

На правах рукописи

АХМЕД Мохамед Эль Сайед Мохамед

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА
ФОРМИРОВАНИЕ ЛИСТА У НЕКОТОРЫХ МУТАНТНЫХ ФОРМ
КУЛЬТУРНОГО ТОМАТА**

Специальности: 03.00.15 – генетика,
03.00.23 – биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2005

Работа выполнена на кафедрах генетики и сельскохозяйственной биотехнологии Московской сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева

Научные руководители:

Кандидат биологических наук А.А. Соловьев

Кандидат биологических наук Г.И. Карлов

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук А.В. Крючков

Кандидат биологических наук Н.И. Бочарникова

Ведущая организация:

Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур

Защита состоится “15” июня 2005 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета Д.220.043.10 при Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева по адресу. 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке МСХА.

Автореферат разослан « » мая 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Е.А. Калашникова

Актуальность работы. Формирование листа – сложный морфофизиологический процесс реализации программы развития. Этот процесс достаточно полно изучен анатомическими исследованиями. Однако, в отличие от других органов растения (например, цветка) недостаточно изучена генетическая программа развития листа. С использованием методов анализа мутаций, изучения экспрессии генов и создания трансгенных растений показан генетический контроль формирования рассеченных листьев (Goliber et al., 1999; Holtan & Nake, 2003; Tsiantis & Hay, 2003).

Одним из наиболее изученных объектов, отличающихся широким разнообразием листа, является культурный томат, у которого известно 307 мутантных линий с различными модификациями формы и размеров листа (Holtan & Nake, 2003). В то же время в литературе имеются немногочисленные сведения о генетических взаимодействиях генов, определяющих различные мутантные фенотипы листа (Куземенский, 2003, Singha, 2000, 2003, 2004).

Тип листа формируется путем контроля числа и направления клеточных делений, важное значение в определении которых имеют фитогормоны. Анализ мутантов показал, что взрослые листья являются результатом изменений развития примордий на ранних стадиях формирования листа. Считается, что индукторами инициации листа могут выступать цитокинины или комбинация ауксинов и цитокининов (Лутова и др., 2000) В то же время на томате выявлено, что в формировании листа принимают участие гиббереллины и ауксины, влияющие на рассеченность листа (Sekhar & Sawhney 1991; Avasarala et al., 1996).

Цели и задачи исследования.

Целью работы было изучение взаимодействия и проявления генов, контролирующих развитие листа у некоторых мутантных форм томата, в норме и при действии регуляторов роста.

Задачи исследования:

1. Провести генетический анализ взаимодействия генов, контролирующих формирование нерассеченного, слабо рассеченного и сильно рассеченного листьев по проявлению типа листа в первом и втором поколениях.
2. Выявить характер наследования признака слаборассеченный лист у линии Мо 755.
3. Оценить влияние экзогенных обработок регуляторами роста – ауксин, цитокинин и гиббереллин, на проявление типа листа у мутантных линий томата.

Научная новизна и практическая ценность работы. Впервые проведена комплексная работа по изучению взаимодействия генов, контролирующих нерассеченный, слаборассеченный и сильнорассеченный типы листа, и оценке их проявления при воздействии экзогенных регуляторов роста.

Впервые описан генетический контроль слаборассеченного типа листа у формы томата Мо755. Показано, что тип листа формы Мо 755 контролируется одним геном, который неаллелен другим генам, отвечающим за слаборассеченный тип листа – *tp, e*.

При скрещивании формы Мо 755 с линиями Мо 556, LA 0784 наблюдается взаимодействие доминантных аллелей генов *tp, e* и гена, контролирующего тип листа Мо 755, по типу комплементарности. Рецессивный аллель, контролирующий тип листа Мо 755, является эпистатичным по отношению к гомозиготе *ee*, и гипостатичным по отношению к гомозиготе *tptp*.

Показано сцепленное наследование слаборассеченного листа Мо 755 с признаками карликового роста, желтой точки роста, и отсутствия антоциана, что свидетельствует о локализации гена, отвечающего за данный признак, во второй хромосоме.

Показано, что экзогенная обработка регуляторами роста приводит к изменению морфологии листьев. Наиболее выраженные эффекты для всех типов мутаций отмечены при применении гиббереллина (ГК₃), которые проявляются в виде удлинения листьев, уменьшения числа сегментов, исчезновения зазубренности и снижения площади листьев.

Обработка цитокининами и ауксинами на мутации LA 0715 («мышинные ушки») вызвала увеличение количества долей, которые имели вытянутую форму и были менее закрученными в сравнении с контролем. Выявленный эффект увеличения количества долей при обработке ауксином и цитокинином свидетельствует об их участии в инициации органов листа в примордии.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на 2-й конференции Московского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова «Актуальные проблемы генетики». М.: МСХА, 2003; 3-м съезде ВОГиС «Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития», 2004; Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 117-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. «Секция физиологии и защиты растений». Саратов, 2004; на научной конференции молодых ученых МСХА им. К.А. Тимирязева, 2004.

Публикации. По теме работы опубликованы 3 печатные работы.

Объем и структура диссертации. Материалы диссертации изложены на _____ страницах машинописного текста и включают _____ рисунков и _____ таблиц. Диссертация состоит из разделов “Введение”, “Обзор литературы”, “Материалы и методы”, “Результаты и обсуждение”, “Выводы” и “Список литературы”. Список цитируемой литературы включает _____ наименований.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования. В работе использованы образцы генетической коллекции томата кафедры генетики МСХА им. К.А. Тимирязева, а также материал, любезно предоставленный R. Chetelat (Центр генетических ресурсов томата, США) (табл.1)

Таблица 1

Исходный материал

№ пп	Линия, образец	Происхождение	Наличие мутаций	Участие в экспериментах
1	Mo 755	Кафедра генетики МСХА	<i>wv</i> - желтая точка роста; <i>aa</i> - отсутствие антоциана; <i>d</i> - карликовый рост; слаборассеченный лист	1*, 2*
2	Mo 500	Кафедра генетики МСХА	<i>c</i> - картофельный лист; <i>d</i> - карликовый рост; <i>aa</i> - отсутствие антоциана	2*
3	Money-maker	ЦГРТ	-	1*, 2*
4	LA 0715	ЦГРТ	<i>Me</i> – мышинные ушки	1*, 2*
5	Mo 319	Кафедра генетики МСХА	<i>La</i> – ланцетный лист	1*, 2*
6	Mo 556	Кафедра генетики МСХА	<i>tp</i> – тройчатый лист	1*, 2*
7	Mo 304	Кафедра генетики МСХА	<i>bip</i> - дважды рассеченный лист	2*
8	La 0784	Кафедра генетики МСХА	<i>e</i> – слаборассеченный лист с искривленной центральной жилкой	1*

Примечание:

* - Эксперименты: 1 - гибридологический анализ; 2 - влияние регуляторов роста.

Методы. Опыт проводили в теплице кафедры генетики МСХА. Гибриды F₁ получали методом предварительной кастрации и опыления цветков на следующие сутки, гибриды F₂ – самоопылением растений первого поколения.

Проявление признака типа листа оценивали на 5 листе при развитии 8 листа (т.к. к этому периоду у томата формируются взрослые листья и все эффекты мутаций проявляются наиболее четко). Анализ наследования признаков проводили с использованием критерия χ^2 . В случае сцепленного наследования признаков частоту рекомбинации определяли методами произведений и извлечения квадратного корня из доли рецессивов.

Для оценки влияния регуляторов роста на формирование листа использовали 3-х кратные обработки - ауксином (ИУК) в концентрации 50 мг/л; гиббереллином (ГК₃) - 100 мг/л; цитокинином (6-БАП) - 50 мг/л. Первую обработку проводили в фазе 2-3 листьев, вторую – через неделю после первой, третью – через неделю после второй. Анализ проводили через 2 недели после 3-й обработки. В 2003 г. анализировали 5, 6 и 7 листья на каждой форме. Выбор листьев для анализа в 2005 году был скорректирован на основании результатов 2003 г. и зависел от темпов развития каждой формы - Мо 500 (6, 7 и 8 листья), LA 0715 (3, 4 и 5), Moneymaker (5, 6 и 7), Мо 319 (9, 10 и 11), Мо 304 (5, 6 и 7), Мо 556 (5, 6 и 7). На каждом листе анализировали площадь, число долей, общее число сегментов (включая дольки и дольки), оценивали морфологию листа – по изменениям рассеченности, формы отдельных сегментов и листа в целом, на каждом растении анализировали число листьев, высоту растения.

Статистическую обработку проводили с использованием программ AGROS 2.11 (автор С.П. Мартынов) и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

I. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ТИПЫ ЛИСТА У ТОМАТА

1.1. Наследование типа листа в гибридной комбинации Мо 755 x LA 0715

Данная комбинация скрещивания характеризовалась расщеплением по типу листа в поколении F₁ на растения с диким типом листа и типом листа «мышинные ушки». Наследование признаков у разных фенотипов первого поколения в F₂ анализировали отдельно.

В потомстве растений F₁ с сильно рассеченным листом были отмечены 3 фенотипических класса – «мышинные ушки», «тип 755» и «дикий тип» (табл. 2).

Таблица 2

Наследование типа листа в F₂ поколении гибридной комбинации
Mo 755 x LA 0715 LA0715 (F₁ – тип листа “мышинные ушки”)

Фенотип	Количество растений, шт.	Ожидаемое отношение			χ^2 факт.			$\chi_{0,05}^2$ теор.
		9	12	9				
“мышинные ушки”	668	9	12	9	135.3	60.01	164.58	5,99
тип “755”	118	4	1	6				
дикий тип	97	3	3	1				

Анализ соответствия полученных данных теоретически ожидаемым с различными вариантами взаимодействий показал отсутствие такового. Из этого можно сделать заключение о сцепленном наследовании генов, контролирующих типы листа *Me* и Mo 755. Анализ частоты кроссинговера извлечением квадратного корня из доли двойного рецессива показал частоту $rf = 26,9$ сМ (табл. 3).

Таблица 3

Анализ расщепления F₂ гибридной комбинации Mo 755 x LA 0715
(F₁ – тип листа “мышинные ушки”) по типу листа

Гены	Фенотип	Количество растений, шт.	Частота rf , %	Ожидаемое количество	χ^2 факт.
			$\sqrt{\quad}$		
<i>Me</i> - «755»	дикий	97	26,9	102,8	0,52
	тип «755»	118		118,0	
	тип <i>Me</i>	668		662,3	

В то же время анализ расщепления второго поколения растений F₁ с диким типом листа показал моногенный характер наследования этого признака (табл. 4).

Таблица 4

Наследование типа листа в F₂ поколении гибридной комбинации
Mo 755 x LA 0715 (F₁ – дикий тип листа)

Признак	Количество растений, шт.	Ожидаемое отношение	χ^2 факт.	$\chi_{0,05}^2$ теор.
дикий тип	237	3	0,98	3,84
тип “755”	69	1		

1.2. Наследование типа листа в гибридной комбинации

Мо 755 x Мо 319

В этой комбинации, также как и в комбинации с участием формы LA 0715, в F₁ отмечено расщепление на растения с ланцетным и диким типом листа.

Анализ расщепления F₂ потомства растений F₁ с ланцетным листом показал наличие 3 фенотипических классов – растений с ланцетным, диким и типом листа формы Мо 755 (табл. 5).

Таблица 5

Наследование типа листа в F₂ поколении гибридной комбинации
Мо 755 x Мо 319 (F₁ – тип листа ланцетный)

Фенотип	Количество растений, шт.	Ожидаемое отношение		χ^2 факт.		$\chi_{0,05}^2$ теор.
дикий тип	82	3	3	16,07	24.05	5,99
тип “755”	51	1	3			
ланцетный	219	8	6			

Полученное соотношение фенотипов не соответствует ни одной из выдвинутых гипотез. Наиболее логичной является гипотеза о расщеплении 8 : 3 : 1 (т. к. гомозигота *LaLa* нежизнеспособна), наблюдаемое соотношение 7,5 : 3 : 1,5 может объяснено широкой вариацией проявления жизнеспособности у гетерозигот *Lala*.

Анализ расщепления растений F₁ с диким типом листа показал расщепление на 2 фенотипических класса – растения с диким типом листа и растения с типом листа Мо 755.

1.3. Наследование типа листа в комбинации скрещивания

Мо 755 x Мо 556

При скрещивании формы Мо 755 с формой Мо 556 с тройчатым листом растения F₁ имели листья дикого типа, а в F₂ классическое расщепление 9 : 3 : 4, свойственное явлениям комплементарности и рецессивного эпистаза. При этом ген, контролирующей тройчатый тип листа (*tp*), является эпистатичным по отношению к гену, контролирующему типа листа Мо 755 (табл. 6)

Таблица 6

Наследование типа листа в F₂ поколении гибридной комбинации
Мо 755 x Мо 556

Фенотип	Количество растений, шт.	Ожидаемое отношение	χ^2 факт.	$\chi_{0,05}^2$ теор.
дикий тип	75	9	1,02	5,99
тип “755”	31	3		
тройчатый	36	4		

Данные результаты также свидетельствуют о наличии гена, контролирующего развитие типа листа “755”.

1.4. Наследование типа листа в комбинации скрещивания

Мо 755 x LA 0784

В расщепляющейся популяции F₂ с участием еще одной формы со слабо рассеченным листом – LA 0784 также наблюдалось расщепление 9 : 3 : 4, но в отличие от комбинации скрещивания Мо 755 x Мо 556 в данном случае эпистатичным являлся ген, контролирующий формирование типа листа “755” (табл. 7).

Таблица 7

Наследование типа листа в F₂ поколении гибридной комбинации
Мо 755 x LA 0784

Фенотип	Количество растений, шт.	Ожидаемое отношение	χ^2 факт.	$\chi_{0,05}^2$ теор.
дикий тип	111	9	1,00	5,99
тип “755”	58	4		
тип ”e”	39	3		

Таким образом, полученные данные анализа 6 гибридных комбинаций свидетельствуют о генетическом контроле типа листа формы Мо 755 одним геном, который неаллелен генам, отвечающим за слаборассеченный тип листа – *tp*, *e*. При скрещивании с ними наблюдается взаимодействие доминантных аллелей этих генов по типу комплементарности. Рецессивный аллель, контролирующий тип листа Мо 755, является эпистатичным по отношению к рецессивной гомозиготе *ee*, и гипостатичным по отношению к гомозиготе *tp tp*.

Ген, контролирующий тип листа Мо 755, взаимодействует с генами *Me*, *La* по типу доминантного эпистаза и является гипостатичным.

II. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ СЛАБОРАССЕЧЕННОГО ТИПА ЛИСТА У ФОРМЫ Мо 755

2.1. Наследование типа листа в гибридной комбинации

Мо 755 x Moneymaker

Скрещивание формы Мо 755 с формой с диким типом листа показало рецессивный характер наследования типа листа формы Мо 755. Во втором поколении наблюдалось расщепление на два фенотипических класса – растения с диким типом листа и растения с типом листа Мо 755 в соотношении 3 : 1, что свидетельствует о моногенном характере наследования данного признака (табл. 8).

Таблица 8

Наследование типа листа в F₂ поколении гибридной комбинации
Mo 755 x Moneymaker

Признак	Количество растений, шт.	Ожидаемое отношение	χ^2 факт.	χ^2 теор. 0,05
дикий тип	387	3	1,627	3,84
тип "755"	146	1		

Тип листа формы Mo 755 характеризуется слабой рассеченностью, малым числом сегментов, а также слабой изрезанностью края листа. Ранее у этой формы тип листа отдельно не описывался и данных по наследованию его также не имеется. В то же время полученные данные убедительно свидетельствуют, что тип листа линии Mo 755 контролируется одним геном.

**2.2. Генетическое картирование признака «слаборассеченный лист»
формы Mo 755**

Выше было показано сцепленное наследование гена контролирующего тип листа "755" с геном *Me*, который локализован в хромосоме II. Для картирования использовали гибридные комбинации Mo 755 x Moneymaker и Mo 755 x LA 0715. В качестве маркерных признаки: отсутствие антоциана, карликовый рост и желтую точку роста, гены которых локализованы в хромосоме II имеющиеся линии Mo 755.

**2.2.1. Генетический анализ сцепленного наследования признаков в
комбинации Mo 755 x Moneymaker**

Таблица 9

Частоты rf между парами маркерных локусов в гибридной
комбинации Mo 755 x Moneymaker

Пары локусов	Расстояние по генетической карте	Частоты rf, %	
		$\sqrt{*}$	МП**
<i>aa - wv</i>	41	14.5	9.5
<i>aa - d</i>	20	16.7	14.5
<i>wv - d</i>	29	15.8	13.0
"755" - <i>aa</i>	- ***	14.1	13.0
"755" - <i>wv</i>	- ***	12.0	10.5
"755" - <i>d</i>	- ***	3.8	5.0

Примечание: * - частота rf, рассчитанная методом извлечения квадратного корня из доли двойных рецессивов;

** - частота rf, рассчитанная методом произведений;

*** - данные по генетической карте отсутствуют.

Полученные данные (табл. 9) позволяют сделать следующие выводы. Картофельный тип листа у формы Мо 755 обуславливается не плеiotропным эффектом гена *d* (*dwarf*), а другим, ранее некартированным геном. Этот ген расположен во второй хромосоме вблизи локуса *d*.

2.2.2. Генетический анализ сцепленного наследования признаков в комбинации Мо 755 x LA 0715 (F₁ – “мышинные ушки”)

Таблица 10

Анализ совместного наследования генов *Me* и гена, контролирующего развитие листа типа Мо 755 также показал сцепленный характер.

Пары локусов	Расстояние по ген. карте	Частоты gf, %	
		√ *	МП**
<i>aa - wv</i>	41	8.2	7.5
<i>aa - d</i>	20	23.3	23.5
<i>wv - d</i>	29	28.1	25.0
<i>Me - “755”</i>	- ***	26.9	****
<i>Me - aa</i>	2	5.6	6.0
<i>Me - wv</i>	7	5.6	4.5
<i>Me - d</i>	22	25.7	24.0

Примечание: * - частота gf, рассчитанная методом извлечения квадратного корня из доли двойных рецессивов;

** - частота gf, рассчитанная методом произведений;

*** - данные по генетической карте отсутствуют;

**** - расчет частоты gf, в данном случае методом произведений невозможен.

данный анализ показывает нахождение исследуемого гена в хромосоме II. Местоположение этого гена находится вблизи локуса *d*. Точное определение положения затруднено вследствие взаимодействия генов *Me* и “755” (рис. 1).

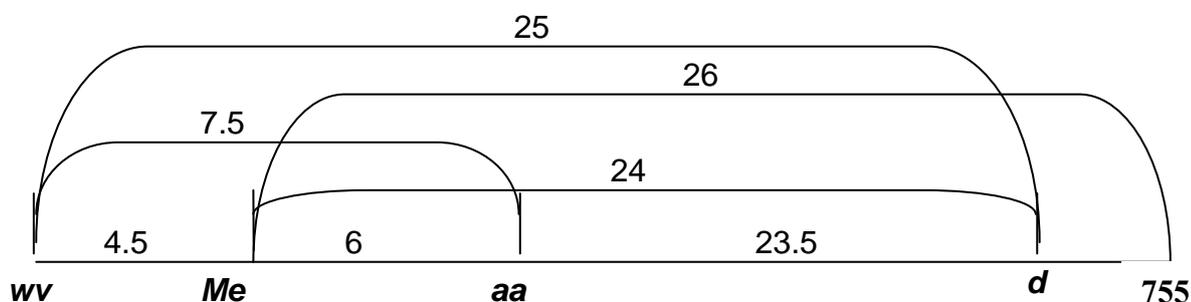


Рисунок 1. Взаимное расположение генов *aa*, *wv*, *d*, «755», *Me* по результатам анализа расщепления F₂ Мо 755 x LA0715 (F₁ – тип листа “мышинные ушки”).

2.2.3. Генетический анализ сцепленного наследования признаков в комбинации Мо 755 x LA 0715 (F1 – дикий тип листа)

Таблица 11

Частоты rf между парами маркерных локусов в гибридной комбинации Мо 755 x LA 0715 (F1 – дикий тип листа)

Пары локусов	Расстояние по ген. карте	Частоты rf, %	
		$\sqrt{*}$	МП**
<i>aa - wv</i>	41	2.2	- ****
<i>aa - d</i>	20	5	12
<i>wv - d</i>	29	11.3	14
“755” – <i>aa</i>	- ***	12	13
“755” – <i>wv</i>	-***	17.6	15.5
“755” - <i>d</i>	-***	10	7.5

Примечание: обозначения такие же в табл. 10.

Для уточнения местоположения гена, контролирующего тип листа у формы Мо 755, были использованы растения, полученные от самоопыления растений F₁ с диким типом листа. В этом случае также оказалось, что ген, контролирующий развитие листа типа Мо755, находится в хромосоме II вблизи локуса *d* (рис. 2).

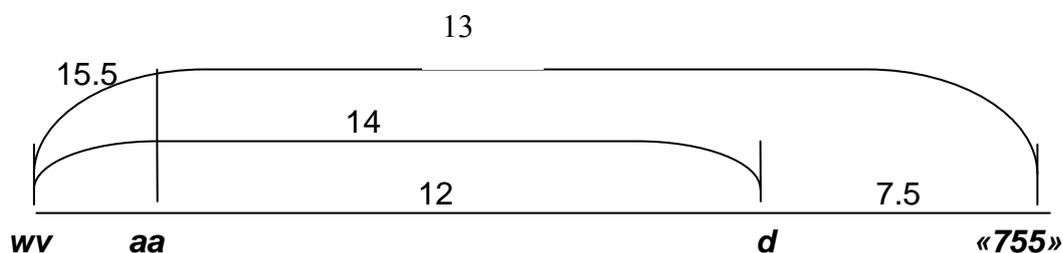


Рисунок 2. Взаимное расположение генов *aa*, *wv*, *d*, «755» по результатам анализа расщепления F₂: Мо755 x LA 0715 (F₁ – дикий тип листа).

III. Влияние регуляторов роста на формирование листа у форм томата, различающихся по типу листа

Характеристика показателей листа при воздействии регуляторов роста и развития растений

Эффекты действия регуляторов роста оценивали по следующим показателям:

1. длина листа;
2. площадь листа;
3. рассеченность листа – число долей, общее число сегментов листа;
4. морфология листа.

3.1. Длина листа

Наиболее существенные отличия от контроля получены на среднем и верхнем листьях у форм Moneymaker, LA 0715, Мо 500. При этом действие гиббереллина в большей степени проявилось на более молодых листьях, что вероятно обусловлено более интенсивным растяжением клеток. В то же время следует отметить, что на линиях Мо 755, Мо 304 и сорте Moneymaker действие фитогормонов не оказало существенного влияния. При этом на линиях LA 0715, Мо 500 и Мо 556 отмечено существенное увеличение длины листа при обработке фитогормонами по сравнению с контролем (табл. 12).

Таблица 12

Влияние фитогормонов на длину листа

Линия	ИУК						ГК						6-БАП					
	Н.		С.		В.		Н.		С.		В.		Н.		С.		В.	
	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05
Мо 319	х	-	х	-	х	↑	х	-	х	-	х	↑	х	-	х	-	х	↑
Moneymaker	-	-	↓	-	-	↑	-	-	-	-	↑	-	-	-	↓	-	-	-
LA 0715	-	-	↓	-	-	↑	↓	-	↓	-	-	↑	-	-	↑	-	↑	↑
Мо 500	-	-	-	-	↑	↑	-	-	-	↑	↑	↑	-	-	↑	↑	↑	↑
Мо 304	х	-	х	-	х	↑	х	↓	х	-	х	-	Х	-	х	↑	х	↑
Мо 556	х	-	х	-	х	↑	х	↓	х	↓	х	-	Х	-	х	↑	х	↑
Мо 755	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х

Примечание:

Н. – нижний из анализируемых листьев; С. – средний; В. – верхний.

х – форма в опыте не участвовала; - - несущественные изменения по сравнению с контролем;

↓ - существенное уменьшение по сравнению с контролем;

↑ - существенное увеличение по сравнению с контролем;

03 – 2003 г.; 05 – 2005 г.

3.2. Площадь листа

Показатели площади листа сильно различались по годам анализа. В 2003 г. отмечено достоверное снижение площади листа при обработке гиббереллином практически по всем линиям и анализированным листьям за исключением верхнего листа. В 2005 г. также отмечена эта закономерность – достоверное уменьшение площади листа по сравнению с контролем практически по всем линиям. В то же время у линии Мо 500 действие гиббереллинов на молодых листьях привело к существенному увеличению площади листа по сравнению с контролем, хотя площадь взрослых листьев не отличалась от контроля (табл. 13).

Влияние фитогормонов на площадь листа у мутаций

Линия	ИУК						ГК						6-БАП					
	Н.		С.		В.		Н.		С.		В.		Н.		С.		В.	
	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05
Мо 319	х	-	х	↑	х	↑	х	-	х	↓	х	-	х	-	х	↑	х	↑
Moneymaker	↓	-	↓	↑	↓	↑	↓	-	↓	↓	-	↓	↓	-	↓	-	↓	↑
LA 0715	-	-	↓	-	↓	↑	↓	-	↓	↓	-	-	-	-	↑	-	↑	↑
Мо 500	-	-	↑	↑	↓	↑	-	-	↓	-	↑	↑	-	-	↑	↑	↑	↑
Мо 304	х	-	х	-	х	↑	х	↓	х	↓	х	↓	х	-	х	↑	х	↑
Мо 556	х	-	х	-	х	↑	х	↓	х	↓	х	-	х	-	х	↑	х	↑
Мо 755	-	х	↑	х	-	х	↓	х	↓	х	-	х	↑	х	-	х	-	х

Примечание: обозначения такие же как и к табл. 12.

3.3. Рассеченность листа – число долей, общее число сегментов листа

Обработки фитогормонами практически не влияли на число долей листа (табл. 14). Изменения чаще наблюдались при обработке гиббереллином, обработка которым, как правило, приводила к достоверному уменьшению числа долек и долек, особенно у форм с сильно рассеченным листом (Moneymaker, LA 0715 и Мо 304). В то же время общее число сегментов на нижнем и среднем анализированных листьях формы LA 0715 при обработке гиббереллином и цитокинином было достоверно выше контроля (табл. 15).

Таблица 14

Влияние фитогормонов на число долей листа

Линия	ИУК						ГК						6-БАП					
	Н.		С.		В.		Н.		С.		В.		Н.		С.		В.	
	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05
Мо 319	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-
Moneymaker	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LA 0715	-	-	-	↑	-	-	↓	-	-	-	↓	-	-	-	-	↑	-	-
Мо 500	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-	↓	↓	-	-	-
Мо 304	х	-	х	-	х	-	х	↓	х	-	х	↓	х	-	х	-	х	-
Мо 556	х	-	х	-	х	-	х	-	х	↓	х	-	х	-	х	↓	х	-
Мо 755	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х

Примечание: обозначения такие же в табл. 12.

Влияние фитогормонов на общее число сегментов листа

Линия	ИУК						ГК						6-БАП					
	Н.		С.		В.		Н.		С.		В.		Н.		С.		В.	
	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05	03	05
Мо 319	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-
Moneymaker	-	-	-	-	-	-	↓	-	↓	↓	-	↓	-	-	-	-	↓	-
LA 0715	-	↑	-	↑	-	-	↓	↑	↓	↑	↓	-	↑	↑	-	↑	-	-
Мо 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-
Мо 304	х	-	х	-	х	-	х	-	х	↓	х	↓	х	-	х	-	х	-
Мо 556	х	-	х	-	х	-	х	↑	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-
Мо 755	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х	-	х

Примечание: обозначения такие же в табл. 12.

3.4. Морфология листа

Анализ влияния регуляторов роста на форму листа показал, что у **LA 0715** обработка ауксином привела к удлинению листовой пластинки и ее меньшей деформации. При обработке гиббереллином сегменты листа заостренные и вытянутые. Обработка цитокинином вызвала увеличение количества долей, которые имели вытянутую форму и были менее закрученными в сравнении с контролем. Данный факт может свидетельствовать об участии цитокинина в инициации заложения долей листа (рис. 3).

На сорте **Moneymaker** различия выявлены только при обработке гиббереллином - сегменты листьев обработанных растений были более узкими, заостренными, потеряли изрезанность и часть долек по сравнению с контролем. У формы **Мо 500** при обработке гиббереллином сегменты листа также приобрели заостренную форму. Действие гиббереллинов на форму **Мо319** также привело к вытягиванию листа. Изменения морфологии листа при обработке гиббереллином на линию **Мо 304** выразились в увеличении рассеченности, заострении сегментов листа.

	Контроль	ИУК	ГК ₃	6-БАП
Верхний				
Средний				
Нижний				

Рисунок 3. Проявление формы листа при действии регуляторов роста у LA 0715

	Mo 304		Moneymaker	
	Контроль	ГК ₃	Контроль	ГК ₃
Верхний				
Средний				
Нижний				

Рисунок 4. Проявление формы листа при действии гиббереллина у линии Mo 304 и сорта Moneymaker.

	Мо 319		Мо 500	
	Контроль	ГК ₃	Контроль	ГК ₃
Верхний				
Средний				
Нижний				

Рисунок 5. Проявление формы листа при действии гиббереллина у линий Мо 319 и Мо 500.

ВЫВОДЫ

1. Слаборассеченный тип листа формы Мо 755 обуславливается не плейотропным эффектом гена *d* (*dwarf*), а другим, ранее некартированным геном, неаллельным генам, отвечающим за слаборассеченный тип листа – *tp*, *e*.
2. Сцепленное наследование признака типа листа формы Мо 755 с признаками карликового роста, желтой точкой роста, и отсутствием антоциана свидетельствует, что ген, отвечающий за данный признак, расположен во второй хромосоме вблизи локуса *d* (*dwarf*).
3. При скрещивании формы Мо 755 с линиями Мо 556, LA 0784 наблюдается взаимодействие доминантных аллелей генов *tp*, *e* и гена, контролирующего тип листа Мо 755, по типу комплементарности. Рецессивный аллель, контролирующий тип листа Мо 755, является эпистатичным по отношению к гомозиготе *ee*, и гипостатичным по отношению к гомозиготе *tptp*. Доминантный аллель гена, контролирующего тип листа Мо 755, взаимодействует с генами *Me*, *La* по типу доминантного эпистаза и является гипостатичным.
4. Экзогенная обработка регуляторами роста приводит к изменению морфологии листьев. Наиболее выраженные эффекты для всех типов мутаций отмечены при применении гиббереллина (ГК₃), которые

- проявляются в виде удлинения листьев, уменьшения числа сегментов, исчезновения зазубренности и снижения площади листьев.
5. Действие регуляторов роста на формах томата с различной рассеченностью листа оказалось разнонаправленным. Не выявлено закономерностей по изменениям показателей листа у форм с нерассеченным, слаборассеченным и сильнорассеченным листьями.
 6. Обработка цитокининами и ауксинами на мутации LA 0715 («мышинные ушки») вызвала увеличение количества долей, которые имели вытянутую форму и были менее закрученными в сравнении с контролем. Выявленный эффект свидетельствует об участии цитокининов и ауксинов в инициации органов листа в примордиях.

Список опубликованных работ по материалам диссертации

1. Новикова Л.А., Ахмед М.Э.С. Наследование типа листа при скрещивании некоторых мутантных форм томата. Материалы 2-й конференции московского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова «Актуальные проблемы генетики». М.: МСХА, 2003, с. 249-250.
2. Новикова Л.А., Ахмед М.Э.С., Комарова Е.А. Наследование типа листа при скрещивании некоторых мутантных форм томата. Материалы 3-го съезда ВОГиС «Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития». том I . М.: 2004, с. 235.
3. Ахмед М.Э.С. Влияние фитогормонов на развитие листа у томата. Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 117-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. «Секция физиологии и защиты растений». Саратов: 2004, с. 4-7.