

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ С ПРИЗНАКОМ ВРЕМЕНИ ПЕРЕХОДА К ЦВЕТЕНИЮ В ЕСТЕСТВЕННЫХ И ИСКУССТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *Brassica rapa* L.

**А.М. АРТЕМЬЕВА¹, Е.Н. РУДНЕВА¹, Ж. ЦАО², Г. БОННЕМА²,
Х. БУДАН³, Ю.В. ЧЕСНОКОВ¹**

Исследовали хромосомные локусы, ассоциированные со временем перехода к цветению в двуродительской расщепляющейся популяции линий двойных гаплоидов и в стержневой коллекции местных и селекционных сортов-популяций *B. rapa*, используя различные типы молекулярных маркеров. Применяя методику QTL-анализа и ассоциативного картирования, нашли и картировали хромосомные локусы, расположенные во 2-й, 3-й, 5-й, 6-й, 7-й и 10-й группах сцепления, и установили AFLP-, SSR- и S-SAP-маркеры, сцепленные со временем цветения.

Ключевые слова: *Brassica rapa*, AFLP-, SSR-, S-SAP-маркеры, ДНК-маркеры, QTL-анализ, ассоциативное картирование.

Keywords: *Brassica rapa*, AFLP, SSR, S-SAP markers, DNA markers, QTL analysis, association mapping.

Род *Brassica* имеет продолжительную историю повсеместного возделывания, его культивируемые виды включают обширные группы экономически важных овощных, масличных, кормовых и пряных культур. *Brassica rapa* L. — первый domestцированный высокополиморфный вид рода, объединяющий листовые овощные (пекинская, китайская, розеточная, пурпурная и японская капуста, листовая репа Комацуна, японские листовые овощи и брокколетто), а также масличные культуры (яровая и озимая сурепица, коричневый и желтый сарсон, тория) и корнеплодную репу (представлена овощными и кормовыми типами) (1). В нескольких европейских генных банках хранятся обширные коллекции *Brassica*. Так, в базе данных Европейской кооперативной программы по генетическим ресурсам растений паспортизировано 19 678 образцов 35 коллекций из 24 стран, включая около 3600 образцов *B. rapa* (<http://documents.plant.wur.nl/cgn/pgp/brasedb/>) (2, 3). В коллекции *B. rapa* Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) находится 327 образцов масличных культур, 525 образцов шести листовых овощных типов и 406 образцов корнеплодной репы.

Время перехода в репродуктивную фазу онтогенеза — важнейший признак развития, от которого зависят продуктивность и качество возделываемых растений. У культур *B. rapa* он широко варьирует. На *Arabidopsis* L., модельном объекте для молекулярных исследований, родственном *Brassica*, показано, что время цветения — сложный признак, в проявление которого вовлечены несколько механизмов (реакция на яровизацию и фотопериод, синтез гиббереллина), и идентифицировано множество генов, контролирующих время цветения (4-6). Важную роль в изменении сроков цветения и реакции на яровизацию играют гены *FLC* (Flowering locus C) и *FRI* (Frigida): *FLC* — репрессор цветения при яровизации, а *FRI* действует в противоположном направлении, регулируя экспрессию *FLC* (7, 8).

Несколько паралогов *FLC* (*BrFLC1*, *BrFLC2*, *BrFLC3*, *BrFLC5*), действующих у *B. rapa* подобно генам *FLC* у *Arabidopsis*, картированы в синтетических для *Arabidopsis* участках хромосом (9-11). У *B. rapa* в предшествующих исследованиях QTL, контролирующих время цветения, установлена роль *FLC*-генов как генов-кандидатов (12-14). Главный QTL с *BrFLC2* в качестве гена-кандидата, определяющего сроки цветения и ответ на яровизацию, был идентифицирован во 2-й группе сцепления в не-

скольких популяциях *B. rapa*, выращенных в различных географических и климатических условиях, QTL с *BrFLC1* — в 10-й (14-16).

Генетическое картирование осуществляется через поиск взаимосвязей молекулярных маркеров с признаками, а его результат отражает параллельную генотипическую и фенотипическую изменчивость в искусственных и естественных популяциях, в том числе в коллекциях растительных ресурсов. Методически оно выполняется с помощью QTL-анализа специально созданных двуродительских расщепляющихся популяций и посредством ассоциативного картирования. Ассоциативное картирование у растений основано на выявлении неравновесного сцепления (linkage disequilibrium, LD), которое существует в естественных и селекционных популяциях, в том числе в коллекциях неродственных генотипов, и учете структуры популяций на уровне как отдельных генов, так и целого генома (17). Ассоциации маркер—признак могут быть найдены, если неравновесное сцепление между маркером и геном, контролирующим признак, еще не полностью разрушено рекомбинацией (18). При таком подходе генетическое разнообразие, выраженное через аллельный полиморфизм, сравнивается с наблюдаемым фенотипическим варьированием. Преимущества метода ассоциативного картирования перед QTL-анализом следующие: как правило, наблюдаемая изменчивость изучаемых признаков больше, нет необходимости создавать расщепляющиеся популяции, а разрешение картирования выше, чем при анализе популяций, полученных от контролируемых скрещиваний (19, 20).

В первой работе по ассоциативному картированию *B. rapa* с использованием коллекции из Нидерландов были найдены AFLP-маркеры (AFLP — amplified fragment length polymorphism), ассоциированные с тремя морфологическими признаками листа, содержанием фитатов и временем цветения после яровизации и без нее (21). Еще одна научная публикация посвящена дизайну стержневой коллекции *B. rapa* для ассоциативного картирования на примере времени цветения как фенологического признака (22).

В нашем исследовании мы впервые в России предприняли попытку выявить генетические локусы, определяющие время перехода к цветению у генотипов в двуродительской расщепляющейся популяции и у образцов в стержневой коллекции местных и селекционных сортов-популяций *Brassica rapa*, используя для этого различные типы молекулярных маркеров, а также сравнили результаты, полученные при QTL- и ассоциативном картировании.

Методика. При QTL-анализе материалом для 3-летних исследований служила двуродительская расщепляющаяся популяция линий двойных гаплоидов, полученная в Университете Вагенингена (Нидерланды) от скрещивания листовой/черешковой китайской капусты и масличного желтого сарсона (DH38, 68 линий). Для ассоциативного картирования использовали стержневую коллекцию ВИР, состоящую из 96 сортов-популяций, в эксперименте по дизайну европейской стержневой коллекции — 102 сорта-популяции из коллекции ВИР и 137 образцов из стержневой коллекции Университета Вагенингена (WUR), включающие все ботанические подвиды, разновидности и морфологические типы *B. rapa* различного эколого-географического происхождения.

Полевое фенотипическое описание линий DH38 проводили в Пушкинском филиале ВИР (Ленинградская обл.) и на Дагестанской опытной станции ВИР (г. Дербент), стержневой коллекции ВИР — в Пушкинском филиале ВИР, коллекции из Нидерландов — в Вагенингене. Дату появления цветоносного стебля у 10 % растений отмечали как начало видимого

ДН38 (номера 46, 69, 77, 87, 142), устойчивые к раннему переходу в генеративную фазу, что коррелировало с высокой продуктивностью, более чем на 50 % превосходящей среднюю для популяции.

В результате анализа наблюдаемого по годам изменения позиции хромосомных локусов (QTL), определяющих время перехода к цветению в популяции ДН38, мы обнаружили AFLP- и SSR-маркеры, сцепленные с этими локусами. Были выявлены QTL, входящие во 2-ю группу сцепления, причем в 2007-2008 годах большой QTL располагался на вершине группы, то есть там, где локализуется главный QTL с *BrFLC2* как геном-кандидатом, участвующим в контроле времени цветения и ответе на яровизацию, эффект которого явно снижается под влиянием яровизирующих температур (16) (табл. 1). Этим эффектом объясняется отсутствие указанного QTL в прохладный 2009 год. Также установлен QTL, находящийся в середине 2-й группы сцепления (его действие отмечали все 3 года исследований) и QTL с невысокими значениями LOD (0,52-2,02), относящиеся к 7-й группе сцепления, из которых один, расположенный в середине группы, проявлялся в течение 3 лет в условиях Пушкинского филиала ВИР (см. табл. 1), а также в Дагестане. В исследованиях, проведенных в Нидерландах, QTL в R07 (7-я группа сцепления) обнаружили в популяции F₂, полученной при использовании той же родительской пары. Кроме того, QTL в 2008-2009 годах выявляли в 3-й, 5-й и 10-й группах сцепления, а в 2007 и 2009 годах — в 4-й группе сцепления (в близких позициях или на расстоянии друг от друга), что согласуется с результатами, полученными для той же картирующей популяции в Нидерландах (14, 21). В 2009 году в условиях Дербента QTL, контролирующие время начала появления цветоносного стебля, были найдены во 2-й, 3-й, 6-й, 7-й, 8-й и 10-й группах сцепления. Интересно отметить совпадающие или очень близкие позиции маркеров в нижней части R02, в верхней и средней части R07 и в нижней части R10 при анализе в Пушкинском филиале ВИР и на Дагестанской опытной станции ВИР. Таким образом, по нашим данным, здесь расположены наиболее стабильные геномные районы, связанные со временем перехода в генеративную фазу.



Рис. 1. QTL времени перехода к цветению (2-я группа сцепления) у вида *Brassica rapa* L. LOD — десятичный логарифм шансов (г. Санкт-Петербург—Пушкин, 2008 год).

на всех стадиях развития растений и во всех тканях уровень транскрипции *BrFLC2* выше у поздноцветущих ДН линий по сравнению с раноцветущими. Редукция экспрессии QTL с *BrFLC2* у рано- и поздноцветущих линий была наиболее сильной при яровизации в стадии проростка, следовательно, срок перехода к цветению определяется в онтогенезе очень рано. Авторы рассматривают *BrFLC2* в качестве гена-кандидата в связи с контролем времени цветения и ответа на яровизацию у *B. rapa* (16).

Анализ условий вегетации в период исследований в обеих географических зонах заставляет предположить, что действие QTL, расположенного на вершине 2-й группы сцепления, проявляется в относительно жаркую погоду при отсутствии яровизирующих температур. Это согласуется с данными J. Zhao с соавт. (16), описавших, как уже отмечалось, снижение эффекта главного QTL с *BrFLC2* на вершине R02 при яровизации. Они наблюдали, что

1. Расположение QTL, контролирующих время начала перехода в репродуктивную фазу в популяции DH38 линий двойных гаплоидов *Brassica rapa* L. по годам исследований (г. Санкт-Петербург—Пушкин)

2007 год			2008 год			2009 год		
Группа сцепления	LOD/изменчивость, %	Маркер/позиция, сМ	Группа сцепления	LOD/изменчивость, %	Маркер/позиция, сМ	Группа сцепления	LOD/изменчивость, %	Маркер/позиция, сМ
R02	1,01/8,9	Ks50030/0	R02	2,34/17,4	Ks50030-/0	R02	2,31/19,9	P23M47115.6/35,439
	1,14/9,9	E34M16M122.2Y/46,260		9,95/82,0	/31,409		1,61/14,3	E34M15143.3/44,676
				7,66/50,9	R11/34,84		0,86/7,9	E32M52136.7y/66,497
				5,03/34,3	P23M47M115.6-/43,455			
				2,11/15,7	E32M52M317.7-/57,449			
			R03	1,54/11,9	Br326t/69,076	R03	0,80/7,4	E34M16M105.9y/69,414
				2,81/20,3	P23M48M149.0t/3,998			
				1,05/8,4	E39M22M274.3-/13,283			
				1,16/8,9	E34M15M245.7-/16,505			
				1,04/8,1	BRMS-043t/18,900			
R04	1,26/11,0	Na10D09R04/11,860	R05	2,86/21,6	P23M48M63.6t/41,966	R04	1,11/10,1	P21M47178.6/47,165
	1,11/9,7	E34M15456.4/19,427		1,56/11,8	Myb2Hae3M263.7t/53,916		R05	2,47/21,1
			1,58/12,0	E44M20M89.8-/62,735	1,68/14,9	E44M2077.9/24,969		
						1,75/15,5	E36M15M153.9/40,740	
						1,92/16,8	E44M16M181.3/50,826	
R06	1,71/14,6	E34M15446.7y/0	R07	1,16/9,5	P23M48M221.9t/41,742	R07	1,46/13,0	P23M50339.1/3,000
R07	0,52/4,7	E39M22290.7y/50,198					0,89/8,2	E32M16409.0/27,318
						2,02/17,6	E39M20294.4/57,741	
R09	1,52/13,1	E32M16188.3y/32,004	R10	1,55/11,9	E44M21M190.7-/43,222	R10	0,90/8,3	FLC1/21,427
	2,10/17,6	E32M16177.4Y/39,052		1,23/9,6	E34M16M204.0-/61,355		0,73/6,7	E44M21190.7/40,002
	1,38/12,0	E34M16M366.9Y/51,784		1,60/12,9	BRH80A08flc1t/73,081			

П р и м е ч а н и е. LOD — десятичный логарифм шансов.

В популяции ДН38 мы выявили QTL, которые характеризовались высокими значениями LOD в отдельные годы и контролировали одновременно несколько важных признаков. Например, QTL, расположенный в середине 2-й группы сцепления, в 2008 году объяснял до 82 % варьирования срока перехода к цветению (LOD — 9,95) (рис. 1), 35 % изменчивости диаметра листовой розетки (LOD — 4,67), 18 % изменчивости массы растения, 31-40 % изменчивости длины черешка, а также длины и ширины листовой пластинки, причем AFLP-маркер R11 маркировал все эти признаки. В 7-й группе сцепления находился QTL, контролирующий диаметр стебля, высоту и массу растения (соответственно 24, 25 и 11 % варьирования признаков). В 10-й группе сцепления имелся еще один QTL, контролирующий диаметр стебля и габитус растения, тип листа, длину черешка, длину и ширину листовой пластинки (LOD — 1,61-3,67). Наши данные подтверждают известный факт о сильной корреляционной зависимости между размерами растения и временем перехода к цветению у листовых культур *B. rapa*.

Таким образом, формирование сложного количественного признака обычно находится под контролем нескольких QTL, расположенных в разных группах сцепления. В популяции ДН38 QTL, детерминирующие комплекс признаков (время перехода к цветению, размеры растения и его продуктивных органов — черешка и листовой пластинки), находятся в основном во 2-й, 3-й, 7-й и 10-й группах сцепления и формируют блоки коадаптированных генов и коадаптированные блоки генов (18), что подчеркивает важность вклада этих локусов в онтогенез растения.

Нами выявлены хромосомные локусы, экспрессия которых либо зависит, либо не зависит от условий окружающей среды. Во втором случае позиция QTL в группе сцепления сохранялась в течение всех лет испытания, но величина LOD при этом могла варьировать. Были также обнаружены QTL, позиции которых по годам меняются не более чем на 1-6 сМ, и хотя при этом у них разные маркеры, такие локусы можно рассматривать как неизменные. Часто константные QTL имели невысокие значения LOD и их вклад в изменчивость признаков составлял 10-20 %. По всей вероятности, именно с ними связана стабильность типичных морфологических признаков растения, а возможно, и повышенная адаптационная способность. Напротив, QTL, проявляющие действие только в отдельные годы, часто характеризовались высокими LOD и в значительной степени определяли изменчивость признаков растений в конкретных условиях. Обычно в случае независимых от влияния факторов среды QTL отмечаются высокие положительные аддитивные эффекты генов.

При поиске ассоциаций между молекулярными маркерами и признаками в естественных гетерозиготных и гетерогенных популяциях растений из двух стержневых коллекций, представляющих вид *Brassica rapa*, генетическое разнообразие, выраженное через аллельный полиморфизм набора маркеров, соотносили с наблюдаемым фенотипическим варьированием признаков листа и стручка, архитектоникой растений, временем цветения. Фенотипическая и генотипическая вариация у основных групп культур оказалась сравнима для обеих коллекций. При генотипировании обнаружили 88 полиморфных маркеров, из них 86 SSR-маркеров и *BrFLC1*-специфичный CAPS-маркер, которые использовали для анализа структуры популяции; число аллелей на маркер варьировало от 2 до 16. При анализе популяционной структуры была использована модель, которая допускает смешанное (гибридное) происхождение генотипов и наличие независимой частоты аллелей между подгруппами. Аллельное разнообразие, выраженное общим числом аллелей в каждой культуре/группе культур (пекинская ка-

пуста, китайская капуста, японские листовые овощные, репа, брокколетто, озимая и яровая сурепица, китайские масличные), оказалось сходным в двух коллекциях. Фенотипическое варьирование внутри подвидов между двумя коллекциями также мало различалось, следовательно, морфологические типы были хорошо представлены в обеих коллекциях.

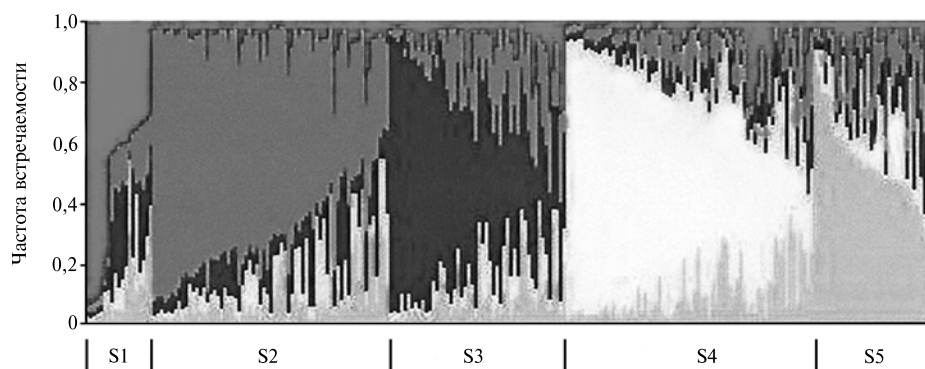


Рис. 2. Структура объединенной коллекции *Brassica rapa* L. по частоте встречаемости 88 полиморфных маркеров: S1 — 19 образцов яровых масличных из коллекции WUR (Университет Вагенингена, Нидерланды); S2 — 67 образцов пекинской капусты из обеих коллекций; S3 — 50 образцов (главным образом, китайская капуста) из обеих коллекций, по 2 образца пекинской капусты, китайских масличных и 3 образца японских листовых овощных; S4 — 70 образцов европейской репы из обеих коллекций, брокколетто, несколько масличных типов, а также китайские и индийские масличные из коллекции ВИР (Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург); S5 — 33 образца (главным образом, масличные типы из коллекции ВИР, а также масличные из Пакистана и японская репа).

Анализ популяционной структуры показал наличие в объединенной коллекции пяти подгрупп (рис. 2). Масличные культуры из коллекции ВИР образовали в ней отдельную, очень разнообразную группу, не представленную в коллекции WUR, послужив ценным дополнением последней. В то же время среди образцов из коллекции ВИР отсутствовали брокколетто и японская репа. Следует также отметить, что в сформированной коллекции структурные подгруппы оказались многочисленнее, что и требуется для более точной ассоциации маркеров с признаками.

2. Частота встречаемости (%) аллелей гена *BrFLC1* у различных культур *Brassica rapa* L.

Культура	500 п.н.	500 п.н. и 800 п.н.	800 п.н.
Пекинская капуста	7,0	49,3	43,7
Китайская капуста	2,6	28,2	69,2
Брокколетто	100	0	0
Японские листовые овощные	35,7	35,7	28,6
Репа	75,0	8,3	16,7
Масличные из коллекции ВИР	37,0	51,9	11,1
Китайские масличные	0	0	100
Яровые масличные	18,2	9,1	72,7
Озимые масличные	66,7	0	33,3

При ассоциативном картировании с использованием CAPS-маркера для гена-кандидата *BrFLC1* обнаружили, что его аллели размером 500 п.н. и 800 п.н., а также их совместное присутствие значительно ассоциированы со временем цветения у китайской капусты, японских листовых овощей и яровых масличных из коллекции ВИР (табл. 2). Интересно отметить, что для японских листовых овощей и масличных из коллекции ВИР эффект аллелей был аддитивным, в то время как у китайской капусты и репы гетерозиготы показали сверхдоминирование. Для пекинской капусты и яровых масличных из Нидерландов обнаружили только слабый эффект ассо-

циации различных аллелей с изучаемым признаком у гетерозигот в один год испытаний. С использованным CAPS-маркером был визуализирован лишь единичный полиморфизм, однако в изученных образцах, видимо, присутствовало большее число аллелей с функциональными различиями. Следовательно, существует вероятность взаимодействий с другими аллелями или другими генами реализации цветения, что объясняет неодинаковую степень проявления признака в гетерозиготе у разных культур. Как и ожидалось, эффект *BrFLC1* в яровизирующих условиях падал, поскольку воздействие низких температур ведет к деградации экспрессии гена (10, 16). Корнеплодная репа требует продолжительного воздействия низких температур для сокращения времени до цветения, и действительно, у репы даже после яровизации *BrFLC1*-специфичный CAPS-маркер еще был ассоциирован со временем цветения. В исследованиях Y.X. Yuan с соавт. (15) также установлено, что *BrFLC1* задерживал время цветения в коллекции из 121 линии в среднем на 15 сут. Для точного понимания роли гена *BrFLC1* в регуляции времени цветения необходимо использование нескольких SNP-маркеров (SNP — single nucleotide polymorphism) для идентификации различных гаплотипов.

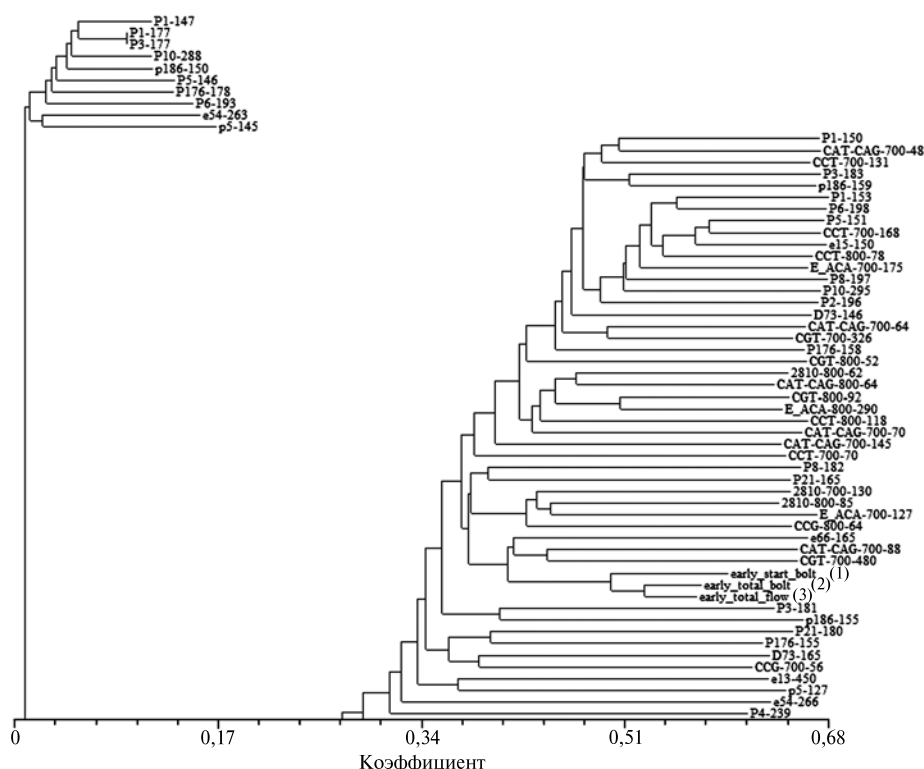


Рис. 3. Фрагмент NJ-дендрограммы (NJ — neighbor joining), показывающей взаимоотношения между SSR- и S-SAP-маркерами, с выделением кластера маркеров, ассоциированных с признаками раннего начала стеблевания (early start bolting) (1), раннего полного стеблевания (early total bolting) (2) и раннего цветения (early total flowering) (3) у *Brassica rapa* L.

При скрининге аллельной вариации *BrFLC2* специально созданным SSR-маркером BrH04D11-*BrFLC2* значительную ассоциацию со временем цветения нашли у трех (211, 213 и 215 п.н.) из 16 аллелей *BrFLC2*, которые были относительно часты у корнеплодной репы, но в некоторых культурах встречались с низкой частотой или отсутствовали. Сходным образом эти аллели сегрегируют в популяции линий двойных гаплоидов DH38, что проиллюстрировало обнаружение главного QTL в локусе *BrFLC2* (14). За-

держка перехода к цветению у образцов репы может объясняться этими «поздними» аллелями, что представляется полезным для практической селекции. С помощью установленных маркеров могут быть выбраны образцы для скрещивания различных культур/типов с целью увеличения продолжительности времени до перехода в генеративную фазу. Полученные данные также объясняют причину обнаружения паралогов *BrFLC* в качестве генов-кандидатов при изучении различного материала (в двуродительских скрещиваниях участвуют аллели только двух исходных форм) (13, 14). Секвенирование аллелей *BrFLC2* у образцов с неодинаковыми SSR-аллелями позволит установить, могут ли эти аллели служить надежными маркерами гаплотипов *BrFLC2* или в ходе эволюции маркерные аллели и гаплотипы испытывают неодинаковое давление отбора и сегрегируют независимо друг от друга, что разрушает эту связь.

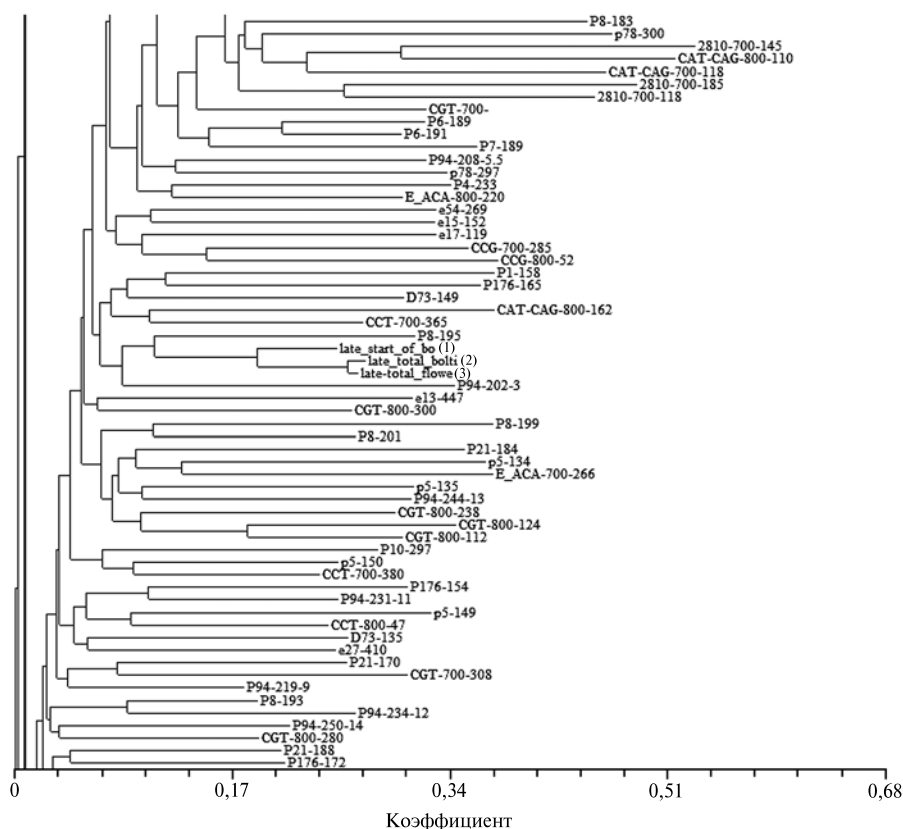


Рис. 4. Фрагмент NJ-дендрограммы (NJ — neighbor joining), показывающей взаимоотношения между SSR- и S-SAP-маркерами, с выделением кластера маркеров, ассоциированных с признаками позднего начала стеблевания (late start bolting) (1), позднего полного стеблевания (late total bolting) (2) и позднего цветения (late total flowering) (3) у *Brassica rapa* L.

Таким образом, оба маркера (CAPS и SSR) в значительной степени ассоциированы со временем цветения, но их эффекты ограничены несколькими культурами и/или аллелями. Поэтому при ассоциативном картировании популяция (коллекция) согласно статистическим расчетам должна быть численно увеличена до 400 образцов, а для облегчения фенотипирования и генотипирования необходимо фиксировать гетерогенные образцы через создание гомозиготных линий с использованием культуры микроспор.

Варьирование признака начала перехода к цветению между 96 образцами стержневой коллекции ВИР в условиях Пушкинского филиала ВИР было велико, но диапазон изменчивости в зависимости от года испы-

таний менялся незначительно и составил в среднем 19-85 сут. Образцы корнеплодной репы, озимой сурепицы и японской капусты развивались по двулетнему типу, и у них начало появления цветоносного стебля отмечали на 210-245-е сут.

При анализе ассоциаций со временем цветения на материале *B. rapa* из коллекции ВИР обнаружили три SSR-маркера: для раннего цветения — аллель 165 п.н. биаллельного маркера Br372, локализованного в 7-й группе сцепления, для позднего — аллель 195 п.н. мультиаллельного маркера BC89 (9 аллелей) в 6-й группе сцепления и, что очень интересно, аллель 202 п.н. мультиаллельного маркера BrH04D11-FLC2 (16 аллелей) во 2-й группе сцепления. Из молекулярных маркеров, полученных на основе мобильных элементов II класса САСТА, с ранним цветением были связаны два (локализация в геноме неизвестна) (рис. 3, 4). В среднем по группе образцов, несущих маркер раннего перехода в генеративную стадию развития Br372-165, фаза стеблевания началась на 52-е сут, у образцов без маркера — на 112-е сут, у образцов с маркером CAT-CAG-700-88 — на 58-е сут, без этого маркера — на 27 сут позже, с маркером CGT-700-480 и без него — соответственно на 53-и и 108-е сут (табл. 3). Маркер позднего вступления в репродуктивную стадию BC89-195 позволил выделить группу поздних генотипов с началом стеблевания на 137-е сут, в то время как образцы без маркера перешли в эту фазу на 45-е сут, а маркер BrH04D11-FLC2 — группу образцов, у которых она начиналась соответственно на 77-е и 59-е сут. Можно предположить, что эти молекулярные SSR- и САСТА-маркеры послужат эффективным генетическим и селекционным инструментом.

3. Средняя продолжительность фаз генеративного периода (сут) и их ассоциация с маркерами у образцов *Brassica rapa* L. из коллекции ВИР

Фенофаза	Присутствие маркера	Отсутствие маркера
	SSR Br372(с66), 165 п.н.	
Начало стрелкования	51,8	112,3
Полное стрелкование	74,0	121,8
Цветение	82,5	131,3
	S-SAP CAT-CAG-700, 88 п.н.	
Начало стрелкования	58,0	85,4
Полное стрелкование	73,1	118,6
Цветение	82,3	128,3
	S-SAP CGT-700, 480 п.н.	
Начало стрелкования	52,6	108,8
Полное стрелкование	70,8	174,0
Цветение	79,8	183,3
	SSR BC189, 195 п.н.	
Начало стрелкования	137,3	45,2
Полное стрелкование	160,7	71,4
Цветение	170,3	74,8
	SSR BrH04D11-FLC2 (P94), 202 п.н.	
Начало стрелкования	77,1	58,6
Полное стрелкование	103,1	75,2
Цветение	112,6	84,7

Итак, использование искусственных двуродительских сегрегирующих и естественных популяций для поиска ассоциаций между различными типами молекулярных маркеров и сроком перехода к цветению привело к сходным результатам и позволило обнаружить и картировать хромосомные локусы, расположенные во 2-й, 3-й, 5-й, 6-й, 7-й и 10-й группах сцепления у *Brassica rapa*, а также установить AFLP-, SSR- и S-SAP-маркеры, сцепленные со временем начала цветения. Применение этих маркеров (в особенности простых для определения микросателлитных маркеров) позволит осуществлять массовый скрининг коллекционных образцов вида, в том числе при пребридинговых исследованиях.

Выражаем искреннюю благодарность Н.В. Кочериной за помощь при математической обработке данных QTL-анализа, Г.Л. Чудовой и К.А. Артемьевой за помощь

ЛИТЕРАТУРА

1. Specht C.E., Diederichsen A. Brassica. Mansfeld's Encyclopedia of agricultural and horticultural crops /P. Hanelt (ed.). Berlin, 2001, V. 3: 1435-1465.
2. Hintum T.J.L., Boukema I.W. The establishment of the European database for *Brassica*. Plant Genet. Resour. Newsl., 1993, 94/95: 11-13.
3. Boukema I.W., Hintum T.J.L. The European *Brassica* Database. Acta Hort. (ISHS), 1998, 459: 249-254.
4. Koornneef M., Alonso-Blanco C., Vreugdenhli D. Naturally occurring genetic variation in *Arabidopsis thaliana*. Annu. Rev. Plant Biol., 2004, 55: 141-172.
5. Alexandr C.M., Hennig L. FLC or not FLC: the other side of vernalization. J. Exp. Bot., 2008, 59: 1127-1135.
6. Seo E., Lee H., Jeon J., Park H., Kim H., Noh Y.S., Lee I. Crosstalk between cold response and flowering in *Arabidopsis* is mediated through the flowering-time gene *SOCl* and its upstream negative regulator *FLC*. The Plant Cell, 2009, 21: 3185-3197.
7. Schmitz R.J., Amasino R.M. Vernalization: a model for investigating epigenetics and eukaryotic gene regulation in plants. Biophys. Acta, 2007, 1769: 269-275.
8. Sheldon C.C., Hills M.J., Lister C., Dean C., Dennis E.S., Peacock W.J. Resetting of *FLOWERING LOCUS C* expression after epigenetic repression by vernalization. PNAS USA, 2008, 105: 2214-2219.
9. Kim J.S., Chung T.Y., King G.J., Jin M., Yang T.J., Jin Y.M., Kim H.I., Park B.S. A sequence-tagged linkage map of *Brassica rapa*. Genetics, 2006, 174: 29-39.
10. Kim S.Y., Park B.S., Kwon S.J., Kim J., Lim M.H., Park Y.D. Delayed flowering time in *Arabidopsis* and *Brassica rapa* by the overexpression of *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) homologs isolated from Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.: ssp. *pekinensis*). Plant Cell Rep., 2007, 26(3): 327-336.
11. Yang T.J., Kim J.S., Kwon S.J. Sequence-level analysis of the diploidization process in he triplicated *FLOWERING LOCUS C* region of *Brassica rapa*. The Plant Cell, 2006, 18: 1339-1347.
12. Osborn T.C., Kole C., Parkin I.A., Sharpe A.G., Kuiper M., Lydiatte D.J., Trick M. Comparison of flowering time genes in *Brassica rapa*, *B. napus* and *Arabidopsis thaliana*. Genetics, 1997, 146(3): 1123-1129.
13. Schranz M.E., Quijada P., Sung S.B., Lukens L., Amasino R., Osborn T.C. Characterization and effects of the replicated flowering time gene *FLC* in *Brassica rapa*. Genetics, 2002, 162(3): 1457-1468.
14. Lou P., Zhao J., Kim J.S., Shen S., Pino Del Carpio D., Song X. Quantitative trait loci for flowering time and morphological traits in multiple populations of *Brassica rapa*. J. Exp. Bot., 2007, 58: 4005-4016.
15. Yuan Y.X., Wu J., Sun R.F., Zhang X.W., Xu D.H., Bonnema G., Wang X.W. A naturally occurring splicing site mutation in the *Brassica rapa FLC1* gene is associated with variation in flowering time. J. Exp. Bot., 2009, 60(4): 1299-1308.
16. Zhao J., Kulkarni V., Liu N., Pino Del Carpio D., Bucher J., Bonnema G. *BrFLC2* (*FLOWERING LOCUS C*) as a candidate gene for a vernalization response QTL in *Brassica rapa*. J. Exp. Bot., 2010, 61(6): 1817-1825.
17. Flint-Garcia S.A., Thornsberry J.M., Buckler E.S. Structure of linkage disequilibrium in plants. Annu. Rev. Plant Biol., 2003, 54(1): 357-374.
18. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М., 1985.
19. Gupta P.K., Rustgi S., Kulwal P.L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. Plant Mol. Biol., 2005, 57(4): 461-485.
20. Myles S., Peiffer J., Brown P.J., Ersoz E.S., Zhang Z., Costich D.E., Buckler E.S. Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design. Plant Cell, 2009, 21(8): 2194-2202.
21. Zhao J., Paulo M.J., Jamar D., Lou P., Van Eeuwijk F., Bonnema G. Association mapping of leaf traits, flowering time, and phytate content in *Brassica rapa*. Genome, 2007, 50(10): 963-973.
22. Zhao J., Artemyeva A., Pino Del Carpio D., Basnet R.K., Zhang N., Gao J., Li F., Bucher J., Wang X., Visser R.G.F., Bonnema G. Design of a *Brassica rapa* core collection for association mapping studies. Genome, 2010, 53: 884-898.
23. Методические указания по изучению и поддержанию мировой коллекции капусты. Л., 1988.
24. Lou P., Zhao J., He H., Hanhart C., Pino Del Carpio D.P., Verkerk R., Custers J., Koornneef M., Bonnema G. Quantitative trait loci for glucosinolate accumulation in *Brassica rapa* leaves. New Phytologist, 2008, 179(4): 1017-1032.
25. Alix K., Joets J., Ryder C.D., Moore J., Barker G.C., Bailey J.P., King G.J., Heslop-Harrison J.S. The CACTA transposon *Bot1* played a major

role in *Brassica* genome divergence and gene proliferation. *Plant J.*, 2008, 56(6): 1030-1044. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03660.x

26. Van Ooijen J.W. MapQTL 6. Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Wageningen, Netherlands, 2009.

¹ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства
им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии,
190000 г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44,
e-mail: yu.chesnokov@vir.nw.ru, akme11@yandex.ru;

²Laboratory of Plant Breeding, Wageningen University,
P.O. Box 386, 6700 AJ Wageningen, the Netherlands;

³Institute for Breeding Research on Horticultural
Crops of JKI,
Erwin-Baur-str., 27, D-06484 Quedlinburg, Germany

Поступила в редакцию
22 августа 2011 года

ASSOCIATIONS SEARCH OF MOLECULAR MARKERS WITH DETERMINANT OF BLOSSOM-TIME IN NATURAL AND ARTIFICIAL POPULATION OF *Brassica rapa* L.

A.M. Artem'eva¹, E.N. Rudneva¹, J. Zhao², G. Bonnema²,
H. Budahn³, Yu.V. Chesnokov¹

S u m m a r y

The authors studied the chromosomal loci, associated with blossom-time, in two-parental splitting population of double haploid and in pivotal collection of native and breeding varieties-populations of *B. rapa*, using the different types of molecular markers. Utilizing the techniques of QTL-analysis and association mapping the authors identified and mapped the chromosomal loci, situated in linkage group 2, 3, 5, 6, 7 and 10, and established the AFLP-, SSR- and S-SAP-markers, linked with blossom-time.

Научные конференции



24-26 августа 2011 года во Всероссийском НИИ цветоводства и субтропических культур (г. Сочи) состоялась Вторая Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Декоративное садоводство России: состояние, проблемы, перспективы».

На конференции обсуждались достижения и проблемные вопросы в области цветоводства и декоративного садоводства. К числу основных проблем относится формирование ассортимента культур для наружного и внутреннего цветочно-декоративного оформления помещений, крупных рекреационных, производственных и жилых комплексов. Исследования в этом направлении в последнее время достаточно актуальны, так как существующий ассортимент растений или весьма скуден, или формируется из малоизвестного и случайно приобретенного посадочного материала. В озеленении населенных пунктов и городов используется посадочный материал, предлагаемый иностранными фирмами, который, безусловно, обладает высокими декоративными качествами, но зачастую низкой приспособленностью к конкретным климатическим условиям. Эта проблема актуальна для каждого региона.

К необходимым условиям поддержания и развития отечественного цветоводства и декоративного садоводства относится создание автоматизированных баз данных генетических ресурсов цветочно-декоративных растений. Актуальными остаются вопросы подготовки специалистов в области декоративного садоводства. В погоне за престижностью специальности подготовку специалистов по этому направлению осуществляют и коммерческие учреждения высшего профессионального образования, не имеющие соответствующего профессорско-преподавательского состава и учебно-экспериментальной базы. Базовыми площадками для подготовки специалистов должны быть опытные поля научных учреждений, а к преподавательской деятельности по профильным направлениям следует привлекать научных сотрудников.



В работе конференции участвовали ученые из шести регионов России и представители научного сообщества Азербайджана. Были представлены доклады (от научных и образовательных учреждений, ботанических садов, питомника) из Азербайджана, Москвы и Московской области, Белгорода, Волгограда, Ростова-на-Дону, Краснодара, Крымска, Санкт-Петербурга, Сочи.