением в роевые мисочки разработанного и сертифицированного нами феромонного препарата ТОС-3 на основе синтетически полученной 9-оксо-2Е-деценовой кислоты (9-ОДК) – главного компо-

нента маточного вещества медоносных пчел [1, 2]. При этом отмечался возврат пчелиных семей в рабочее состояние, сопровождаемый тихой сменой матки. Кроме того, было показано, что роевые мисочки, являясь биологически активными точками, не равнозначны: наиболее важными из них являются мисочки с яйцами и личинками, чаще всего посещаемые пчелами.