

# Маркер-опосредованный отбор при создании линий-закрепителей стерильности рапса

Marker-assisted selection in the creation of rapeseed maintainer lines

Мурзина Э.Р., Монахос С.Г., Монахос Г.Ф.

Murzina E.R., Monakhos S.G., Monakhos G.F.

## Аннотация

## Abstract

В статье представлены результаты исследования по применению маркер-опосредованного отбора (MAS) для создания линий-закрепителей стерильности при селекции  $F_1$  гибридов ярового рапса (*Brassica napus* L.). Изучено 15 линий и гибридов из коллекции ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева» с использованием мультиплексной ПЦР для идентификации пяти типов цитоплазмы (Ogura, Ogura-NWSUAF, Polima, Cam, Nap) на основе маркеров генов *orf138*, *orf222* и *orf224*. Этот метод позволил детально проанализировать генетический материал и выявить растения с типами цитоплазмы Cam (РЯ016) и Polima (ДДШf). В частности, молекулярное генотипирование показало отсутствие образцов с нормальным типом цитоплазмы, два образца, обладающих цитоплазмой типа Ogura, десять с Ogura-NWSUAF, подтверждая преобладание этих вариантов в изученной коллекции. С использованием четырех пар молекулярных маркеров и фенотипической оценки проведен гибридологический анализ и молекулярный скрининг потомства от скрещиваний с тестером ЦМС-линией М8мс (тип Ogura-NWSUAF) для оценки наличия/отсутствия гена восстановителя фертильности *Rfo*, восстанавливающего только тип цитоплазмы Ogura. Все растения в комбинации М8мс × РЯ016 формировали стерильные цветки с недоразвитыми пыльниками и полным отсутствием жизнеспособной пыльцы, тогда как фертильные цветки линии РЯ016 демонстрировали хорошо сформированные пыльники с жизнеспособной пыльцой (фертильность 98%). В других комбинациях скрещиваний наблюдали расщепление на фертильные и стерильные растения в соотношении 1:1, как в обычном анализирующем скрещивании гетерозиготы *Rfrf* с рецессивной гомозиготой *rfrf*. Анализ включал оценку генотипа и фенотипа полученных гибридов, было выявлено, что линия РЯ016 имеет тип цитоплазмы Cam и не содержит гена *Rfo*, таким образом может использоваться как закрепитель стерильности для цитоплазмы типа Ogura. Результаты демонстрируют высокую эффективность маркерной селекции, которая значительно ускоряет и упрощает процесс создания  $F_1$  гибридов рапса.

**Ключевые слова:** яровой рапс, закрепитель стерильности, молекулярные маркеры, мультиплексная ПЦР, ген-восстановитель фертильности

**Для цитирования:** Мурзина Э.Р., Монахос С.Г., Монахос Г.Ф. Маркер-опосредованный отбор при создании линий-закрепителей стерильности рапса // Картофель и овощи. 2025. №7. С. 56-60. <https://doi.org/10.25630/PAV.2025.96.25.007>

The article presents the results of a study on the application of marker-assisted selection (MAS) for developing sterility maintainer lines in the breeding of  $F_1$  hybrids of spring rapeseed (*Brassica napus* L.). Fifteen lines and hybrids from the collection of LLC "N.N. Timofeev Breeding Station" were analyzed using multiplex PCR to identify five types of cytoplasm (Ogura, Ogura-NWSUAF, Polima, Cam, Nap) based on markers of the *orf138*, *orf222* and *orf224* genes. This method enabled a detailed analysis of the genetic material and identified plants with Cam (RYa016) and Polima (DDShf) cytoplasm types. Specifically, molecular genotyping revealed the absence of samples with normal cytoplasm, two samples with Ogura-type cytoplasm, and ten with Ogura-NWSUAF, confirming the prevalence of these variants in the studied collection. Using four pairs of molecular markers and phenotypic evaluation, hybridological analysis and molecular screening of progeny from crosses with the CMS tester line M8ms (Ogura-NWSUAF type) were conducted to assess the presence/absence of the *Rfo* fertility restorer gene, which restores fertility only for the Ogura cytoplasm type. All plants in the M8ms × RYa016 combination formed sterile flowers with underdeveloped anthers and a complete absence of viable pollen, whereas fertile flowers of the RYa016 line exhibited well-formed anthers with viable pollen (fertility 98%). In other crossing combinations, a 1:1 segregation of fertile and sterile plants was observed, as expected in a typical test cross of a heterozygote *Rfrf* with a recessive homozygote *rfrf*. The analysis included evaluation of the genotype and phenotype of the obtained hybrids, revealing that the RYa016 line has Cam-type cytoplasm and lacks the *Rfo* gene, making it suitable as a sterility maintainer for Ogura-type cytoplasm. The results demonstrate the high efficiency of marker-assisted selection, which significantly accelerates and simplifies the process of creating  $F_1$  rapeseed hybrids.

**Keywords:** spring rapeseed, sterility stabiliser, molecular markers, multiplex PCR, fertility restoration gene.

**For citing:** Murzina E.R., Monakhos S.G., Monakhos G.F. Marker-assisted selection in the creation of rapeseed maintainer lines. Potato and vegetables. 2025. No7. Pp. 56-60. <https://doi.org/10.25630/PAV.2025.96.25.007> (In Russ.).

Яровой рапс (*Brassica napus* L.) – одна из ведущих масличных культур, обеспечивающая значительную часть мирового производства растительного масла [1]. Открытие ядерно-цитоплазматической стерильности (ЯЦМС) стало важной вехой в развитии мирового выращивания рапса, открыв новую эру использования гетерозиса в

*Brassica napus* (*B. napus*).  $F_1$  гибриды значительно превосходят сорта по урожайности и другим хозяйственно ценным признакам, таким как устойчивость к болезням, качество и выход масла [2].

У *B. napus* используют более 10 типов ЯЦМС, среди них pol, Shaan2A, Ogura, nap, SaNa-1A, NCa, Nsa и hau являются наиболее распространенными

ми [2]. Эти системы требуют наличия трех компонентов в селекционном процессе: стерильной (материнской) линии, закрепителя стерильности для размножения стерильной линии и восстановителя фертильности, обеспечивающего фертильность  $F_1$  гибрида, что делает идентификацию и отбор подходящих линий критически важным этапом селекции  $F_1$  гибридов [2-3].

На каждый тип цитоплазмы разработаны ряд молекулярных маркеров, однако для скрининга коллекций необходимо несколько раз проводить ПЦР анализ для установления типа цитоплазмы у образцов. Zhao et al. (2010) разработали мультиплексную ПЦР для одновременного определения пяти типов цитоплазмы (Polima, Ogura, Ogura-NWSUAF, Nap, Cam) [4].

Цель исследования: изучение возможности применения маркер-опосредованной селекции (MAS) для создания линий-закрепителей стерильности ярового рапса с отличной от типа Ogura цитоплазмой, а также не имеющие гена-восстановителя фертильности *Rfo* с целью оптимизации селекционного процесса и ускорения создания высокопродуктивных  $F_1$  гибридов.

## Условия, материалы и методы исследований

Исследования проведены в 2022-2024 годах в РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Для поиска потенциальных линий-закрепителей стерильности было изучено 15 гибридов и линий рапса из коллекции ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева. В качестве стандарта использовали линии с известными типами цитоплазмы:  $F_1$  гибриды ярового рапса Джаз и Маджонг – тип цитоплазмы Ogura-NWSUAF, ЦМС линия редиса (Rs Ms) и отдаленный гибрид *Brassicoraphanus* – Ogura.

Гибридизацию проводили в контролируемых условиях пленочной теплицы. Для предотвращения неконтролируемого опыления соцветия изолировали пергаментными изоляторами.

Гибридологический анализ по проявлению фертильности/стерильности проводили в потомстве от скрещивания ЦМС линии М8мс с цитоплазмой типа Ogura-NWSUAF и гибридов, линий с неизвестным типом цитоплазмы для выявления наличия/отсутствия специфичного гена-восстановителя фертильности *Rfo*.

Семена высевали в 64-ячеистые кассеты со смесью верхового торфа (Агробалт NPK 120:80:140, pH ( $H_2O$ ) 5,5-6,6).

Морфологический анализ цветков проводили с использованием стереомикроскопа (Nexscore NSZ-818) для оценки структуры цветков и развитости пыльников.

Жизнеспособность пыльцы определяли методом окрашивания ацетокармином с последующим

наблюдением под световым микроскопом (Zeiss Axioscope). Фотографии делали с помощью камер Axioscam-208 и программного обеспечения ImageJ.

Общую ДНК выделяли из молодых листьев каждого растения методом СТАВ (Murray and Thompson, 1980) с небольшими модификациями. Для выделения использовали 200-250 мг свежей ткани молодых листьев.

Молекулярно-генетический анализ и дифференциацию генотипов в коллекции проводили с использованием следующих пар праймеров молекулярных маркеров на гены *orf138*, *orf224*, *orf222* [4] (табл. 1).

Реакционная смесь состояла из 50 нг тотальной ДНК, 150  $\mu$ M dNTP, 0.25 ед. Taq ДНК полимеразы и 0.15  $\mu$ M каждого праймера, общий объем смеси 10 мкл.

Программа амплификации согласно оригинальной статьи 35 циклов, первоначальная денатурация при 94 °C 2 минуты, далее денатурация при 94 °C 1 минута, отжиг 54 °C 1 минута, элонгация 72 °C 2 минуты, финальная элонгация 10 минут.

Генотипирование на ген-восстановитель фертильности проводили с помощью четырех молекулярных маркеров: BnRFO-AS1R: TCCTCCAAAACCTGCTTCGCAA, BnRFO-AS2F: CATGCTTCGATCTCGTCCTTTA, BnRFO-AS2R: GGTAACAACATCAGGGTGGAGT, BnRFO-DL2R: TCAAACCTCACTCCTCCAAAACCT [5], BnRFO-AS2F: CATGCTTCGATCTCGTCCTTTA, BnRFO-NEW-R: TACGACATTGGGCCTACATGTC [6]. Амплификацию проводили по оригинальному протоколу [5-6]: 95 °C 3 минуты, 35 циклов 95 °C 30 сек., 55 °C 30 сек., 72 °C 45 сек., финальная элонгация 72 °C 5 мин.

Продукты амплификации визуализировали в 1,5% TBE агарозном геле в гель-док станции ChemiDoc XRS+ (BioRad, USA) под действием УФ света, детекцию свечения красителя GelRed (Biotium, USA) регистрировали с помощью программного обеспечения Image Lab Software (BioRad).

## Результаты исследований

Селекционный процесс создания  $F_1$  гибридов рапса строится на получение трех линий: отцовской линии-восстановителя фертильности с генотипом (S RfRf/N RfRf), материнской стерильной линии (S rfrf) и линии-закрепителя стерильности (N rfrf).

Для получения линий-закрепителей необходимо проводить ряд возвратных скрещиваний для получения изогенной пары, различающейся лишь по типу цитоплазмы. Данный процесс занимает продолжительное время, а также для каждой ЯЦМС линии нужно иметь собственный фертильный аналог (закрепитель стерильности).

Таблица 1. Последовательности праймеров мультиплексной ПЦР на три гена *orf138*, *orf224*, *orf222*

Наименование праймеров	Последовательность 5'-3'	Таргетный ген	Размер ожидаемого фрагмента, п.н.
P11	GAAACGGGAAGTGACAAT	<i>orf138</i>	465
P12	GCATTATTTCTCGGTCCAT		
P21	AGCTGTCTGGAGGGAATC	<i>orf222</i>	1102
P22	GCGGTCTCACGCACTAATC		
P21	AGCTGTCTGGAGGGAATC	<i>orf224</i>	747
P32	ACGACATCAAGGAGGAAC		

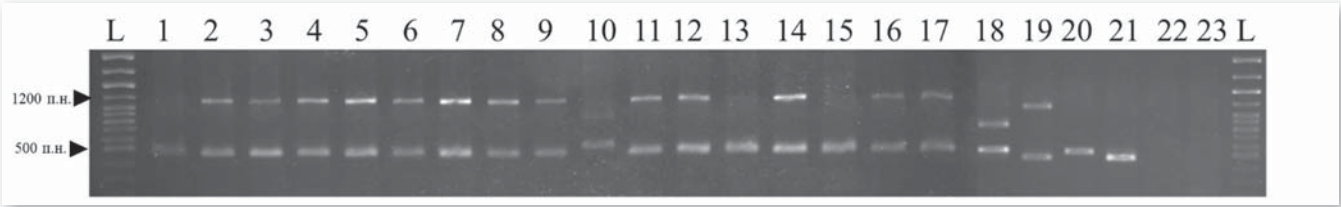


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации трех пар маркеров на гены *orf138*, *orf222*, *orf224* (Zhao et al., 2010), где 1-Р0021, 2-Р0023, 3-РЯ045, 4-РЯ008, 5-РЯ009, 6-РЯ015, 7-РЯ036, 8-РЯ023, 9-РЯ006, 10-РЯ016, 11-РЯ018, 12-Р0030, 13-РЯ025, 14-РЯ010, 15-Р0026, 16-Джаз F1, 17-Маджонг F1, 18-ДДШф, 19-ДДШмс, 20-Brassicoraphanus, 21-Rs Ms, 22-23-контроль с водой, L-маркер молекулярных длин, Step100 Long (Biolabmix)

Другим путем получения закрепителей стерильности может быть использование отличного от применяемого в селекционном процессе типа цитоплазмы и генотипов, не имеющих специфичный ген-восстановитель фертильности.

По результатам молекулярного генотипирования коллекции ярового и озимого рапса выявлено два образца с Ogura типом, 10 с типом Ogura-NWSUAF. Два образца обладали другим типом цитоплазмы: РЯ016 тип цитоплазмы Sam и ДДШф – тип *rol* (рис. 1).

Стандарты с цитоплазмой типа Ogura: стерильная линия редиса Rs Ms, а также отдаленный гибрид *Brassicoraphanus* также подтверждают достоверность молекулярных маркеров. У них был выявлен только маркер на ген *orf138*. Аналогичный фрагмент был выявлен у образцов Р0021, РЯ025.

Все остальные генотипы имели тип цитоплазмы Ogura-NWSUAF, он представляет собой специфический аллоплазматический вариант Ogura. Данный тип цитоплазмы восстанавливается тем же геном-восстановителем фертильности, что и тип Ogura.

Для подтверждения достоверности маркерной системы (Zhao et al., 2010) был проведен гибридологический анализ потомств от скрещивания с ЦМС линией М8мс, имеющий тип цитоплазмы Ogura-NWSUAF (табл. 2).

Для восстановления стерильной цитоплазмы Ogura существует единственный ген-восстановитель фертильности *Rfo*.

Анализируемый материал – это F<sub>1</sub> гибриды, и они должны быть гетерозиготами по гену-восстановителю фертильности – *RfRf*, и при скрещивании со стерильной линией с генотипом *rfrf* дают расщепление 1:1. В случае отсутствия в анализируемом гибриде доминантного аллеля гена-восстановителя *Rfo* на тип цитоплазмы Ogura все потомство будет стерильным.

В таблице 2 представлены данные по количеству стерильных и фертильных растений в потомстве, а также результаты статистического анализа методом хи-квадрат ( $\chi^2$ ). В пяти комбинациях наблюдали расщепление 1:1, что свидетельствует о том, что генотип анализируемого образца был гетерозиготой *RfRf*. В комбинации М8мс x РЯ016 все растения потомства были стерильными, таким об-

Таблица 2. Результаты проверки соответствия фактических и ожидаемых расщеплений в гибридном потомстве с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона, 2022 год

Комбинация скрещивания	Всего растений, шт	Количество стерильных растений, шт.	Количество фертильных растений, шт.	Теоретически ожидаемое расщепление 1:1		$\chi^2$ расч.
				S	F	
М8мс x РЯ006	20	11	9	10	10	0,20
М8мс x РЯ036	24	13	11	12	12	0,17
М8мс x РЯ009	28	12	16	14	14	0,57
М8мс x РЯ016	27	27	0	13,5	13,5	27
М8мс x РЯ015	30	15	15	15	15	0
М8мс x РЯ018	22	9	13	11	11	0,73

Примечание:  $\chi^2$  таб. на 5% уровне значимости=3,84, df=1

Таблица 3. Результаты молекулярного скрининга коллекции рапса четырьмя парами маркеров на ген-восстановитель фертильности *Rfo*

№	Генотип	BnRFO-AS1R/ BnRFO-AS1F	BnRFO-AS2R/ BnRFO-AS2F	BnRFO-DL2R/ BnRFO-AS1F	BnRFO-AS2-new-R/ BnRFO-AS2F
1	РЯ045	+	+	+	-
2	РЯ008	+	+	+	-
3	РЯ009	+	+	+	+
4	РЯ015	+	+	+	+
5	РЯ036	+	+	+	+
6	РЯ023	+	+	+	+
7	РЯ006	+	+	-	-
8	РЯ016	-	-	-	-
9	РЯ018	-	+	-	-
10	РЯ010	-	+	-	+



разом РЯ016 не имеет гена-восстановителя *Rfo* и может быть использована в качестве закрепителя стерильности. После двух беккроссов на базе этого образца создан его стерильный аналог РЯ016 который проходит оценку на комбинационную способность.

Стерильные цветки характеризуются недоразвитыми пыльниками и полным отсутствием жизнеспособной пыльцы (фертильность 0%) (рис.2 б, d), тогда как фертильные цветки демонстрировали хорошо сформированные пыльники с жизнеспособной пылью (фертильность 98%) (рис.2 а, с).

Для подтверждения фенотипического анализа использовали четыре пары молекулярных маркеров, разработанных на ген-восстановитель фертильности *Rfo* (табл. 3).

По результатам молекулярного генотипирования (таб. 3) изученные растения, кроме РЯ016 должны иметь ген-восстановитель фертильности.

Согласно фенотипической оценке РЯ009, РЯ015, РЯ036, РЯ018, РЯ006 показывали способность к восстановлению стерильной цитоплазмы ЯЦМС линии М8мс, однако РЯ006 и РЯ018 имеет

ожидаемые фрагменты только по двум маркерам (табл. 3). У РЯ009, РЯ015, РЯ036, РЯ023 обнаружены целевые фрагменты по всем четырем парам праймеров.

Различия в результатах амплификации между парами праймеров могут быть обусловлены вариациями в последовательности генома. Различия у РЯ006 и РЯ018, где фенотипически *Rfo* присутствует, но не все маркеры положительны, могут объясняться аллельными вариациями или наличием гомологов с делециями, приводящими к отсутствию амплификации для BnRFO-DL2R/BnRFO-AS1F и BnRFO-AS2-new-R/BnRFO-AS2F, несмотря на функциональность гена.

### Выводы

Анализ коллекции выявил проблему с наличием генотипов, пригодных для использования в качестве закрепителей. Не обнаружено ни одного образца с нормальной цитоплазмой. Поэтому предлагаем в качестве закрепителей использовать генотипы с другим типом цитоплазмы, при условии отсутствия у них гена-восстановителя *Rfo*.

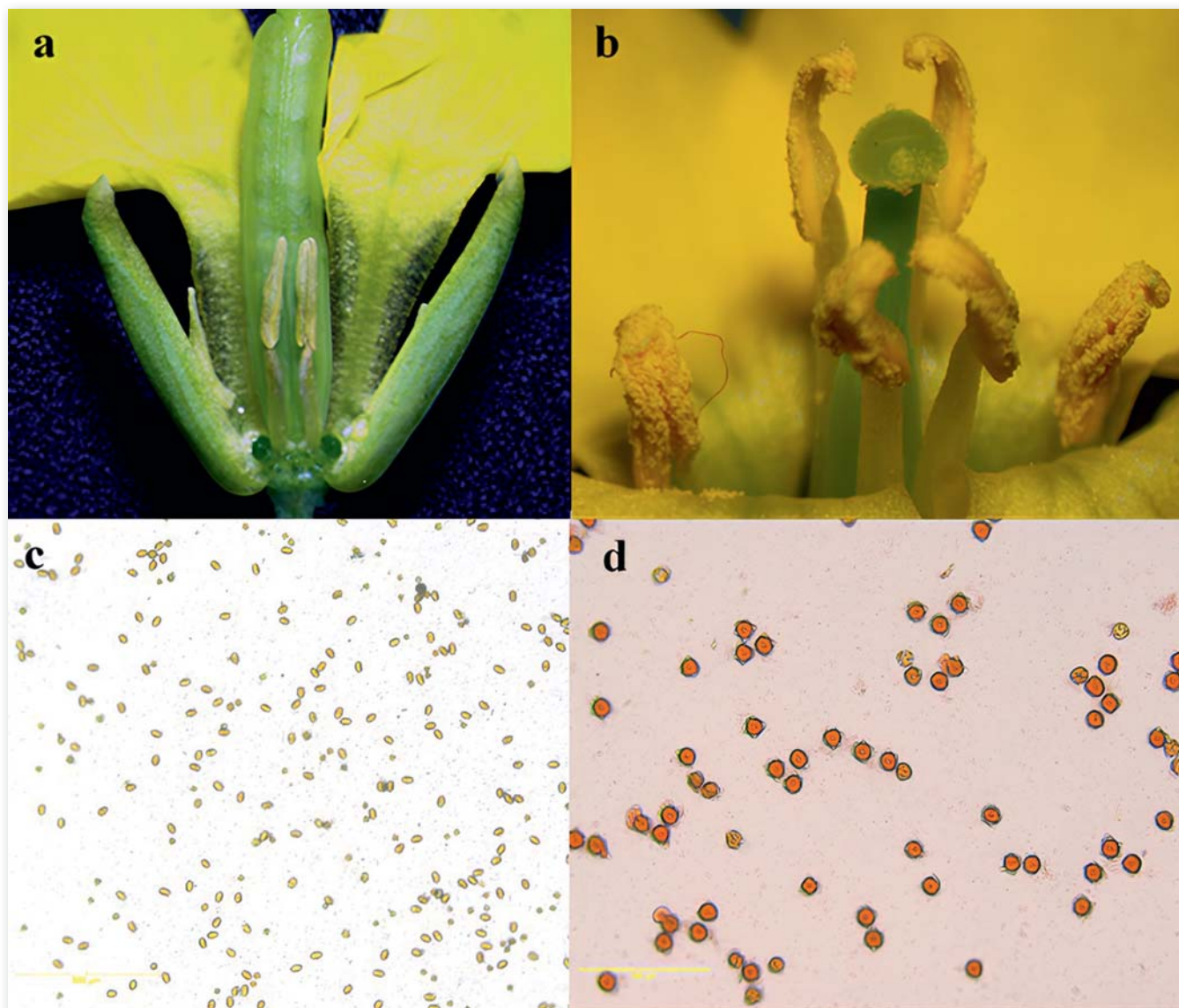


Рис. 2. Сравнение стерильного и фертильного цветков гибридов М8мс × РЯ016 (слева) и М8мс × РЯ036 (справа), полученное с помощью стереомикроскопа: (а) стерильный цветок с недоразвитыми пыльниками, характерными для ЦМС-линии; (б) фертильный цветок с полностью сформированными пыльниками, содержащими жизнеспособную пыльцу; (с) стерильная пыльца (фертильность 0%) с недоразвитыми, неокрашенными зернами; (d) фертильная пыльца (фертильность 98%) с полностью сформированными, интенсивно окрашенными зернами

Предлагаем проведение этих генетико-селекционных мероприятий в два этапа: 1) скрининг коллекции на тип цитоплазмы; 2) скрининг образцов с иной от Ogura типом цитоплазмы на наличие у них гена-восстановителя Rfo.

Результаты скрининга, представленные в **таблице 3**, демонстрируют наличие Rfo у большинства генотипов, за исключением РЯ016, где амплификация отсутствовала для всех пар праймеров. Полное присутствие маркеров наблюдалось у РЯ009, РЯ015, РЯ036 и РЯ023. Частичная амплификация у РЯ045, РЯ008, РЯ006, РЯ018 и РЯ010

свидетельствует о возможных аллельных различиях в последовательностях Rfo.

Фенотипический анализ подтвердил функциональность Rfo у РЯ009, РЯ015, РЯ036, РЯ006 и РЯ018, где они восстанавливали фертильность в скрещиваниях со стерильной линией. Это подчеркивает ценность комбинированного молекулярного и фенотипического подхода для точной идентификации линий восстановителей фертильности в селекции рапса.

## Библиографический список

1. Statistical Yearbook World Food and Agriculture 2024. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome: FAO, 2024. 360 с. ISBN 978-92-5-139537-0.
2. Zhang Y. et al. A set of molecular markers to accelerate breeding and determine seed purity of CMS three-line hybrids in *Brassica napus*. Plants. 2023. Vol. 12. No7. C. 1514. <https://doi.org/10.3390/plants12071514>
3. Мурзина Э.Р., Монахос С.Г. Интрогрессия гена-восстановителя фертильности из *Raphanus sativus* L. в *Brassica napus* L. путем отдаленной гибридизации. 2022. Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. Сборник тезисов докладов XXII Всероссийской международной конференции молодых ученых, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. М., 2022. С. 46–47.
4. Zhao H.X. et al. Identification of cytoplasm types in rapeseed (*Brassica napus* L.) accessions by a multiplex PCR assay. Theoretical and Applied Genetics. 2010. Vol. 121. No4. C. 643–650. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1336-3>
5. Hu X. et al. Mapping of the Ogura fertility restorer gene Rfo and development of Rfo allele-specific markers in canola (*Brassica napus* L.). Molecular breeding. 2008. Vol. 22. No4. C. 663–674. <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9207-1>
6. Yu H. et al. Development of a novel allele-specific Rfo marker and creation of Ogura CMS fertility-restored interspecific hybrids in *Brassica oleracea*. Theoretical and Applied Genetics. 2016. Vol. 129. No8. C. 1625–1637. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2728-9>

## Reference

1. Statistical Yearbook World Food and Agriculture 2024. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome: FAO, 2024. 360 с. ISBN 978-92-5-139537-0.
2. Zhang Y. et al. A set of molecular markers to accelerate breeding and determine seed purity of CMS three-line hybrids in *Brassica napus*. Plants. 2023. Vol. 12. No7. C. 1514. <https://doi.org/10.3390/plants12071514>
3. Murzina E. R., Monakhos S. G. Introgression of a fertility restorer gene from *Raphanus sativus* L. into *Brassica napus* L. by distant hybridization. 2022. Biotechnology in crop production, animal husbandry and agricultural microbiology. Collection of abstracts of the XXII All-Russian International Conference of Young Scientists dedicated to the memory of academician G.S. Muromtsev. Moscow. 2022. Pp. 46–47 (In Russ.).
4. Zhao H. X. et al. Identification of cytoplasm types in rapeseed (*Brassica napus* L.) accessions by a multiplex PCR assay. Theoretical and Applied Genetics. 2010. Vol. 121. No4. C. 643–650. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1336-3>
5. Hu X. et al. Mapping of the Ogura fertility restorer gene Rfo and development of Rfo allele-specific markers in canola (*Brassica napus* L.). Molecular breeding. 2008. Vol. 22. No4. C. 663–674. <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9207-1>
6. Yu H. et al. Development of a novel allele-specific Rfo marker and creation of Ogura CMS fertility-restored interspecific hybrids in *Brassica oleracea*. Theoretical and Applied Genetics. 2016. Vol. 129. No8. C. 1625–1637. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2728-9>

## Об авторах

Мурзина Эльвира Рафаэлевна, аспирант кафедры молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства, Российский государственный аграрный университет – Московская с.-х. академия имени К.А. Тимирязева (РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева). E-mail: e.murzina@rgau-msha.ru

Монахос Григорий Федорович, канд. с.-х. наук, генеральный директор ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева». E-mail: breedst@mail.ru

Монахос Сократ Григорьевич, доктор с.-х. наук, профессор, зав. кафедрой молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства, РГАУ – МСХА. E-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru

## Author details

Murzina E.R., postgraduate student, Department Molecular Breeding, Cell technology and Seed Technology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy after K.A. Timiryazev (RSAU–MTAA after K.A. Timiryazev). E-mail: e.murzina@rgau-msha.ru

Monakhos G.F., Cand. Sci. (Agr.), director general, Breeding station after N.N. Timofeev Ltd. E-mail: breedst@mail.ru

Monakhos S.G., D.Sci. (Agr.), professor, Head of the Department of Molecular Breeding, Cell technology and Seed Technology, RSAU–MTAA after K.A. Timiryazev. E-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru



Подписано к печати 10.11.25. Формат А4. Бумага гляцевая мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 7,4. Заказ №2263. Отпечатано в ГБУ РО «Рязанская областная типография» 390023, г.Рязань, ул.Новая, д.69/12. Сайт: [www.ryazanskaya-tipografiya.ru](http://www.ryazanskaya-tipografiya.ru). E-mail: [ryazan\\_tip@bk.ru](mailto:ryazan_tip@bk.ru). Телефон: +7 (4912) 44-19-36