

*На правах рукописи*

**СОЛОВЬЕВ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ ПРИ ВНУТРИВИДОВОЙ И  
ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И ТРАНСГЕНОЗЕ**

**03.00.15 – генетика,  
06.01.05 – селекция и семеноводство**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Москва 2007

Работа выполнена в Российском государственном аграрном университете – МСХА имени К.А. Тимирязева

Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор **В.А. Пухальский**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, **В.В. Пыльнев**

доктор биологических наук **И.Ф. Лапочкина**

доктор сельскохозяйственных наук **Н.И. Тимин**

Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН

Защита состоится « 31 » мая 2007 г. в \_\_\_\_ час. на заседании диссертационного совета Д.220.043.10 при Российском государственном аграрном университете – МСХА имени К.А. Тимирязева по адресу: 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49.  
Факс: (495)-976-0894

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Н.И. Железнова РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » апреля 2007 г.  
и размещен на сайте <http://www.vak.edu.gov.ru>

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Г.И. Карлов

### **Общая характеристика работы**

**Актуальность проблемы.** Взаимодействие генов – одна из ключевых проблем генетики. Это обусловлено прежде всего тем, что практически каждый признак, не говоря об отдельной ткани, об органе и непосредственно о самом организме – есть результат взаимодействия многих генов. Однако к настоящему времени имеется недостаточно сведений о подобных взаимодействиях. Как правило, взаимодействия генов рассматриваются на отдельных организмах и в достаточно узких направлениях – определение отдельных качественных признаков есть результат взаимодействия неаллельных генов, формирование количественных признаков принимается как результат взаимодействия олиго- или полигенов. Пониженная фертильность и жизнеспособность отдаленных гибридов являются результатом взаимодействия геномов при отдаленной гибридизации. Некоторые эффекты, описываемые как результат взаимодействий, по сути могут быть объяснены эпигенетическими процессами. В то же время на данный момент отсутствует система в подходе к изучению взаимодействий генов, особенно при изучении проявления разных (качественных и количественных) признаков как при внутривидовой, так и отдаленной гибридизации. Все это свидетельствует об актуальности изучения проблемы взаимодействий генов. Особенно это важно при сравнении взаимодействий генов при внутривидовой и отдаленной гибридизации, с учетом разных уровней интрогрессии генетического материала. Развитие современных генно-инженерных технологий и внедрение в практику генетически измененных организмов наряду с вопросами безопасности для человека и окружающей среды требует всестороннего изучения их генетики, особенностей влияния чужеродной ДНК на генетический аппарат модифицированного растения. Требуется тщательный подход к выбору объекта исследований для решения этой актуальной проблемы. В этом плане наиболее подходящими для решения данной проблемы объектами являются томат и тритикале – растения, относящиеся к

разным классам, но в то же время обладающие необходимыми свойствами для изучения взаимодействий генов. В случае томата – классического модельного объекта, важными преимуществами являются наличие большого числа маркерных признаков, возможность получения межвидовых гибридов и форм с наличием хромосомных дополнений, а также наличие генетически измененных форм. Тритикале – первая синтезированная человеком сельскохозяйственная культура, является уникальным объектом ввиду эволюционной молодости, генетического становления и возможностей хромосомной инженерии: создания форм с замещениями, транслокациями, дополнениями хромосом. Взаимодействие генов может проявляться в виде разных эффектов. Это не только статистические расщепления, но и эффекты в виде появления новых вариантов признаков, нарушений и стабилизации мейотического деления – одного из основных генетически обусловленных и важных механизмов. Исследование взаимодействий генов имеет важное фундаментальное значение, связанное прежде всего с пониманием генетических механизмов формирования признаков и их проявления в онтогенезе. Кроме того, решение проблем взаимодействия генов имеет важное практическое значение – при установлении природы взаимодействий генов возможно регулирование получения ожидаемых признаков, особенно хозяйственно ценных, путем подбора пар для скрещиваний. Для решения этой проблемы необходима тщательная идентификация исследуемого материала, которая требует использования не только классических, но и современных молекулярно-генетических и цитогенетических методов.

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящего исследования состояла в проведении комплексного анализа эффектов взаимодействий генов при внутривидовой и межвидовой гибридизации и трансгенозе у представителей двух классов растений – тритикале и томата, с использованием форм с разной долей интрогрессий чужеродного генетического материала и

проведением тщательной его идентификации. В соответствии с этим были сформулированы следующие задачи:

1. С использованием генетических коллекций томата и тритикале провести сравнительную оценку наследования признаков при внутривидовой и отдаленной гибридизации.
2. Выявить особенности проявления и наследования качественных и количественных признаков у тритикале при наличии хромосомных замещений и без них.
3. Разработать модель взаимодействия генов при формировании и развитии листа томата.
4. Установить характер проявления цитогенетической стабилизации у первичных тритикале в ряду поколений и ее связь с формированием признаков, определяющих продуктивность.
5. Исследовать цитогенетические эффекты моносомных дополнений в виде отдельных хромосом *S. lycopersicoides* и их влияние на наследование морфологических признаков.
6. Выявить эффекты взаимодействий трансгена с геномом генетически модифицированного растения на примере Ds-элемента кукурузы у культурного томата.
7. Сопоставить эффекты взаимодействий генов на проявление и наследование качественных и количественных признаков у тритикале и томата с разной долей интрогрессий чужеродного генетического материала.

**Научная новизна и практическая значимость.** Впервые проведено комплексное исследование эффектов взаимодействий генов при внутривидовой гибридизации, в присутствии чужеродных интрогрессий в виде трансгена, транслокации, замещения хромосомы, дополнения хромосомы, и наличия целого генома (в случае амфидиплоидов).

Впервые выявлен эффект 2R/2D-замещения на наследование высоты растений и длины главного колоса у

тритикале, проявляющийся в появлении в потомстве большего количества низкорослых форм с более мощным колосом.

Впервые показано, что наличие в геноме тритикале замещения 2B/2D и транслокации 2RS.2RL-2BL обладает эффектами на проявление признаков, сходными с эффектами 2R/2D-замещения.

Присутствие в геноме замещения или транслокации влияет на наследование признаков, локализованных в данной хромосоме, но может не оказывать влияния на признаки, локализованные в других хромосомах.

Показано, что качественные признаки – проявление опушения колоса и воскового налета на растении у тритикале контролируются взаимодействием генов. Типы взаимодействий генов различны в разных комбинациях скрещиваний.

Получены новые данные, показывающие, что стабилизация первичных тритикале, проявляющаяся в цитогенетической стабильности зависит от генотипа участвовавших в скрещиваниях родительских форм пшеницы и ржи.

Впервые показано, что транслокация 2RS.2RL-2BL и 2B/2D-замещение вызывают укорочение вегетационного периода и снижение высоты растения.

Впервые установлено, что для изучения хромосомного состава тритикале удобным объектом являются гибриды F<sub>1</sub> тритикале × рожь.

Эффекты взаимодействий генетической системы культурного томата и *Solanum lycopersicoides* проявляются в виде нарушений мейотического деления и наследования признаков. Разные дополненные хромосомы *S. lycopersicoides* обладают разными эффектами на поведение в мейозе хромосом культурного томата.

Впервые выявлено, что интрогрессия в геном культурного томата методом генной инженерии Ds-элемента кукурузы вызывает нарушения процессов митоза и мейоза. В гемизиготном состоянии трансгена, у гибридов F<sub>1</sub> с участием трансгенных форм

приводит к достоверному повышению частоты нарушений в мейотическом делении.

Впервые установлены факты плейотропного действия гена *Lanceolata*, проявляющиеся в пониженной жизнеспособности гомозиготы по этому гену и в аномальном развитии апикальных меристем.

На основании данных генетического анализа показано, что гены, ответственные за разные морфологические типы листа, взаимодействуют между собой и при развитии листа включаются поэтапно. На первом этапе – фактически на стадии закладки меристем, начинает работать ген *Lanceolata*. После него, но уже непосредственно при закладке листа включаются мутации *c*, *tp*, *e*, *Me*.

Результаты диссертационной работы используются при чтении курсов по цитологии, методам цитогенетики, генетике, генетическому анализу, генетике онтогенеза с основами эмбриологии растений. Данные настоящей работы вошли в учебные пособия «Цитология и цитогенетика растений», «Практикум по цитологии и цитогенетике растений», «Генетика», «Генетический анализ», «Задачник по генетике», рабочие тетради для лабораторно-практических занятий и самостоятельной работы по цитологии, по генетике, по методам цитогенетики. Полученные данные и обобщения следует учитывать в селекционно-генетической работе при подборе пар и планировании скрещиваний, при постановке исследований с интрогрессионными линиями, с линиями с дополнениями, с замещениями хромосом и при работе с амфидиплоидами.

**На защиту выносятся следующие положения:**

1. Стратегия идентификации чужеродного генетического материала с использованием комплекса цитогенетических и молекулярно-генетических методов.
2. Взаимодействия генов в определении цитогенетической стабильности тритикале.

3. Эффекты 2R/2D-замещения на длину вегетационного периода, высоту растения, длину колоса.
4. Эффекты чужеродного генетического материала в виде трансгена, транслокации, замещения или дополнения хромосомы и генома на проявление признаков.
5. Тритикале-ржаные гибриды как объект для эффективной идентификации ржаных хромосом методом дифференциального окрашивания.
6. Формирование листа томата как результат взаимодействия генов.

**Апробация работы.** Основные результаты работы были представлены на 1 съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Саратов, 1994), Пятой Международной конференции по селекции, семеноводству и экологии нетрадиционных культур (Алушта, 1996), Международной конференции по генетике и молекулярно-генетическим маркерам растений и животных (Киев, 1996), Втором Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Пушино, 1997), Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые – возрождению сельского хозяйства России в 21 веке» (Брянск, 1999), Международной научно-практической конференции «Селекция и семеноводство в 21 веке» (Москва, 2000), Fifth International Solanaceae Conference (Nijmegen, 2000), научной конференции «Памяти Грегора Менделя» (Москва, 2001), Second International Iran and Russia Conference «Agriculture and Natural Resources» (Moscow, 2001), Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Биотехнология – возрождению сельского хозяйства России в XXI веке» (Санкт-Петербург, 2001), конференции молодых ученых, посвященной 115-летию со дня рождения Н.И. Вавилова (Саратов, 2002), научной генетической конференции (Москва, 2002), 2-й конференции МОГИС им. Н.И. Вавилова «Актуальные проблемы генетики» (Москва, 2003), International ISHS Symposium on Managing Greenhouse Crops In

Saline Environment (Pisa, 2003), V съезде Общества физиологов растений России и международной конференции «Физиология растений – основа фитобиотехнологии» (Пенза, 2003), 3 съезде ВОГиС «Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития» (Москва, 2004), Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 117-й годовщине со дня рождения Н.И. Вавилова (Саратов, 2004), V Международном совещании и Школе молодых ученых по кариологии, кариосистематике и молекулярной систематике растений «Кариология, кариосистематика и молекулярная филогения растений» (Санкт Петербург, 2005), конференциях преподавателей и сотрудников РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева 1993-2006 гг.

**Связь работы с крупными научными программами.** Отдельные разделы работы выполнены в рамках программы “Интеграция науки и высшего образования” Минобразования РФ и РАН УНЦ “Экология и биоресурсы” совместно с лабораторией ДНК-диагностики ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, а также в рамках грантов РФФИ № 00-04-49561 “Молекулярно-цитогенетическое изучение поведения 2-й гомеологичной хромосомы *Solanum lycopersicoides* в мейозе моносомно дополненной линии томата *Lycopersicon esculentum*” и № 03-04-48878 “Использование бактериального *recA*-гена для увеличения генетической изменчивости” совместно с ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии.

**Публикации.** Материалы диссертационной работы опубликованы в 33 печатных работах, включая 7 – в изданиях, рекомендованных ВАК, 7 учебно-методических изданий.

**Личный вклад соискателя.** Экспериментальные результаты получены автором лично и совместно с коллегами из центра молекулярной биотехнологии, кафедры физиологии растений, а также с аспирантами и студентами, работавшими под руководством диссертанта. Соискателю принадлежат разработка стратегии и программы исследования, схемы основных экспериментов и теоретическое обобщение полученных

результатов. Автор выражает глубокую благодарность научному консультанту д.б.н., профессору В.А. Пухальскому, а также сотрудникам кафедры генетики, центра молекулярной биотехнологии, аспирантам и студентам, которые принимали участие в выполнении экспериментов и обсуждении результатов.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 322 стр. машинописного текста, включает 33 таблицы, 62 рисунка, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, предложений для селекционной практики, списка литературы, включающего 637 отечественных и зарубежных источников.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Экспериментальная работа выполнена в 1994-2007 годах на кафедре генетики и центре молекулярной биотехнологии Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева. Опытные посевы проводили на полях и в теплице полевой опытной и селекционной им. П.И. Лисицына станции.

Для проведения исследования использовали генетические коллекции томата, тритикале кафедры генетики РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, а также образцы мягкой и твердой пшениц, ржи и некоторых видов – близких дикорастущих сородичей культурного томата. Среди образцов тритикале использовали формы из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова, а также линии первичной и вторичной тритикале, с замещениями и транслокацией, созданные соискателем. Для исследований, выполненных на томате, в дополнение к образцам из коллекции кафедры использовали также материал, любезно предоставленный центром генетических ресурсов томата (Калифорнийский Университет, США), включая расщепляющиеся популяции дополненных линий с хромосомами *Solanum lycopersicoides*.

Наблюдения, учеты и анализы проводили согласно методическим указаниям ВИРа по изучению мировой коллекции пшеницы (1983) и указаниям UPOV (1989).

Цитологические анализы проводили по стандартным методикам давленных и постоянных препаратах митотических и мейотических хромосом (Пухальский и др., 2004). Изучение хромосомного состава линий тритикале проводили с использованием С-метода дифференциального окрашивания по методике, разработанной в лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии РАН (Бадаев и др., 1983; Badaeva et al., 1990) с некоторыми модификациями.

Выделение ДНК осуществляли из этиолированных проростков тритикале, пшеницы, ржи и из молодых листьев сеянцев томата по стандартным методикам (Van der Beek et al., 1991; Fulton et al., 1995).

Таблица 1

Характеристика маркеров, использованных на тритикале и томате

Культур а	Маркер	Локализац ия	Культур а	Маркер	Локализац ия
Тритика ле	Xbarc27 1	1DL	Тритика ле	Xbarc1 10	5DL
Тритика ле	Xbarc22 8	2DL	Тритика ле	Xbarc9 6	6DL
Тритика ле	Xgwm34 9	2DL	Тритика ле	Xbarc5 3	7DL
Тритика ле	Xgwm53 9	2DL	Томат	TG91	II
Тритика ле	Xgwm30 1	2DL	Томат	TG361	II
Тритика ле	Xbarc27 0	3DL	Томат	TG608	II
Тритика ле	Xbarc11 83	4DL	Томат	CT113	XI

Для выявления чужеродного генетического материала использовали SSR- и CAPS-маркеры, специфичные для отдельных хромосом тритикале и томата (табл. 1).

Праймеры синтезированы в ЗАО «Синтол», Москва. Условия ПЦР специфичны для каждого из маркеров (Röder et al., 1998; Alpert, Tanksley, 1996; Canady et al., 2005; Bai et al., 2004). В случае CAPS-маркеров рестрикцию ампликонов осуществляли с использованием рестриктаз – Dra I, Apo I, Mbo I. Детекцию полученных результатов проводили в 2% агарозном геле.

Гибридизацию *in situ* осуществляли по стандартной методике (Карлов и др., 1999) с некоторыми модификациями.

Форму листа у растений томата оценивали по пятому-шестому листу на стадии восьми настоящих листьев (Coleman, Greyson, 1976; Kessler et al., 2001).

Генетический анализ наследования признаков, определение числа генов, контролирующих развитие признака, характер их взаимодействий проводили с использованием критерия  $\chi^2$  при помощи программ «AGROS 2.11» (Мартынов, 2000) и «Полиген А» (Мережко, 2005). Статистические показатели и достоверность различий оценивали по Доспехову (1985) с использованием пакетов программ «AGROS 2.11» и «MS Excel 2003».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Взаимодействия генов при интрогрессии генома

Отдаленная гибридизация является основой для интрогрессии ценных признаков одних видов в другие и служит для расширения генетического разнообразия. Важным аспектом ожидаемого успеха является тщательная проработка материала и изучение возможных взаимодействий между геномами родительских форм при гибридизации. В работе использовали пшенично-ржаные амфидиплоиды, гибриды *Lycopersicon esculentum* × *Lycopersicon hirsutum*, тритикале-ржаные гибриды разных поколений.

### **1.1. Идентификация чужеродного генетического материала у отдаленных гибридов**

При работе с отдаленными гибридами важное значение приобретает выявление генетического материала участвовавших родительских форм и установление гибридности. В качестве основных методов идентификации гибридов используются геномная гибридизация *in situ*, дифференциальное окрашивание хромосом, молекулярно-генетическое маркирование, использование морфологических маркеров, подсчет числа хромосом в случае видов с разным числом хромосом, характеристика конъюгации хромосом в профазе I – метафазе I, фертильность пыльцы. Для идентификации тритикале, как аллополиплоидов, полученных гибридизацией с последующим колхицинированием, использовали все перечисленные методы. При работе с ранними поколениями гибридов использовали классические методы цитологического анализа числа хромосом и конъюгации в мейозе. В качестве примера гибридизации *in situ* на рис. 1, 4, 6 представлены результаты геномной гибридизации *in situ*, выполненной на метафазных хромосомах замещенной линии, линии с транслокацией и гибриде F<sub>1</sub> тритикале × рожь, которые позволяют идентифицировать хромосомы геномов ржи и пшеницы. Примером конъюгации хромосом у гибридов F<sub>1</sub> могут служить фотографии метафазы I и анафазы I, представленные на рис. 2.

### **1.2. Стабильность мейотического деления как результат проявления взаимодействия генов у отдаленных гибридов**

Стабильность мейотического деления является определяющим фактором в формировании плодовитости отдаленных гибридов. На основе конъюгации хромосом основан метод геномного анализа. Конъюгация хромосом – важный критерий для определения родства геномов, выявления

возможностей интрогрессии генетического материала одного вида в другой.

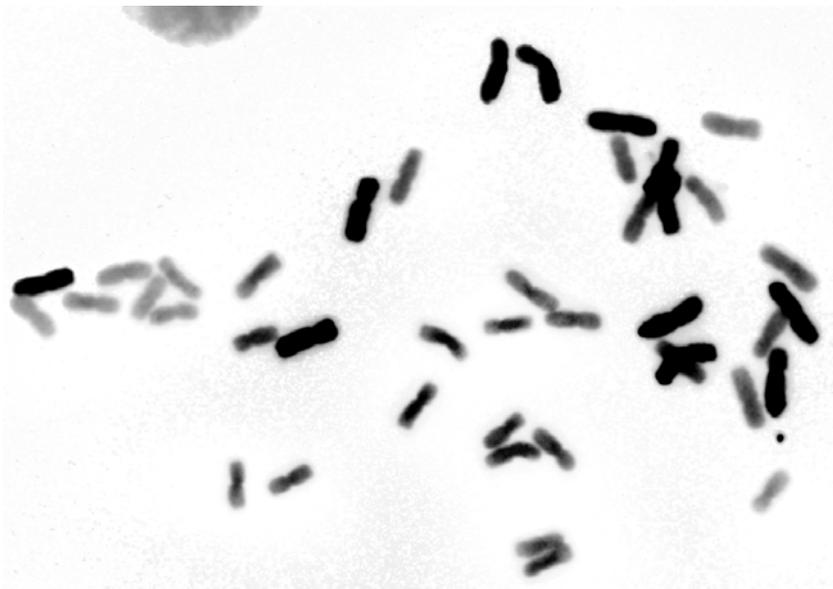


Рис. 1. Геномная гибридизация *in situ* на метафазной пластинке хромосом линии гексаплоидной тритикале с замещением. Светлые – 30 хромосом пшеницы, темные – 12 хромосом ржи.

### **1.2.1. Стабилизация мейоза у пшенично-ржаных амфидиплоидов**

Пшенично ржаные гибриды являются стерильными. Отмечено лишь несколько фактов завязывания семян у таких растений. Это связано с практически полным отсутствием конъюгации хромосом пшеницы и ржи. У первичных тритикале первоначально также наблюдается высокая стерильность. В процессе отбора удается создать формы тритикале с регулярным мейозом и высокой фертильностью пыльцы. Стабилизация мейоза первичных форм тритикале зависит от генотипа использованных

форм пшеницы и ржи. Примером служат данные, полученные нами при оценке мейотического индекса в двух гибридных комбинациях. У первичных тритикале, полученных от скрещивания мягкой пшеницы сорта Воронежская с яровой рожью Селенга, мейотический индекс составил 76,9% уже в  $C_2$ -поколении. В другой комбинации скрещивания мягкой пшеницы сорта Саратовская 55 с яровой рожью Селенга в  $C_5$ -поколении этот показатель составил лишь 51,3%. Таким образом, удвоение числа хромосом является необходимым, но не единственным условием получения высоко фертильных первичных тритикале. Важным является генотип скрещиваемых форм, т.е. взаимодействие геномов скрещиваемых форм.

Повышение фертильности первичных форм тритикале зачастую достигается скрещиванием с вторичными формами, имеющими стабильный мейоз. Однако и при скрещивании линий тритикале между собой зачастую проявляются затруднения. Нами показано, что завязываемость гибридных зерен зависит от хромосомного набора скрещиваемых форм. При скрещивании форм одного уровня пloidности, но с разным количеством ржаных и пшеничных хромосом наблюдается низкая завязываемость гибридных зерен. Так, мейотический индекс при скрещивании форм тритикале без замещений с формами с замещениями хромосом составляет до 40% в то время как при скрещивании форм с одинаковыми по составу наборами хромосом мейотический индекс, как правило, выше 60%. Таким образом, нами установлено, что процент завязываемости, полученный в оптимальных для завязывания семян условиях, может служить косвенным показателем для выявления комбинаций скрещиваний с участием формами с разными по качественному составу наборами хромосом. Стабилизация мейотического деления у тритикале зависит от генотипа скрещиваемых форм. Мейотический индекс и процент завязываемости гибридных семян могут служить косвенными оценками хромосомного состава скрещиваемых форм.

### 1.2.2. Стабилизация мейоза у гибридов

#### *L. esculentum* × *L. hirsutum*

В отличие от пшеницы и ржи, являющихся достаточно удаленными формами, большинство видов рода *Lycopersicon* Tourm. (в настоящее время этот род зачастую относят к роду *Solanum*) обладают достаточно высокой скрещиваемостью между собой. Одним из наиболее показательных скрещиваний является создание гибридов *L. esculentum* × *L. hirsutum*. Этот гибрид многократно был получен разными исследователями и имеет примеры практического применения. Объяснением интрогрессий ценных признаков является высокий уровень конъюгации хромосом. В то же время неоднократно были показаны и ограничения в возможностях использования этих гибридов для передачи ценных признаков в культурный томат. Нами установлено, что причиной тому служат нарушения, наблюдаемые в мейотическом делении. Цитологический анализ мейоза гибрида первого поколения подтвердил предположения о наличии нарушений в метафазе I: при преобладании бивалентной конъюгации наблюдалась пониженная частота хиазообразования. В целом же конъюгация хромосом гибрида F<sub>1</sub> ниже, чем у родителей. Более чем в 41% клеток наблюдалась хотя бы два унивалента. При этом наибольшее число унивалентов составило 14 на клетку, но доля таких клеток была лишь 0,24%.

Процент клеток, в которых количество унивалентов было 8 и выше оказался также невысоким – 1,92%. Необходимо отметить, что всего среди 822 изученных клеток встретилось 36 вариантов сочетаний разного числа унивалентов, открытых и закрытых бивалентов. Частота образования хиазм составила в среднем 17,08 хиазм на клетку. Таким образом, несмотря на высокую гомологию геномов этих видов, наблюдающийся высокий процент клеток с аномалиями в мейозе свидетельствуют о взаимодействиях генетических систем скрещиваемых видов.

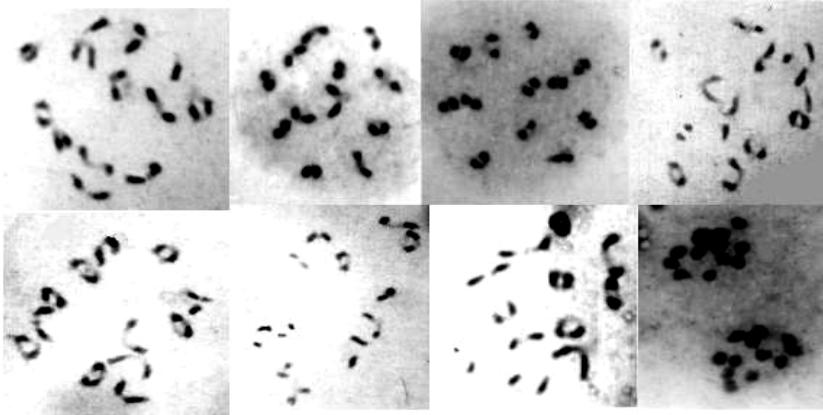


Рис. 2. Метафазные пластинки и анафаза I (внизу крайний справа) мейоза гибрида  $F_1$  *L. esculentum*  $\times$  *L. hirsutum*.

Анализ наследования признаков в последующих поколениях показал, что большинство морфологических признаков наследуются в соответствии с менделевскими закономерностями. В то же время отмечено усиление проявления некоторых признаков, что может служить результатом взаимодействия генов. Так, по признаку «сложная кисть» отмечено формирование увеличенного числа бутонов и цветков.

Полученные данные о прохождении мейотического деления и проявления признаков свидетельствуют, что, несмотря на высокую гомологию геномов у гибридов, взаимодействия генетических систем скрещиваемых видов проявляются в высокой доле материнских клеток пыльцы с унивалентами и модификации проявления генов исходных видов.

### **1.2.3. Взаимодействие геномов и формирование цитологической стабильности у тритикале-ржаных гибридов**

Гибриды тритикале с рожью могут быть использованы для создания тетраплоидных форм и форм с различными

хромосомными вариантами. В геноме тритикале-ржаного гибрида содержится полный набор хромосом генома ржи и одинарные наборы хромосом геномов А и В пшеницы. Скрещивания тритикале с рожью, как правило, отмечаются низкой завязываемостью и жизнеспособностью гибридных зерновок.

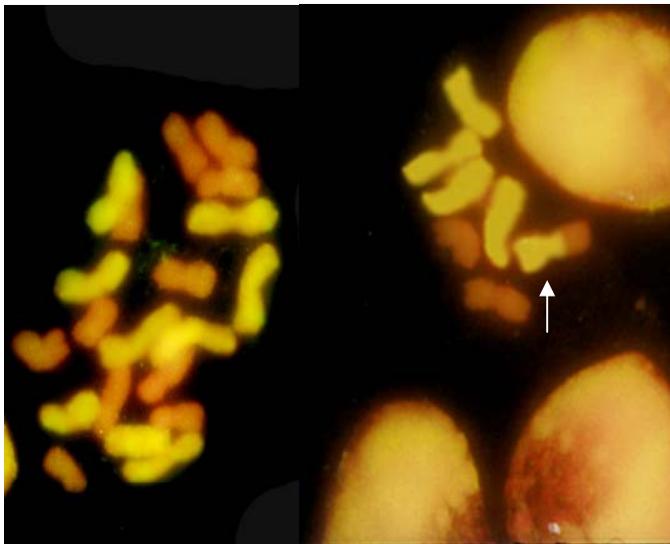


Рис 3. Геномная гибридизация *in situ* метафазных хромосом тритикале-ржаного гибрида F<sub>1</sub>. Темные – хромосомы пшеницы, светлые – хромосомы ржи. Стрелкой отмечена транслоцированная хромосома.

При использовании в скрещиваниях с тритикале форм ржи, участвовавших в создании данной тритикале, завязываемость повышается в несколько раз и составляет, как в случае в комбинации скрещивания тритикале линия 131/7 × рожь сорт Селенга выше 50%. Метафазная пластинка митотических хромосом тритикале-ржаного гибрида представлена на рис. 3. Несмотря на высокую завязываемость гибридных семян этих скрещиваниях, у растений гибридов F<sub>1</sub> наблюдается высокий процент нарушений мейотического деления. Мейотический индекс у тритикале-ржаных гибридов составил от 1,5 до 4,6% в

зависимости от комбинации скрещивания. В то же время у гибридов отмечена высокая частота образования бивалентов с участием ржаных хромосом (рис. 4). По морфологическим признакам тритикале-ржаные гибриды больше сходны с рожью. Это свидетельствует, что увеличение доли генетического материала ржи приводит к усилению проявления признаков ржи. В виду меньшего числа хромосом такие гибриды оказались удачными для определения хромосомной конституции тритикале, вовлеченных в скрещивание.

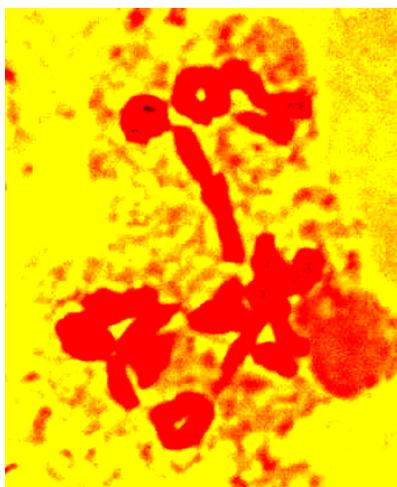


Рис. 4. Метафазная пластинка мейотических хромосом тритикале-ржаного гибрида  $F_1$ .

Наряду с геномной гибридизацией *in situ* генетический материал генома D-пшеницы использовали молекулярные SSR-маркеры. Пример доказательства наличия генетического материала хромосомы 2D представлен на рис. 6.

Таким образом, тритикале-ржаные гибриды являются удобной моделью для изучения хромосомного состава, идентификации ржаных хромосом у тритикале, а также для изучения экспрессии ржаных генов.

## **2. Взаимодействие генов при интрогрессии отдельных хромосом**

В большинстве работ, выполненных с использованием замещенных или дополненных линий, основной задачей является изучение передачи (наследования) этой хромосомы и / или интрогрессии отдельных признаков. В настоящей работе рассмотрены механизмы наследования признаков в присутствии интрогрессий в виде отдельных хромосом: замещения хромосомы ржи в геноме тритикале на хромосому D-генома пшеницы и дополнения в геном культурного томата отдельных хромосом *S. lycopersicoides*.

### **2.1. Идентификация чужеродных хромосом в дополненных и замещенных линиях**

При работе с формами растений, имеющими чужеродные хромосомы в виде замещений и дополнений, требование к идентификации таких хромосом является необходимым. Также как и при работе с отдаленными гибридами для выполнения этой работы могут быть применены разные методы. Для выявления замещения и транслокации хромосом в настоящей работе использовали методы дифференциального С-окрашивания, геномной гибридизации *in situ* (GISH) и молекулярного маркирования. На рис. 4 представлена метафазная пластинка хромосом замещенной линии тритикале.

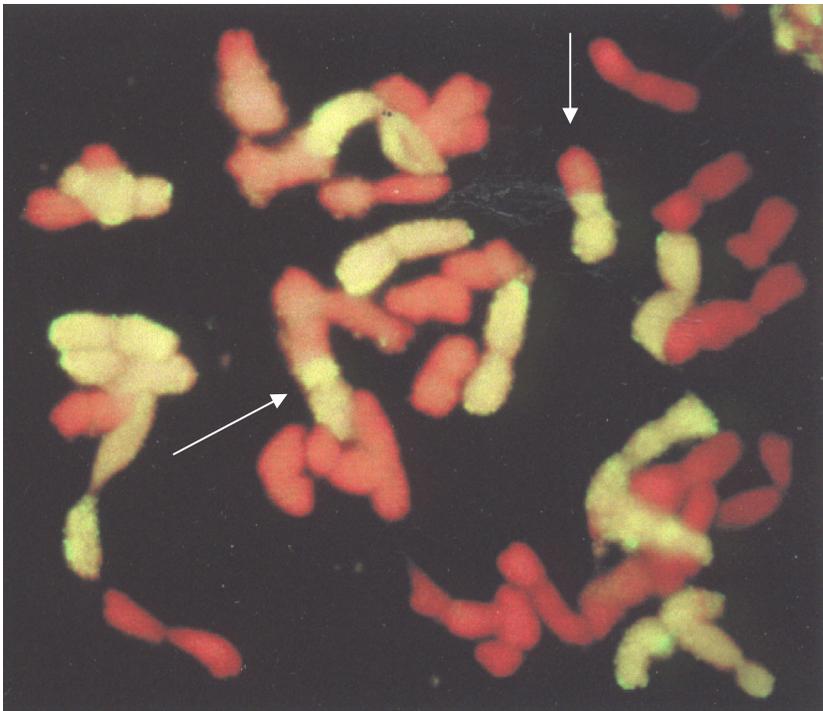


Рис. 5. Геномная гибридизация *in situ* линии яровой тритикале 131/7. Светлые – хромосомы ржи, темные – хромосомы пшеницы. Стрелками обозначены транслоцированные хромосомы.

Для идентификации хромосомы использовали метод молекулярного маркирования с использованием маркеров, специфичных для всех хромосом D-генома пшеницы. Стратегия идентификации генетического материала D-генома была разработана нами на примере транслоцированной линии 131/7. Были подобраны микросателлитные (SSR) маркеры, специфично локализованные на каждой из хромосом D-генома. На рис. 6 представлены результаты электрофоретического разделения продуктов ПЦР маркера Xgwm349, специфичного для длинного плеча хромосомы 2D.

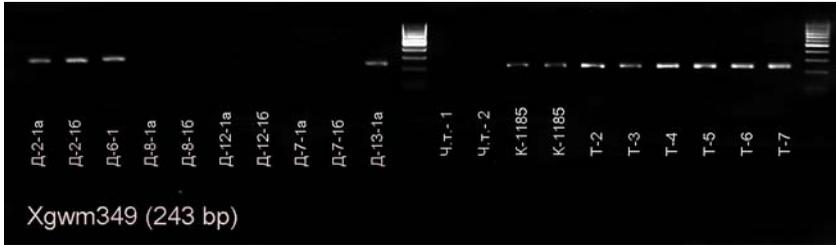


Рис. 6. Результаты ПЦР-амплификации с использованием маркера Xgwm349. Д-2-1а, Д-2-1б – мягкая пшеница сорт Иволга; Д-6-1 – октаплоидная тритикале линия ПРАО-1; Д-8-1а, Д-8-1б – гексаплоидная тритикале линия 131/16; Д-12-1а, Д-12-1б – твердая пшеница сорт Безенчукская янтарная; Д-7-1а, Д-7-1б – твердая пшеница линия IG-82775; Д-13-1а – гибрид F<sub>1</sub> тритикале линия 131/7 × рожь сорт Селенга; Ч.т.-1, Ч.т.-2 – гексаплоидная тритикале линия к-1242; к-1185 – линия гексаплоидная тритикале с 2D/2R замещением; Т-2, Т-3, Т-4, Т-5, Т-6, Т-7 – отдельные образцы гексаплоидной тритикале линии 131/7.

Полученные результаты свидетельствуют о присутствии генетического материала хромосомы 2D в образцах мягкой пшеницы, октаплоидной тритикале, имеющих полный набор хромосом D-генома, в линии к-1185, имеющей 2R/2D-замещение, а также в линии тритикале 131/7 и гибриде с ее участием. В отрицательных контролях – ржи и твердой пшенице этот маркер отсутствует. Для уточнения полученных результатов были подобраны дополнительно еще два микросателлитных маркера, специфичных для длинного плеча 2D хромосомы – Xgwm539 и Xgwm301. Как следует из рис. 8 продукты амплификации обоих маркеров присутствуют в транслоцированной линии 131/7, а также в мягкой пшенице, в то же время они отсутствуют в образцах ржи, твердой пшенице и тритикале линии 1242, имеющей полный набор хромосом R-генома.

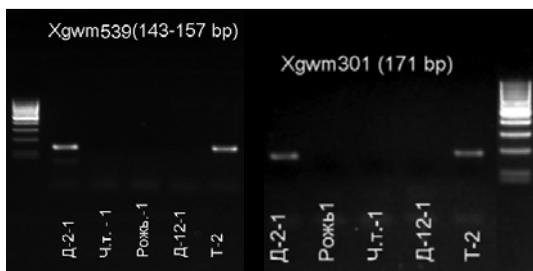


Рис. 7. Результаты ПЦР-амплификации с использованием маркеров Xgwm539 и Xgwm301. Д-2-1 – мягкая пшеница сорт Иволга; Д-12-1 – твердая пшеница сорт Безенчукская янтарная; Ч.т.-1 – гексаплоидная тритикале линия к-1242; рожь-1 – яровая рожь сорт Селенга; Т-2 – гексаплоидная тритикале линия 131/7.

Таблица 2

Проявление маркеров, специфичных для хромосомы 2D, в отобранных линиях тритикале

№ п/п	Образец (культура, линия)	Маркеры, специфичные для хромосомы 2D		
		Xgwm349	Xbarc228	Xgwm301
1	тритикале Л 8-1	1	1	1
2	тритикале Л 12	1	1	1
3	тритикале Л 26	1	1	1
4	тритикале Л 8-3	1	1	0
5	тритикале Л 8-4	1	1	0
6	тритикале Л 8-6	1	1	0
8	тритикале к-1185	0	1	0
9	пшеница Иволга	1	1	1
10	рожь Селенга	0	0	0

Примечание: 1 – имеется продукт амплификации, 0 – амплификация отсутствует.

Разработанная стратегия была использована для выявления генетического материала D-генома в селекционных образцах яровой тритикале, созданных на кафедре генетики РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Анализ 13 линий яровой тритикале показал, что у 6 линий имеется генетический материал хромосомы 2D. Уточнение присутствия хромосомы 2D выполнено с применением дополнительных маркеров на эту хромосому (табл. 2). Генетического материала других хромосом D-генома не выявлено.

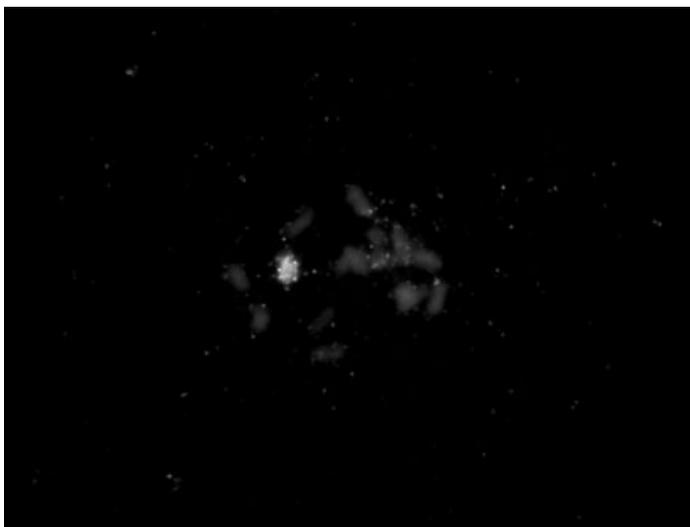


Рис. 8. Геномная гибридизация *in situ* хромосом моносомно дополненной линии томата с хромосомой II *S. lycopersicoides* (окрашена светлым цветом) в метафазе I мейотического деления.

Для идентификации дополненных линий томата с хромосомами *S. lycopersicoides* применяли методы флуоресцентной и геномной гибридизации *in situ* (FISH и GISH соответственно). Примеры идентификации хромосомы *S. lycopersicoides* с использованием геномной гибридизацией *in situ* у моносомно дополненных растений представлен на рис. 8. Показано образование тривалента между хромосомами культурного томата и хромосомой *S. lycopersicoides*. Наличие

хромосомы II в геноме томата может быть определено с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Это было показано для моносомно дополненных линий с хромосомой II *S. lycopersicoides*.

## **2.2. Сравнительный анализ наследования признаков у полнокомплектных форм и с 2R/2D-замещением**

Одним из наиболее распространенных замещений, встречающихся у тритикале является 2R/2D замещение. Это обусловлено, прежде всего, наличием в хромосоме 2D генов, детерминирующих более высокую адаптивность таких форм. В то же время практически отсутствуют данные по влиянию этого замещения на наследование признаков при вовлечении его в скрещивания. Для изучения эффектов 2R/2D замещения проведен генетический анализ наследования признаков высота растения, длина колоса, проявление опушения колоса, проявление воскового налета в комбинациях с участием замещенных форм. Контролем служили комбинации скрещиваний между формами без замещений. Выявлено изменение характера распределения растений по признаку высота растения при использовании замещенных форм в сравнении с гибридами между полнокомплектными формами. Так в случае использования в скрещиваниях полнокомплектных форм наблюдается распределение растений по высоте и длине главного колоса близкое к нормальному (рис 9, рис. 10).

Анализ наследования признака длина главного колоса в комбинациях скрещиваний между полнокомплектными формами тритикале показало, что признак контролируется двумя генами ( $\chi^2_{\text{ф}}=0,20$ ). В то же время генетический контроль этого признака при скрещивании с участием форм с 2R/2D-замещением выявил, что наряду с доминированием присутствуют эпистатические эффекты. Сходные эффекты выявлены и при изучении линии тритикале 131/7, несущей транслокацию 2RS.2RL-2BL и 2B/2D-замещение.

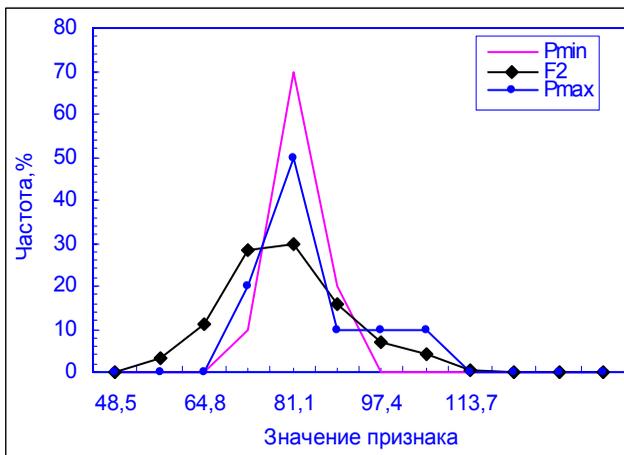


Рис. 9. Распределение растений в F<sub>2</sub> по высоте растений в комбинации скрещивания между формами тритикале без замещений к-340 × к-1242.

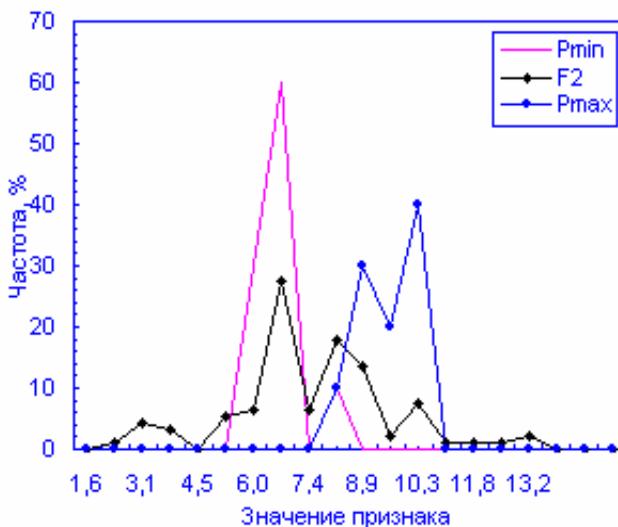


Рис. 10. Распределение растений в F<sub>2</sub> по длине главного колоса в комбинации скрещивания между полнокомплектными формами к-340 × к-1242.

Наследование признаков у тритикале является результатом взаимодействия генов. Примерами этого могут служить результаты наследования признаков высоты растения, длины главного колоса, проявления опушения и воскового налета (рис. 9-10, табл. 3).

Таблица 3

Наследование признака опушения колоса у тритикале

№п п	Комбинация скрещивания	Расщепление		$\chi^2$	Гипотеза
		Факт.	Ожид.		
1	к-1242 × к-678х	144:84	162:94	0,001	четыре гена: один основной, и любые два из трех комплементарно дубликатных
2	к-1242 × к-1185	276:184	162:94	2,131	
3	к-1242 × к-1131	78:31	162:94	3,215	
4	Суммарное расщепление	498:299	162:94	5,348	

Оценка разнородности расщеплений показала незначимые различия между расщеплениями ( $\chi^2$  для разнородности составил 5,13 при числе степеней свободы  $df=2$ ).

Таким образом, генетический контроль признаков тритикале осуществляется эпистатическими и комплементарными взаимодействиями генов.

### 2.3. Оценка селекционных номеров, созданных на основе гибридизации с линиями с 2R/2D-замещением

В результате отбора из ранних поколений были отобраны линии, характеризующиеся сочетанием ценных признаков, из которых 25 доведены до 8 поколения. Интегральная оценка элементов продуктивности растений с применением селекционных индексов показала, что наиболее интересными являются линии Л-8, Л-9, Л-10, Л-12, Л-13, Л-14, Л-15, Л-18, Л-19, Л-23, Л-24, Л-27. Эти линии имели показатели, близкие к модели, что выразилось в значении показателя SD, равном нулю.

Таблица 4

Интегральная оценка (SD) селекционных линий с использованием селекционных индексов

Линия	Показатель SD	Ранг	Линия	Показатель SD	Ранг
Л-1	1,7948	23	Л-14	0,0000	6
Л-2	0,9706	19	Л-15	0,0000	7
Л-3	2,2702	25	Л-16	0,4831	16
Л-4	1,7607	22	Л-17	1,9512	24
Л-5	0,6280	18	Л-18	0,0000	8
Л-6	1,7438	21	Л-19	0,0000	9
Л-7	0,2688	13	Л-21	0,3941	15
Л-8	0,0000	1	Л-22	1,3671	20
Л-9	0,0000	2	Л-23	0,0000	10
Л-10	0,0000	3	Л-24	0,0000	11
Л-11	0,4831	17	Л-26	0,2709	14
Л-12	0,0000	4	Л-27	0,0000	12
Л-13	0,0000	5			

Сопоставление показателей интегральной оценки селекционных образцов по длине колоса, числу колосков, числу зерен с колоса и массе зерна с колоса с результатами молекулярного маркирования позволяет заключить, что линии с 2R/2D-замещением обладают низким значением данного показателя. Вероятно, это обусловлено комплексом ценных признаков, ассоциированных с хромосомой 2D.

### 2.3. Эффекты транслокации 2RS.2RL-2BL и 2B/2D-замещения на наследование признаков

Выделенная и идентифицированная нами линия с пшенично-ржаной транслокацией была подвергнута всестороннему изучению. Для оценки влияния транслокации линия была включена в различные скрещивания. В таблице 5 представлены результаты наследования признака проявления

воскового налета с участием этой линии и в комбинациях без транслокации.

Таблица 5

Анализ расщепления F<sub>2</sub> гибридов по признаку наличия воскового налета

Комбинация	Признак		Сумма	отношение		$\chi^2$ (факт)	$\chi^2$ (теор) 0,05
	ВН	БВН		ВН	БВН		
Лена 1270 × Лена 86	278	583	861	19	45	2,79	3,84
Абасо × Лена 86	411	976	1387	19	45	0,00	3,84
Лена 86 × 131/7	167	1163	1330	9	55	2,50	3,84

Расщепление свидетельствует, что в комбинациях Лена 1270 × Лена 86, Абасо × Лена 86 за признак проявления воскового налёта отвечает 3 гена: один основной и два дупликатно комплементарных. В случае комбинации скрещивания с участием линии 131/7 генетический контроль признака модифицируется – при наличии двух комплементарных генов имеется ген-ингибитор. Такое изменение генетического контроля признака воскового налёта может быть объяснено наличием транслокации у линии 131/7 и как её следствие появление вместо основного гена, гена-ингибитора.

Анализ наследования высоты растения с участием транслоцированной линии показал сходные результаты с ранее полученными на линиях с 2R/2D-замещением.

## 2.4. Взаимодействие генов у дополненных форм томата

### 2.4.1. Цитогенетическая характеристика моносомно дополненных растений как проявление взаимодействия генов при интрогрессии хромосомы *Solanum lycopersicoides*

Для большинства изученных растений показано, что дополнительные к гаплоидному набору гаметы хромосомы могут передаваться только через яйцеклетки. В то же время для

некоторых растений доказано, что существует возможность передачи через пыльцу. Свидетельством этого служат полученные нами данные о частоте растений с разными наборами хромосом (табл. 6). Эти данные свидетельствуют, что для разных хромосом существует разная вероятность передачи дополнительной хромосомы через пыльцу. Наиболее часто это наблюдалось в случае хромосомы IV, отмечено это явление и для хромосомы II.

Таблица 6

Частота появления растений с разными наборами хромосом в потомстве моносомно дополненных линий

Образец	% растений с 2n=24	% растений с 2n=25	% растений с 2n=26
МДЛ-II	81,8	8,1	0,1
МДЛ-IV	7,6	46,2	46,2
МДЛ-XI	88,2	11,8	-

Другим свидетельством взаимодействия генетических систем культурного томата и дополненной хромосомы является стабильность мейотического деления и поведение дополнительной хромосомы. Использование для оценки поведения дополнительной хромосомы показателя конъюгации хромосом в метафазе I мейотического деления позволило установить не только наличие гомологии между участками хромосом двух видов, но и выявляет эффекты дополнений на поведение других хромосом (табл. 7). Так нами установлено, что наибольшим влиянием на поведение в мейозе других, не гомеологичных хромосом, характеризуется хромосома II *Solanum lycopersicoides*, вызывающая асинопсис хромосом культурного томата. Меньшими эффектами обладает хромосома IV. Для хромосомы XI таких эффектов не выявлено.

Таблица 7

Хромосомные ассоциации в метафазе I мейотического деления  
моносомно дополненных линий

Хромосомные ассоциации	$11^{II+}$ $3^I$	$11^{II+1^{III}}$	$12^{II+}$ $1^I$	$10^{II+}$ $5^I$	$10^{II+1^{III+2^I}}$
Линии					
МДЛ-II	12,0	24,1	57,9	2,2	3,8
МДЛ-IV	4,0	23,0	73,0	0	0
МДЛ-XI	21,6	0	78,4	0	0

### 3. Наследование признаков у трансгенных организмов.

#### Эффекты интрогрессии трансгена (Ds-элемента кукурузы) на проявление и наследование признаков у томата

Широкое распространение генетически модифицированных организмов требует их всестороннего изучения. Одним из аспектов такого изучения, практически не встречающегося в литературе, является исследование цитогенетической стабильности трансгенных растений. Цитогенетическая стабильность является важным показателем способности растения к половому размножению, а также возможности поддержания этого растения в течение длительных половых регенераций. В некоторой степени она может свидетельствовать об экспрессии трансгена в генетически измененном организме.

#### 3.1. Взаимодействие трансгена и генома культурного томата в проявлении цитогенетической стабильности

В настоящей работе впервые показано, что чужеродная вставка может оказывать влияние на митотическое деление у морфологически стабильных трансгенных растений. Это проявляется в повышенной частоте образования мостов, отстаиваний хромосом в анафазе митоза (рис. 11). Показано

достоверное превышение частоты нарушений в митозе у трансгенных растений и гибридов с их участием (табл. 8). Это свидетельствует, что трансгенные растения при стабильности морфологических признаков могут сохранять цитогенетическую нестабильность.

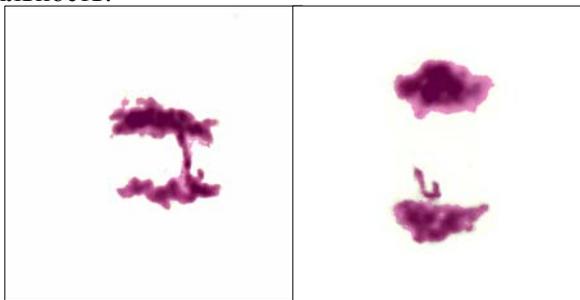


Рис. 11. Мосты (слева) и отставания хромосом (справа) в анафазе митотического деления.

Таблица 8

Особенности митоза трансгенных растений и гибридов с их участием

Образец	Проанализировано клеток, шт.	Клеток с нарушениями, %
Moneymaker	571	0,350
tds10	376	0,530
tds4	301	0,997
F <sub>1</sub> tds10 × LA0784	487	1,171
F <sub>1</sub> Moneymaker × LA0784	427	1,171

Для оценки цитогенетической стабильности мейотического деления трансгенных растений и гибридов с их участием использовали показатели конъюгации хромосом в метафазе I, а также частоту нарушений в анафазе I. В автореферате представлены результаты анализа мейотического деления трансгенных растений и гибридов с их участием (табл. 9, рис. 12).

Таблица 9

Достоверность различий по частоте формирования бивалентов в метафазе I у трансгенных растений и гибридов с их участием

Образцы	Moneymaker	LA 0784	tds 10	tds 10 × LA 0784	Moneymaker × LA 784
Moneymaker	x	$t_1=0,51$	$t_1=2,29$	$t_1=1,83$	$t_1=0,38$
LA 0784		x	$t_1=1,42$	$t_1=1,01$	$t_1=0,13$
tds 10			x	$t_1=0,49$	$t_1=1,61$
tds 10 × LA 0784				x	$t_1=1,19$
Moneymaker × LA 0784					x

Доля нарушений в виде образования унивалентов в метафазе I и отставаний хромосом и формировании мостов в анафазе I у трансгенных растений достоверно выше в сравнении с исходными растениями. В гемизиготном состоянии трансген вызывает достоверное увеличение нарушений в анафазе I.

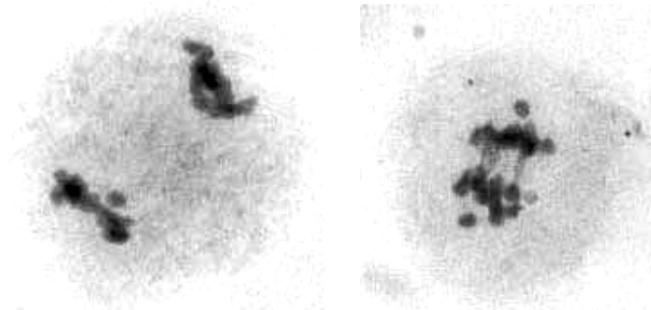


Рис. 12. Нормальная (слева) и анафаза I с образованием множественных мостов (справа) у гибридов с участием трансгенных растений.

### **3.2. Эффекты трансгена на наследование признаков у гибридов с участием трансгенных форм томата**

Для оценки эффектов трансгена на наследование признаков использовали маркерные признаки томата, надежно идентифицируемые при проведении генетического анализа. Анализ полученных данных свидетельствует, что Ds-элемент кукурузы влияет на частоту рекомбинации между маркерными признаками. Это влияние может как достоверно увеличивать значение показателя  $rf$ , так и достоверно снижать. Выявлены эффекты влияния на частоту  $rf$  между признаками, локализованными в других, чем Ds-элемент кукурузы хромосомах томата.

## **4. Взаимодействия генов при внутривидовой гибридизации**

### **4.1. Формирование листа томата – как результат взаимодействия неаллельных генов**

На данный момент известно, что развитие листа контролируется более 200 генов. В большинстве случаев известны только морфологические проявления или функции отдельных генов. В работе показаны эффекты взаимодействий генов, отвечающих за отдельные морфологические мутации листа. Эти взаимодействия могут проявляться в виде комплементарности с различными типами расщеплений, рецессивного и доминантного эпистаза. Показано, что рецессивные по отношению к дикому типу листа мутации при взаимодействии могут обладать как комплементарным взаимодействием, так и доминантными эффектами друг по отношению к другу. При объединении в одном генотипе разных доминантных по отношению к дикому типу листа мутаций может наблюдаться совместное проявление обеих мутаций. В случаях объединения рецессивной и доминантной мутации в одном генотипе наследование признаков, как правило, происходит по типу доминантного эпистаза. При скрещивании морфологически сходных (по степени рассеченности листа) форм томата, но контролируемых разными генами наблюдаются

взаимодействия типа комплементарности. На основании данных генетического анализа показано, что гены, ответственные за разные морфологические типы листа, взаимодействуют между собой и при развитии листа включаются поэтапно. На первом этапе – фактически на стадии закладки меристем, начинает работать ген *Lanceolata*. После него, но уже непосредственно при закладке листа включаются мутации *c*, *tp*, *e*.

### РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

1. Для получения форм яровой тритикале с низкой высотой растения, коротким вегетационным периодом необходимо вовлечение в селекционный процесс форм тритикале с 2R/2D-замещением.
2. Для быстрой и эффективной идентификации генетического материала генома D в формах тритикале необходимо использовать специфические микросателлитные маркеры для хромосом D-генома.
3. В качестве исходного материала на признак продуктивность главного колоса рекомендуется использовать линии Л-8, Л-9, Л-12, Л-14, Л-15, Л-18, Л-24, Л-25, Л-26, характеризующиеся высокой озерненностью колоска (от 1,8 до 2,1 зерен на колосок) и высокой массой зерна с колоса (1,5 – 1,7 г с колоса).
4. Вовлечение в скрещивания линий с замещениями позволит создать формы тритикале с транслоцированными хромосомами.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые выявлен эффект 2R/2D-замещения на наследование высоты растений и длины главного колоса у тритикале, проявляющийся в появлении в потомстве большей доли растений с низкой высотой растения и длиной главного колоса.
2. Качественные признаки – проявление опушения колоса и воскового налета на растении у тритикале контролируются взаимодействием генов. Типы взаимодействий генов различны в разных комбинациях скрещиваний.
3. Цитогенетическая стабильность первичных тритикале зависит от генотипа участвовавших в скрещиваниях родительских форм пшеницы и ржи.
4. Показано, что транслокация 2RS.2RL-2BL и 2B/2D-замещение приводят к сокращению вегетационного периода и снижению высоты растения.
5. Установлено, что для изучения хромосомного состава тритикале удобным объектом являются гибриды F<sub>1</sub> тритикале × рожь.
6. Эффекты взаимодействий генетической системы культурного томата и *Solanum lycopersicoides* проявляются в виде нарушений мейотического деления и наследования признаков. При этом разные дополненные хромосомы *S. lycopersicoides* оказывают разными эффектами на поведение в мейозе хромосом культурного томата.
7. Интрогрессия в геном культурного томата Ds-элемента кукурузы вызывает нарушения основных процессов – митоза и мейоза. Гемизиготное состояние трансгена у гибридов F<sub>1</sub> с участием трансгенных форм приводит к достоверному повышению частоты нарушений в метафазе I и анафазе I мейоза.
8. Впервые установлено плеiotропное действие гена *Lanceolata*, проявляющееся в пониженной

жизнеспособности доминантной гомозиготы и аномальном развитии апикальных меристем.

9. На основании данных генетического анализа показано, что гены, ответственные за разные морфологические типы листа, взаимодействуют между собой и при развитии листа включаются поэтапно: ген *Lanceolata* начинает работать на стадии закладки меристем, после него, но уже непосредственно при закладке листа включаются мутации *c*, *tp*, *e*, *Me*.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дивашук М.Г., Карлов Г.И., Соловьев А.А. Использование микросателлитных маркеров для идентификации пшенично-ржаной транслокации у гексаплоидной тритикале. // Известия ТСХА. – 2007. – №1. – С. 61-65.
2. Пухальский В.А., Соловьев А.А., Бадаева Е.Д., Юрцев В.Н. Практикум по цитологии и цитогенетике. // Учебное пособие для студентов агрономических специальностей. – М.: КолосС, 2007. – 200 с.
3. Соловьев А.А., Князев А.Н., Александров О.С. Цитогенетическая характеристика дополненных форм томата с хромосомами *Solanum lycopersicoides* Dun. // Генетика. – 2007. – Т. 43. – № 6. – С. 1-5.
4. Соловьев А.А., Князев А.Н. Возможности использования дополненных форм в селекции томата. Картофель и овощи. – 2007. – № 3 – С. 17.
5. Соловьев А.А. Генетический анализ. // Учебное пособие для студентов специальности «Селекция и генетика сельскохозяйственных растений». – М.: РГАУ-МСХА, 2007. – 160 с.
6. Определитель зерновых, зернобобовых культур и кормовых трав / Уколов А.А., Хупацария Т.И., Рубец В.С. Соловьев А.А. – М.: РГАУ-МСХА, 2006. – 44 с.

7. Данилкин Н.М., Соловьев А.А. Исследование устойчивости к прорастанию зерна на корню яровой тритикале. // Селекция и семеноводство. – 2006. – №. 6 – С. 33-35.
8. Дивашук М.Г., Соловьев А.А. (Divashuk M.G., Soloviev A.A.) Морфологическая и цитогенетическая характеристика транслоцированной линии тритикале 131/7 (Morphological and Cytogenetic Characterization of Translocated Spring Triticale Line 131/7.) // Acta Agriculturae Serbica. – 2005. – Vol. X. – №19. – P. 17-25.
9. Дивашук М.Г., Базалеев Н.А., Соловьев А.А. Цитогенетическая характеристика линии тритикале 131/7. // «Кариология, кариосистематика и молекулярная филогения растений» – Материалы Международного совещания и Школы молодых ученых по кариологии, кариосистематике и молекулярной систематике растений, г. Санкт Петербург, 12-15 октября 2005 г. – Санкт-Петербург, 2005. – С. 30
10. Карнаухова Т.В., Соловьев А.А. Функциональное состояние диплоидных и тетраплоидных растений томатов в условиях нарастающей почвенной засухи. // Вавиловские чтения-2004. Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 117-й годовщине со дня рождения Н.И. Вавилова. Саратов, 24-26 ноября 2004 г. Секция генетики и селекции. – Саратов: ФГОУ ВПО Саратовский ГАУ, 2004. – С. 27-30.
11. Соловьев А.А., Шумилин С.В., Майер Н.К. Цитогенетические механизмы индукции генетической изменчивости при использовании трансгенных форм томата с Ds-элементом кукурузы. // Материалы 3-го съезда ВОГиС «Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития» – М. – 2004. – С. 481.
12. Пухальский В.А., Юрцев В.Н., Соловьев А.А. Цитология и цитогенетика. // Руководство к лабораторно-практическим занятиям. Учебное пособие. – М.: МСХА, 2004. – 118 с.

13. Карнаухова Т.В., Соловьев А.А. Адаптивные свойства трансгенных растений томатов (*L. esculentum*) к недостатку воды и засолению почвы в условиях защищенного грунта. // Материалы V съезда общества физиологов растений России и международной конференции «Физиология растений – основа фитобиотехнологии». – Пенза, 2003. – С. 487-488.
14. Князев А.Н., Соловьев А.А. Характеристика мейотического деления моносомно дополненной линии культурного томата со второй хромосомой *Solanum lycopersicoides* // Материалы 2-й конференции МОГИС им. Н.И. Вавилова. – М.: МСХА, 2003. – Т. 2. – С. 289-290.
15. Куклев М.Ю., Карнаухова Т.В., Соловьев А.А. Физиолого-биохимические особенности трансгенных растений томатов (*L. esculentum*) в условиях закрытого грунта. // Актуальные проблемы генетики. Материалы 2-й конференции МОГИС им. Н.И. Вавилова. – М.: МСХА, 2003. – Т. 2. – С. 153-155.
16. Соловьев А.А., Куклев М.Ю., Карнаухова Т.В. (Soloviev A.A., Kuklev M.Y., Karnaukhova T.V.) Функциональный статус некоторых генотипов томата при засолении в условиях теплицы. (The functional status of some genotypes of tomato plants under salty conditions in greenhouse). / Proc. of International ISHS Symposium on MANAGING GREENHOUSE CROPS IN SALINE ENVIRONMENT Pisa, 9-12 July 2003 // Acta Horticulture. – 2003. – 609. – P. 47-50.
17. Куклев М.Ю., Соловьев А.А., Карнаухова Т.В. (Kuklev M.Y., Soloviev A.A., Karnaukhova T.V.) Адаптивный потенциал трансгенных растений томата *L. esculentum* к засухе и засолению в условиях теплицы (The adaptive potential of tomato transgenic plants (*L. esculentum*) to drought and salty conditions in greenhouse). / Proc. of International ISHS Symposium on MANAGING GREENHOUSE CROPS IN SALINE ENVIRONMENT Pisa, 9-12 July 2003 // Acta Horticulture. – 2003. – 609. – P. 39-45.

18. Соловьев А.А. Глава 10. Генетика онтогенеза. // Учебное пособие "Генетика". Под редакцией А.А. Жученко. – М.: КолосС, 2003. – 18 с.
19. Соловьев А.А., Кирюхова О.Б., Родионова Е.Н. Влияние Ds-элемента кукурузы, локализованного в хромосоме 3, на мейотическую рекомбинацию у трансгенного томата. // Материалы научной генетической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения А.Р. Жебрака и 70-летию образования кафедр генетики в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева. – М.: МСХА, 2002. – С. 302-303.
20. Комахин Р.А., Тикунов Ю.М., Соловьев А.А. Цитологическая характеристика мейоза Моносомно дополненной линии томата с хромосомой 2 *Solanum lycopersicoides* // Материалы конференции молодых ученых. – Саратов, 2002. – Ч. 1. – С. 66-67.
21. Родионова Е.Н., Кирюхова О.Б., Соловьев А.А. Характеристика трансформированных Ds-элементом кукурузы форм культурного томата. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Биотехнология – возрождению сельского хозяйства России в XXI веке». – СПб., 2001. – С. 58-59.
22. Соловьев А. (Soloviev A.) Трансгенез для индукции генетического разнообразия. (Trangenesis for induction genetic diversity.) // Abstracts of Second International Iran and Russia Conference «Agriculture and Natural Resources». – Moscow, 2001. – P. 10-12.
23. Синтез аллогексаплоида с геномной формулой AABVСС рода *Brassica* L. как донора устойчивости к киле и сосудистому бактериозу крестоцветных. / Монахос Г.Ф., Игнатов А.Н., Джалилов Ф.С., Цветков И.Л., Вишнякова Х.М., Дорохов Д.Б., Позмогова Г.В., Соловьев А.А. // Известия ТСХА. – 2001. – №4. – С. 56-68.

24. Выделение и цитологическая характеристика моносомно дополненной линии культурного томата со 2-й гомеологичной хромосомой *Solanum lycopersicoides*. / Соловьев А.А., Кирюхова О.Б., Карлов Г.И., Андреева Г.Н., Комахин Р.А., Бабина Д.В. // Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы. – М.: Воскресенье, 2001. – Т. 2. – С. 61-67.
25. Комахин Р.А., Соловьев А.А., Новоселов Е.М. Выделение и характеристика дополненных форм культурного томата *Lycopersicon esculentum* со 2-й хромосомой *Solanum lycopersicoides*. // Материалы научной конференции «Памяти Грегора Менделя». – М.: МСХА, 2001. – С. 57-58.
26. Соловьев А.А., Кирюхова О.Б., Аш О.А. (Soloviev A.A., Kirukhova O.B., Ash O.A.) Влияние культивирования *in vitro* на мейотическую рекомбинацию. (Influence of *in vitro* cultivation on meiotic recombination). // Report of the Tomato Genetic Cooperative. – 2000. – №50 – P. 38.
27. Характеристика линии тритикале, несущей пшенично-ржаную транслокацию. / Карлов Г.И., Андреева Г.Н., Хрусталева Л.И., Соловьев А.А. // Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы. – М.: Воскресенье, 2000. – Т. 1. – С. 39-43.
28. Трансформация как фактор, влияющий на мейотическую рекомбинацию у томата *Lycopersicon esculentum* (Transformation as factor influencing on the meiotic recombination of tomato (*Lycopersicon esculentum*)). / Соловьев А.А., Жученко А.А., Долгодворова Л.И., Кирюхова О.Б. (Soloviev A.A., Zhuchenko A.A., Dolgodvorova L.I., Kiruhova O.B.) // Abstracts of Fifth International Solanaceae Conference. – Botanical Garden of Nijmegen, 2000. – P. 98.
29. Кирюхова О.Б., Соловьев А.А., Комахин Р.А. Идентификация и цитолого-морфологическая характеристика моносомно дополненных линий томата с хромосомами *Solanum lycopersicoides* Dun. // Материалы

- Международной научно-практической конференции «Селекция и семеноводство в 21 веке». – М., 2000. – Т. 1. – С. 261-262.
30. Соловьев А.А., Кирюхова О.Б., Новоселов Е.М. Характеристика некоторых моносомно дополненных линий томата с хромосомами *Solanum lycopersicoides* Dun. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые – возрождению сельского хозяйства России в 21 веке». – Брянск, 1999. – С. 65-66.
  31. Кирюхова О.Б., Зубо Я.О., Соловьев А.А. Влияние ттрансгеноза на мейотическую рекомбинацию растений на примере культурного томата. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые – возрождению сельского хозяйства России в 21 веке». – Брянск, 1999. – С. 42-44.
  32. Соловьев А.А., Штракина Е.В. К изучению частной генетики тритикале. // Тезисы 2 Международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растений и перспективы их использования». – Пущино, 1997. – С. 367-369.
  33. Задачник по генетике. / Иванова С.В., Л.И. Долгодворова, В.А. Пухальский, А.В. Смиряев, А.А. Соловьев. – М.: МСХА, 1996. – 78 с.