

phenotype classes under segregation could not be determined correctly, which would affect the conclusion about gene number.

**БОЛЬШЕВА Н.Л., НОСОВА И.В., САМАТАДЗЕ Т.Е., ЮРКЕВИЧ О.Ю.,
ЗЕЛЕНИН А.В., МУРАВЕНКО О.В.**

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: chrom@eimb.ru*

В-ХРОМОСОМЫ В КАРИОТИПАХ ВИДОВ СЕКЦИИ SYLLINUM РОДА LINUM

В-хромосомы, или сверхчисленные хромосомы представляют собой дополнение к основному хромосомному набору. Они характеризуются мозаичностью распределения внутри популяции, часто полностью гетерохроматинизированы, насыщены различными повторяющимися последовательностями, и, как правило, генетически инертны. В-хромосомы широко распространены в природе, и активно исследуются уже на протяжении 100 лет. Несмотря на это, происхождение и роль этих необычных элементов генома до сих пор остаются невыясненными [1-4].

При исследовании кариотипов дикорастущих льнов *L. flavum*, *L. capitatum*, *L. campanulatum*, *L. thracicum*, *L. tauricum*, *L. elegans* и *L. czernjajevii*, входящих в секцию *Syllinum* рода *Linum* (Льновые), мы обнаружили В-хромосомы. Поскольку В-хромосомы у видов рода *Linum* были выявлены впервые, мы приводим результаты их исследования с помощью различных молекулярно-цитогенетических маркеров.

Материалы и методы

Образцы семян льна были предоставлены для исследования Генным банком Института генетики растений и исследования возделываемых растений г.Гетерслебена, Германия: *L. flavum* L. образец Lin 99/89, Lin 1633/83, *L. capitatum* Kit. Ex Schultes образец Lin 1903/98, Lin 1549/78, Lin 1549/96; *L. campanulatum* L. образец Lin; *L. thracicum* Degen образец Lin 1553/82, Lin 1764/89, *L. tauricum* Willd образец Lin 1611/86, Lin 1604/80 и *L. elegans* Sprun. ex Boiss. образец Lin 1652/88. Образец *L. czernjajevii* был любезно предоставлен О. М. Оптасюк (Институт Ботаники, НАН Украины).

Методы приготовления хромосомных препаратов, дифференциального окрашивания хромосом, Ag-ЯОР окрашивания и FISH описаны ранее [5]. СМА-окрашивание проводилось по методу Швейцера [6]. Для каждого видового образца было проанализировано по 10-20 метафазных пластинок из разных растений. Изображения были получены на флуоресцентном микроскопе Olympus BX-61, оснащённом CCD-камерой Cool Snap (Roper Scientific Inc., США).

Результаты и обсуждение

При анализе хромосом дикорастущих льнов секции *Syllinum* - *L. flavum*, *L. capitatum*, *L. campanulatum*, *L. thracicum*, *L. tauricum*, *L. elegans* и *L. czernjajevii* было обнаружено, что числа хромосом в метафазных пластинках этих видов варьируют от 28 до 34. Вариабельность хромосомных чисел наблюдается как между отдельными растениями, так и в клетках индивидуальных растений.

FISH с последовательностями генов рибосомных РНК показал, что у всех 7 видов сайты генов 45S и 5S рРНК ко-локализованы в районе спутничной перетяжки одной пары хромосом. Кроме того, еще два сайта 5S рДНК локализованы в одной паре хромосом *L. czernjajevii*, а у 6 остальных видов эти два сайта локализуются в двух разных парах хромосом. В кариотипах всех 7 видов, множественные, мелкие, совместно локализованные сайты 45S и 5S рДНК выявлены также на самых маленьких (~1,5 мкм) хромосомах (рис 1).

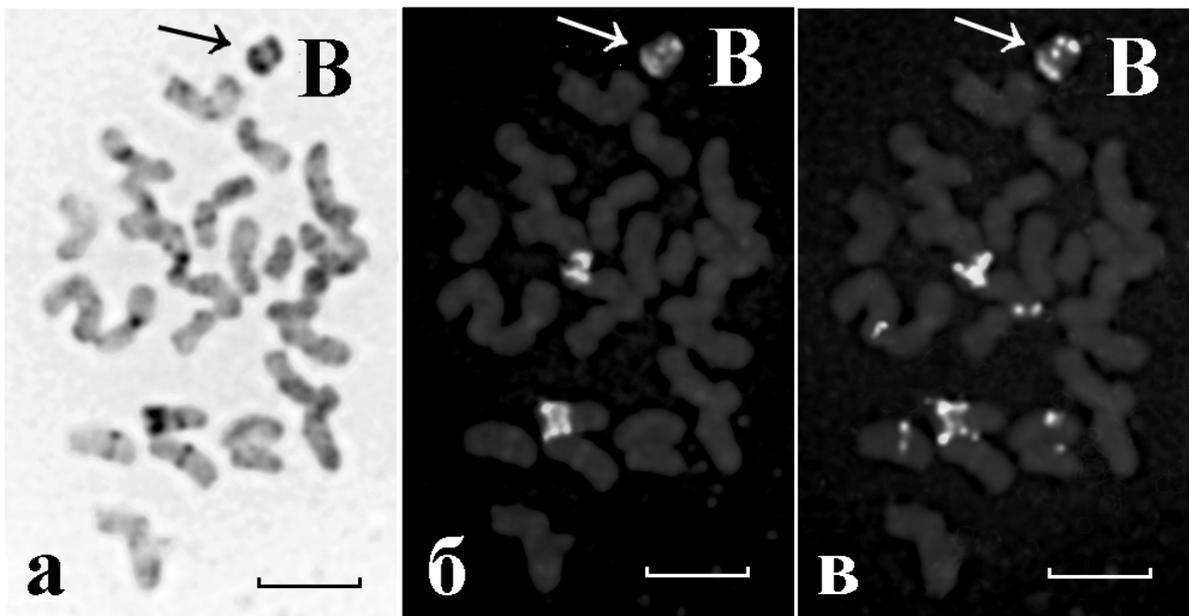


Рис. 1. FISH на хромосомах *L. elegans*. **а** – DAPI-окрашивание (негативное изображение); **б** – локализация генов 45S рРНК; **в** - локализация генов 5S рРНК. Стрелкой указана В-хромосома (**В**). Масштаб - 5 мкм.

Обнаружено, что число таких маленьких хромосом, содержащих гены рибосомных РНК, непостоянно. Внутри каждого видового образца были выявлены как растения, несущие от 1 до 6 таких хромосом, так и растения без них. В то же время число остальных хромосом набора остается постоянным и равно 28. Таким образом, было обнаружено, что хромосомные наборы 7 исследованных видов секции *Syllinum* состоят из постоянного набора хромосом (А-хромосом) и дополнительного набора (В-хромосом). Поскольку В-хромосомы у льновых были выявлены впервые, мы исследовали их структуру с помощью различных молекулярно-цитогенетических методов.

При С- дифференциальном окрашивании и окрашивании хромомицином-А₃ (СМА) В-хромосомы льнов окрашиваются интенсивнее, чем хромосомы А-набора. Выявлено, что эти В-хромосомы остаются в конденсированном состоянии на протяжении всех стадий клеточного цикла, образуя в интерфазных и профазных ядрах крупные хромоцентры, которые, как правило, располагаются на периферии ядра в значительном удалении от ядрышка. В метафазе В-хромосомы часто ассоциируют друг с другом, образуя структуры, напоминающие по форме грозди. В кариотипах исследованных видов в большинстве случаев В-хромосомы имеют сходную морфологию. Основной морфологический тип В-хромосом представляет собой субмеацентрик размером около 1.5 мкм, у которого при С-окрашивании наиболее интенсивно окрашиваются прицентромерный район и дистальный участок длинного плеча. При окрашивании СМА выявляется один интенсивно окрашивающийся сайт в середине короткого плеча и - два сайта в проксимальном и дистальном районах длинного плеча. В кариотипах *L. flavum*, *L. campanulatum*, *L. elegans*, *L. thracicum*, *L. capitatum* и *L. czernjajevii* В-хромосомы имели описанную морфологию (В-хромосомы основного морфологического типа) в 90-95% случаев. Однако в кариотипах *L. tauricum* В-хромосомы основного типа были обнаружены только в 67% случаев. Помимо В-хромосом основного типа были выявлены и другие морфологические типы В-хромосом – метацентрики, маленькие акроцентрики и точечные хромосомы.

FISH с пробой теломерного повтора *Arabidopsis* не выявил различий между А- и В-хромосомами. Сайты теломерных повторов локализируются на концах как А-, так и В-хромосом.

Поскольку FISH с пробами генов рибосомных РНК, показал, что в состав В-хромосом льнов входит 45S рДНК, мы провели окрашивание нитратом серебра для выявления транскрипционно активных генов 45S рибосомных РНК. Выявлено, что в клетках корневой меристемы всех исследованных видов нитратом серебра окрашивается лишь спутничная перетяжка одной из хромосом А-набора. В-хромосомы нитратом серебра не окрашиваются, что указывает на то, что 45S рДНК в них функционально неактивна.

Обнаруженные нами у представителей секции *Syllinum* сверхчисленные хромосомы, имеют довольно типичную для В-хромосом морфологию [1-4]. Они являются самыми маленькими хромосомами кариотипов, практически полностью состоят из гетерохроматина, и остаются конденсированными на протяжении всего клеточного цикла.

Внутри- и межиндивидуальные различия по количеству В-хромосом и структурный полиморфизм В-хромосом, выявленный у видов секции *Syllinum*, также не являются уникальными явлениями. Предполагают, что полиморфные варианты В-хромосом возникают вследствие хромосомных aberrаций, а варьирование количества В-хромосом в клетках индивида является результатом нерегулярных расхождений В-хромосом в митозе [1]. Морфологическое сходство В-хромосом у изученных видов льна, входящих в одну секцию, вероятно, является следствием их близкого родства.

Интенсивное окрашивание В-хромосом ГЦ-специфичным флуоресцентным красителем СМА обуславливается, вероятно, наличием в них большого количества генов рРНК. Наличие рибосомных генов в составе В-хромосом довольно распространенное явление. Известно, что у некоторых растений гены рибосомных РНК в В-хромосомах транскрибируются, однако, у большинства видов они функционально неактивны [1,4], как и у исследованных нами видов секции *Syllinum*. Что не вполне обычно для В-хромосом, так это ко-локализация генов 45S и 5S рРНК. Вероятно, совместная локализация генов 5S и 45S рРНК является характерной особенностью видов рода *Linum*. Ранее с помощью FISH метода нами была выявлена ко-локализация генов 5S и 45S рРНК у видов из секций *Dasilinum*, *Adenolinum*, *Stellerolinum* и *Linum*, в том числе и у культурного вида *L. usitatissimum* [5, 7, 8]. Эти результаты хорошо согласуются с данными других авторов, которые с помощью молекулярных методов показали, что у *L. usitatissimum* гены 45S рРНК расположены в единственном хромосомном локусе, где они организованы во множественные короткие блоки тандемов, перемежающиеся с другими последовательностями ДНК [9].

Выводы

1. Обнаруженные нами в кариотипах видов секции *Syllinum* В-хромосомы обладают типичными для В-хромосом свойствами. Они являются самыми маленькими хромосомами кариотипов, гетеропикнотичны, содержат гены 5S и 45S рРНК.
2. Основной хромосомный набор исследованных видов содержит 28 хромосом.

Работа поддержана грантами РФФИ 05-08-33607, 06-04-81007, 07-04-00268, 08-08-00391.

Литература

1. Jones R.N. Tansley Review No. 85. В chromosomes in plants // New Phytol. – 1995. – vol. 131, - P.411-434.
2. Camacho J.P., Sharbel T.F., Beukeboom L.W. Philos В-chromosome Evolution // Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. – 2000. – vol. 355, - P.163-178.
3. Jones N., Houben A. В chromosomes in plants: Escapees from the A chromosome genome? // Trends. Plant Sci. – 2003. – vol.8, - P.417-423.

4. Jones R. N., Viega W., Houben A. A Century of B Chromosomes in Plants: So What? //Annals of Botany – 2007. – P.1–9.
5. Muravenko O. V., Yurkevich O. Yu., Bolsheva N. L., Samatadze T. E., Nosova I. V., Zelenina D. A., Volkov A. A., Popov K. V., Zelenin A. V. Comparison of genomes of eight species of sections *Linum* and *Adenolinum* from the genus *Linum* based on chromosome banding, molecular markers and RAPD analysis // Genetica – 2009. – vol.135, P.245–255.
6. Schweizer D. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI //Chromosoma – 1976. – vol. 58, P.307-324.
7. Nosova I.V., Semenova O.Yu., Samatadze T.E., Amosova A.V., Bolsheva N.L., Zelenin A.V., Muravenko O.V. Investigation of karyotype structure and mapping of ribosomal genes on chromosomes of wild *Linum* species by FISH // Biological Membranes – 2005. – vol.22, - P.244-248.
8. Semenova O.Yu., Samatadze T.E., Zelenin A.V., and Muravenko, O.V. The Comparative Study of the Species of *Adenolinum* and *Stellerolinum* sections by Means of FISH Technique // Biological Membranes – 2006. - vol. 23, № 6, - P.453–460.
9. Agarwal M.L., Aldrich J., Agarwal A., Cullis C.A. The flax ribosomal RNA-encoding genes are arranged in tandem at a single locus interspersed by “non-rDNA” sequences // Gene, - 1992. - vol. 120, № 2, - P.151–156.

Резюме

В кариотипах *Linum flavum*, *L. capitatum*, *L. elegans*, *L.campanulatum*, *L. thracicum*, *L. tauricum* и *L. czernjajevii* выявлены маленькие, гетеропикнотичные В-хромосомы. Они содержат сайты 5S и 45S рДНК, интенсивно окрашиваются при С- и СМА-окрашивании, но не окрашиваются нитратом серебра. Установлено, что число хромосом у исследованных видов $2n=28A+0-6B$.

B-chromosomes were discovered in the karyotypes of *Linum flavum*, *L. capitatum*, *L. elegans*, *L.campanulatum*, *L. thracicum*, *L. tauricum* and *L. czernjajevii*. These B chromosomes are small and heteropicnotic, contain 5S and 45S rDNA, characterized by intensive C- and CMA staining, but they aren't stain with silver nitrate. It was determined that the chromosome number of these species is $2n=28A+0-6B$.

КАШИН А. С., МИНДУБАЕВА А. Х.

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского,
410012 Саратов, ул. Астраханская, 83, e-mail: kashinas@sgu.ru

ДИАГНОСТИКА СПОСОБНОСТИ К АПОМИКСИСУ У НЕКОТОРЫХ СОРТО- И ВИДООБРАЗЦОВ РОДА *FESTUCA* L.

Исследование биологии злаков, в особенности способа их размножения, имеет большое теоретическое и практическое значение, поскольку к злакам относятся все основные хлебные и многие кормовые растения. Знание закономерностей проявления апомиксиса в этом семействе может оказаться полезным для поисков путей и способов использования различных форм апомиксиса в селекции и семеноводстве [1-3].

Целью настоящего исследования было выявление возможности и динамики выраженности гаметофитного апомиксиса у растений ряда видов овсяниц (*Festuca* L.) семейства Poaceae. Изучение видов этого рода интересно как в прикладном, так и теоретическом аспектах.

В списке С.С. Хохлова с соавт. [4] в качестве апомиксичных указано три вида рода, а именно *F. arundinacea* Schreb., *F. pratensis* Huds. и *F. rubra* L.. Для них указана нерегулярная форма апомиксиса - споровая апомиксисия. Есть указания на то, что склонность к апомиксису проявляют и такие виды рода, как *F. valesiaca* Gaud. s. l. и *F.*