



ТИТОВ Александр Федорович,

РУКОВОДИТЕЛЬ ЛАБОРАТОРИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ Института биологии КарНЦ РАН. Область научных интересов – экологическая физиология растений



ЛЕБЕДЕВА Ольга Николаевна,

РУКОВОДИТЕЛЬ ЛАБОРАТОРИИ ГЕНЕТИКИ Института биологии КарНЦ РАН. Область научных интересов – общая генетика, популяционная генетика, физиология и биохимия растений



НИКОЛАЕВСКАЯ Татьяна Сергеевна,

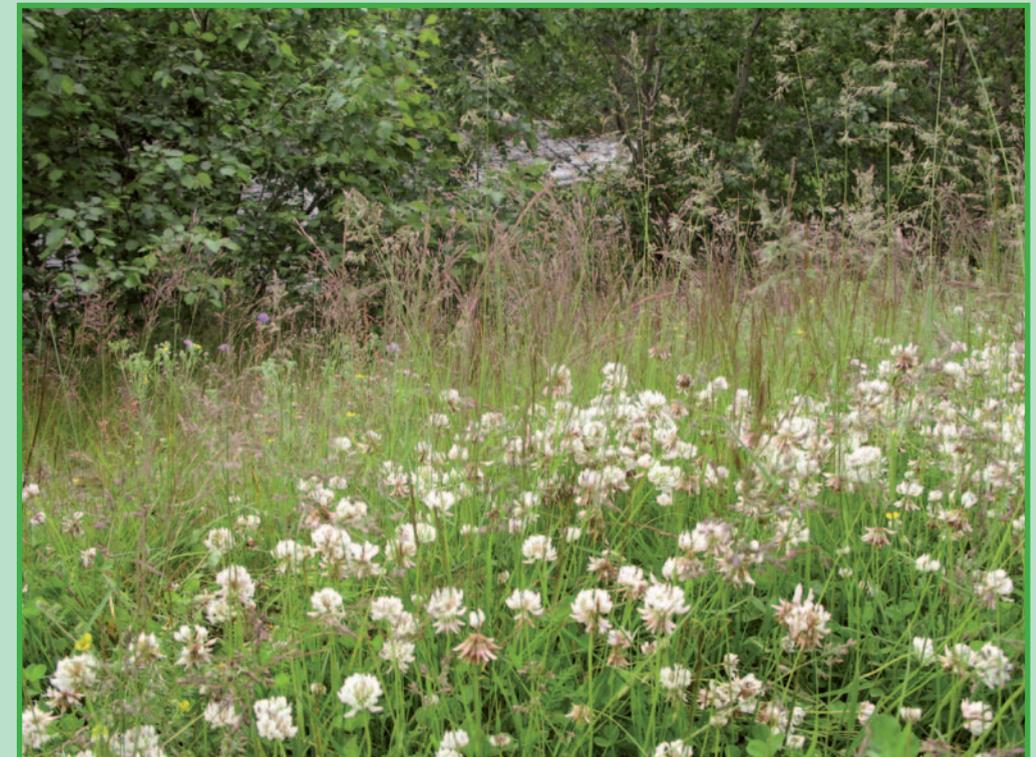
СТАРШИЙ НАУЧНЫЙ СОТРУДНИК ЛАБОРАТОРИИ ГЕНЕТИКИ Института биологии КарНЦ РАН. Область научных интересов – анатомия, морфология, популяционная генетика растений



ФЕДОРЕНКО Ольга Михайловна,

СТАРШИЙ НАУЧНЫЙ СОТРУДНИК ЛАБОРАТОРИИ ГЕНЕТИКИ Института биологии КарНЦ РАН. Область научных интересов – популяционная генетика и молекулярная биология растений

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕВЕРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МНОГОЛЕТНИХ ЗЛАКОВ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ГРУЗ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
КАРЕЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ

**О. Н. Лебедева, Т. С. Николаевская,
А. Ф. Титов, О. М. Федоренко**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
СЕВЕРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
МНОГОЛЕТНИХ ЗЛАКОВ.
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ГРУЗ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ**

Петрозаводск
2012

УДК [575.857:582.542.11]:575.224.46(470.1/2)

ББК 42.23

Б63

Под общей редакцией

члена-корреспондента РАН

доктора биологических наук, профессора А. Ф. Титова

Рецензенты:

д.б.н. В. В. Таланова

д.б.н. Л. В. Ветчинникова

Б63 Лебедева О. Н., Николаевская Т. С., Титов А. Ф., Федоренко О. М.
Биологические особенности северных популяций многолетних злаков. Генетический груз и выживаемость / Под общей редакцией А. Ф. Титова. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012. 261 с.: ил. 51, табл. 95. Библиогр. 347 назв.

ISBN 978-5-9274-0513-8

В монографии обобщены и представлены результаты изучения специфичности механизмов выживаемости и жизнеспособности северных растительных панмиктических популяций многолетних злаков (на примере *Festuca pratensis* Huds.) и мутантных потомств с естественным и индуцированным (физическими и химическими мутагенами) генетическим грузом. Показаны действие систем восстановления хлорофиллдефектности, особенности развития морфофизиологических признаков и действие в отношении их естественного отбора. Монография может быть полезной широкому кругу читателей – биологам, преподавателям вузов, аспирантам и студентам.

УДК [575.857:582.542.11]:575.224.46(470.1/2)

ББК 42.23

*Издается при финансовой поддержке
Программы фундаментальных исследований Президиума РАН
«Биоразнообразие и динамика генофондов»*

ISBN 978-5-9274-0513-8

© Лебедева О. Н., Николаевская Т. С., Титов А. Ф., Федоренко О. М., 2012

© Институт биологии КарНЦ РАН, 2012

© Карельский научный центр РАН, 2012

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. Биология объекта и методы исследования	12
1.1. Биология объекта исследования	12
1.2. Методы лабораторных и полевых исследований	16
ГЛАВА 2. Генетические и популяционные механизмы выживаемости популяций высших растений с естественным и индуцированным грузом пигментных мутаций	32
2.1. Пигментные мутации в популяциях высших растений (обзор проблемы)	32
2.2. Груз пигментных мутаций и выживаемость растений в потомствах <i>Festuca pratensis</i> , сформированных на мутантной основе	43
2.3. Феноменология температурозависимой хлорофиллдефектности – тест-системы выживаемости растительных популяций	70
2.3.1. Генетическая основа температурозависимой хлорофиллдефектности	70
2.3.2. Структурно-функциональные особенности растений <i>Festuca pratensis</i> с супрессированной хлорофиллдефектностью	78
2.3.2.1. Анатомические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью	78
2.3.2.2. Морфологические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью	99
2.3.3. Физиологические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью	104
2.3.4. Жизнеспособность, плодовитость и выживаемость растений с супрессированной хлорофиллдефектностью	121
2.3.5. Приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью и действие стабилизирующего отбора	145
2.3.5.1. Приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся степенью хлорофильного дефекта, и действие стабилизирующего отбора	145

2.3.5.2. Приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации, и действие стабилизирующего отбора	150
ГЛАВА 3. Морфофизиологическая феноменология супрессированной хлорофиллдефектности <i>Festuca pratensis</i> при различной ориентации побегов и листьев	164
3.1. Морфологические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев	164
3.2. Функциональная роль пигментов у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев	181
3.3. Характеристика жизнеспособности и выживаемости растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев	199
ГЛАВА 4. Генетическое разнообразие и приспособленность природных (островных и континентальных) популяций <i>Festuca pratensis</i>	213
4.1. Генетическое разнообразие природных популяций в экстремальных условиях среды: в экологически напряженных районах и на границе видového ареала	213
4.2. Генетическое разнообразие островных природных популяций (RAPD-анализ)	223
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	231
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	239

ВВЕДЕНИЕ

Эволюция стратегии выживаемости включает в себя множество генетических механизмов, благоприятствующих увеличению численности популяции и повышению ее приспособленности. В этом отношении хорошо известны эффекты доминантности, гетерозиготности, полиплоидии, компенсаторного комплекса генов, в меньшей степени изучены генетическая супрессия отдельных генов и генных систем, а также регуляторных генов и псевдогенов, селективная роль которых в эволюционном процессе активно обсуждается (Суходолец, 1991, 1995, 2000; Инге-Вечтомов, 2004). Появились данные, подвергающие «ревизии» ранее существовавшие представления об инвариантности гена, его независимости от генетического состава (генотипической среды) и эпигенетических условий в связи с передачей наследственной информации. Все эти знания могут изменить сложившуюся к настоящему времени картину эволюции приспособленности и выживаемости организмов и популяций (Голубовский, 2000; Малецкий, 2004).

При несомненной очевидности роли этих генетических процессов они являются общими и не позволяют объяснить часто наблюдаемые случаи исключительной устойчивости (или чувствительности) биологических систем, сравнительно легко переживающих естественные и антропогенные нагрузки (световой, температурный, водный, солевой и другие стрессы) или, напротив, в достаточно комфортных условиях оставляющих малочисленное и слабо жизнеспособное потомство. Основной экспериментальный подход в таких исследованиях базируется на анализе маркерных признаков, связанных как с нормальными, так и с дефектными генетическими системами. Изучение последних вносит наибольший вклад в познание биологических механизмов выживаемости как в процессе онтогенетического развития, так и в сфере эволюционных изменений.

У растений, важнейшим свойством которых является фотосинтез, наиболее информативным может быть изучение различного рода хлорофиллдефектности: от ядерных пигментных мутаций,

консервативно блокирующих те или иные звенья биохимического синтеза пигментов, до лабильного изменения структуры хлоропласта в результате его повышенной термо- или светочувствительности.

На протяжении жизненного цикла при различных экстремальных средовых условиях у растений может возникать и возникает та или иная степень хлорофиллдефектности. Важнейшим фактором благополучия при этом является репарационная (восстановительная) генетическая компонента защиты фотосинтетической системы. Насколько можно судить, генетический контроль систем репарации хлорофиллдефектности до сих пор не только не изучался, но и не ставился для решения в качестве биологической проблемы фотосинтеза. И это в какой-то мере понятно. Изучение дефектных тест-систем, мутантные гены которых обладают лишь блокирующим эффектом, для целей исследования репарации хлорофиллдефектности использовать не могут, а иные подходы проблемы не решают (Балышева, Ломагин, 1979, 1981; Шаркова, 1990).

При изучении механизмов сохранности генетических структур клетки при действии повреждающих факторов (ионизирующее излучение и ДНК-тропных агентов) наибольшее внимание исследователей было уделено роли индуцибельных ферментных систем репарации ДНК (Корогодин, 1966; Yamamoto, Yamaguchi, 1969; Захаров, Кривиский, 1972; Шестаков и др., 1973; Witkin, George, 1973; Лучник, 1977; Жестяников, 1979). Показано, что биологическая система защиты клеток и организмов базируется на небольшом числе механизмов – толерантность, репарация, адаптивный ответ и компенсаторное восстановление. Эти механизмы связаны с хорошо развитыми реакциями в системе обратных связей транскрипционно-трансляционной и регуляторной систем клетки. При этом восстановление функции поврежденных структур клетки включает репарационную составляющую и стимулированную индуцибельную репопуляцию.

Репопуляция у растений впервые была изучена как механизм пострадиационного восстановления клеток (Гродзинский, 1989). Репопуляция выражается в замещении пула поврежденных неповрежденными клетками, деление которых происходит после прекращения действия повреждающего фактора. Полагают, что репо-

пуляционное замещение поврежденных и погибших клеток – это процесс функционирования генетически детерминированной системы, возникшей в процессе эволюции и обеспечивающей приспособительную реакцию семени к изменению внешних условий (Kondo, 1988). В отличие от ферментативной репарации ДНК, которая часто бывает неполной, репопуляция всегда приводит к полной элиминации повреждения.

Высказано также предположение, что в основе адаптивного ответа и антимутагенного эффекта (увеличение митотического индекса) у растений при действии низких доз радиации или низких концентраций химических мутагенов с предобработкой антиоксидантом лежит генетически детерминированная стимулированная репопуляция (Серебряный, Зоз, 2002). Репопуляционное восстановление проявляется затем в онтогенезе и по другим показателям роста и развития растений. При большом уровне повреждений происходит переключение на внутриклеточное восстановление (репарацию повреждений ДНК). Существование двух механизмов адаптивного ответа было показано ранее на *Spirodela polyrhiza* L. (Лысенко, Гродзинский, 1974).

Изучение обозначенных выше проблем стало возможным благодаря особенностям объекта исследования *Festuca pratensis* Huds. Сравнительно давно у ряда видов многолетних злаков обнаружена система температурозависимой депигментации проростков, большая часть которых специфически восстанавливается до нормального фенотипа после изменения экстремальных температурных условий культивирования растений на оптимальные (Олимпиенко и др., 1976; Титов, Олимпиенко, 1976; Титов и др., 1978). Представляется, что именно специфичность восстановления может быть адекватно связана с генетическим контролем репарации данного типа хлорофиллдефектности. Обнаружена моногенная природа температурозависимой депигментации, основу которой составляли структурные изменения хлоропластов (Land et al., 1971). Исследования механизмов жизнеспособности и выживаемости популяций растений с температурозависимой депигментацией не нашли в тот период своего развития и были продолжены нами лишь в последнее время (Олимпиенко и др., 1999, 2005; Марковская и др., 2000; Венжик и др., 2002; Лебедева и др., 2007).

Вполне очевидно, что генетическая основа температурозависимой хлорофиллдефектности может базироваться на действии генов-супрессоров. Именно супрессорные гены способствуют сохранению первичных мутаций от действия отбора и расширению генетического разнообразия. Обладая широкой плейотропией, они могут повышать адаптивные свойства и выживаемость индивидуумов и популяций (Инге-Вечтомов и др., 1994; Инге-Вечтомов, 2004). Учитывая, что роль супрессорных систем у высших растений изучена очень слабо, использование генетических особенностей объекта исследования *Festuca pratensis* Huds. способствовало накоплению знаний в этой области.

Система супрессированной хлорофиллдефектности может быть использована и для изучения фотопротекторных свойств высших растений, как совершенно самостоятельной научной проблемы со своими задачами, а также выявления механизмов, обеспечивающих их выживаемость, жизнеспособность и экологическую устойчивость. Оба аспекта проблемы практически не исследованы. Хлорофильные мутанты *Arabidopsis thaliana* L., *Nicotiana tabacum* L. и *Chlamydomonas reinhardtii*, как правило, используются для изучения генетического контроля синтеза пигментов. В частности, обнаружено, что все цепи синтеза многозвенны и генетически контролируемы (Yamamoto, 1979; Eckhardt et al., 2004). Именно многозвенность генетического контроля в цикле биосинтеза пигментов можно рассматривать как определенный результат в стратегии выживаемости растительных организмов. Таким образом, краткий анализ проблемы говорит об ее актуальности, а возможные пути экспериментальной проработки – о новизне проведенного исследования.

Наряду с изучением феноменологии супрессированной хлорофиллдефектности длительное время изучаются эффекты индуцированного мутагенеза *Festuca pratensis* Huds. в ближайших и отдаленных от мутагенного воздействия поколениях. У растений панмиктических популяций повреждения ДНК способны сохраняться в ряде генеративных потомств и формировать на этой основе определенный уровень генетического груза. Он может достигать значительной величины и оказывать существенное влияние на формирование структурных и функциональных особенностей по-

пуляционного фенотипа и в той или иной степени ограничивать потенциал выживаемости и репродуктивной способности особей, слагающих мутантные популяции. Накопленный к настоящему времени экспериментальный материал позволил выявить особенности формирования генетического груза (на основе теста – хлорофильные мутации) и уровень выживаемости мутантных потомств, сформированных на основе действия алкилирующих мутагенных агентов (этиленимин, этилметансульфонат) и комбинированного их действия с γ -излучением в ближайших и отдаленных от мутагенного воздействия поколениях.

В настоящей монографии обобщены и представлены новые знания о специфичности механизмов выживаемости и жизнеспособности растительных панмиктических популяций с естественным (супрессированным) и индуцированным (физическими и химическими мутагенами) грузом пигментных мутаций, о действии систем восстановления хлорофиллдефектности, об особенностях развития морфо-физиологических признаков, о действии естественного отбора (стабилизирующей его формы). Сформулированы стратегии выживаемости и экологической устойчивости высших растений с генетическим грузом. Эти знания расширяют теоретические представления о роли супрессорных мутаций в поддержании адаптивного потенциала популяций растений, сохраняющих высокий уровень естественного генетического груза, и показывают их селективную ценность.

Настоящее исследование выполнено в рамках плановых тем лаборатории генетики ИБ КарНЦ РАН и при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов» 2006–2008 гг.

ГЛАВА 1

БИОЛОГИЯ ОБЪЕКТА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Биология объекта исследования

Объектом исследования является представитель многолетних злаков – овсяница луговая (*Festuca pratensis* Huds.). Выбор объекта в качестве модельного при изучении механизмов выживаемости у многолетних перекрестноопыляющихся злаков с естественным и индуцированным генетическим грузом обусловлен целым рядом биологических его особенностей и достоинств (рис. 1).

F. pratensis как дикорастущий вид встречается в разных географических зонах Европы, северной части Африки и Азии. На территории России наибольшее распространение овсяница луговая имеет в нечерноземной зоне и доходит до 66° с. ш.

F. pratensis – многолетнее растение семейства *Poaceae*, диплоидное, с хромосомным набором, состоящим из 14 основных хромосом ($2n = 14$) и 0–15 добавочных В-хромосом. Митоз сопровождается небольшой частотой aberrаций. В процессе мейоза в профазе I редукционного деления обычно образуется 7 бивалентов и выявляется большой полиморфизм по содержанию МКП с В-хромосомами, а также низкая частота aberrантных анафаз I и II (Darlington, Wylie, 1955; Воробьева, Мелентьева, 1980).

Важная биологическая особенность ряда видов многолетних злаков (овсяница луговая, овсяница красная, ежа сборная, тимopheвка луговая) состоит в том, что у них обнаружена система температурозависимой депигментации проростков, окраска листа которых восстанавливается до зеленой (нормальный фенотип) после изменения экстремальных температурных условий культивирования на оптимальные (Land et al., 1971; Олимпиенко и др., 1976; Титов, Олимпиенко, 1976; Титов и др., 1978). Генетическая основа температурозависимой хлорофиллдефектности базируется на действии генов-супрессоров и сопровождается комплексом компенса-

17–27 см и более, шириной 0,3–0,6 см (иногда более 1,2 см). Листовые влагалища открытые, чаще гладкие и голые. Язычок короткий, по краю гладкий, ушки острые, серповидно удлинённые. Параметры листа генеративного побега колеблются в меньших пределах: длина – 18–21 см, ширина – 0,5–0,6 см (Цвелёв, 1976; Олимпиенко и др., 1982).

Соцветие овсяницы луговой – рыхлая, пирамидальная, длинная (8–12 см) метелка с моноподиально ветвящимися боковыми осями, раскидистая лишь во время цветения. Колоски длиной до 15 мм, с 4–10 цветками, заключены в 2 колосковые чешуи (верхнюю и нижнюю). Каждый цветок находится на цветковой оси и заключен в верхнюю и нижнюю цветковые чешуи. Нижняя цветковая чешуя слабоостистая, однокилевая, кожистая, продолговато-ланцетовидная. Верхняя цветковая чешуя тонкая, туповатая, двухкилевая. Выше чешуй располагаются 2 прозрачные мясистые цветковые пленки или лодикулы. Далее на оси находятся 3 тычинки, каждая состоит из тычиночной нити, связника и двухгнездного пыльника. Гинецей представлен верхней завязью с двумя сидячими интенсивно ветвящимися рыльцами и голым основанием (Николаевская, Петрова, 1989).

Сухой невскрывающийся односемянный плод овсяницы луговой – зерновка состоит из собственно семени и кожистого перикарпия. Она окружена плотно прилегающими цветковыми чешуями, по форме крупная, эллипсоидальная, желтовато-серая, иногда с фиолетовым оттенком, на верхушке слегка опушена. Зародыш крупный, ясно очерченный. Рубчик линейный, темноокрашенный, бороздка равна 1/3 длины зерновки. При созревании семена легко осыпаются. Масса 1000 семян в среднем равна 1,85 г (Николаевская, 1998).

Овсяница луговая – растение озимого типа. В год посева она растет быстро, но не цветет и не плодоносит, образуя к осени лишь куст вегетативных побегов. Плодоношение начинается со второго года жизни. Уже с этого периода растения овсяницы отличаются по ряду признаков (форме и мощности куста, окраске узлов генеративного побега, высоте растений и длине соцветий, числу и возрасту генеративных побегов и т. д.). В популяциях овсяницы луговой наблюдается дифференцировка растений на особи с длительным и

коротким жизненным циклом, хотя частота последних крайне мала. В целом растения овсяницы достаточно долго держатся в посевах – 7–8, а при хорошем уходе 10–15 лет (Серебрякова, 1971).

Размножается овсяница луговая семенами, а также с помощью коротких подземных побегов. Посев проводят в начале июля без покрова или в смеси с клевером и мало конкурентными видами злаков. Следующей весной растения отрастают рано (в начале июня). Семена созревают через две-три недели после окончания цветения. Овсяница луговая характеризуется высокой семенной продуктивностью и наибольшую урожайность семян дает на второй и третий годы жизни: 2–3 тыс. и более семян на растение с высокой всхожестью и энергией прорастания (70–100%).

Овсяница луговая – мезофит, светолюбива, предпочитает средне-суглинистые плодородные, обеспеченные влагой почвы, но успешно развивается и на осушенных торфяниках, выдерживает продолжительное затопление и кратковременные засухи. Она обладает зимостойкостью и устойчивостью к кратковременным заморозкам, положительно отзывается на минеральные, особенно азотные, удобрения.

Овсяница луговая – один из лучших культурных верховых злаков для сенокосного и пастбищного использования с высокой питательностью (до 12,6% протеина, 2,8% жира, 42,7% клетчатки) и с высокой усвояемостью (до 80%). Возделывание вида началось в середине 18 века в Швеции, позднее в Англии и других западноевропейских странах. В России выращивание овсяницы луговой, в основном в смеси с другими многолетними травами (злаковыми и бобовыми), относится к более позднему периоду. Длительность использования и широкое распространение вида объясняются рядом уже отмеченных достоинств: высокая урожайность надземной массы и массы семян, хорошие отавность и кормовые качества, возможность использования в травосмесях, отзывчивость на минеральные удобрения.

1.2. Методы лабораторных и полевых исследований

Представленные в монографии материалы получены в ходе полевых и лабораторных экспериментов и экспедиционных исследований, выполненных в 1979–2009 гг. Полевые эксперименты проводили на агробиологической станции, лабораторные – в лаборатории

генетики Федерального государственного бюджетного учреждения Института биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН), экспедиционные – в районах Республики Карелия. Схемы проведения работ представлены в табл. 1.

*Методы генетической оценки де- и ресупрессии
температурозависимой хлорофиллдефектности растений
овсяницы луговой в ювенильной фазе развития*

Для выявления мутантных, дефектных по хлорофиллу растений семена овсяницы луговой проращивали на фильтровальной бумаге в течение 10 сут. в люминостате при непрерывной освещенности ($96 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) и 35°C . В массиве проростков регистрировали зеленые (*w-type* или *norma*, N) и депигментированные растения. Все депигментированные проростки восстанавливали полностью или частично зеленую окраску листа через 4 сут. при снижении температуры до 25°C (функциональная реверсия). Нами использованы обозначения, общепринятые для хлорофильных мутаций: светло-зеленые (*viridis*, V), желтые (*xantha*, X), белые (*albina*, A). Комбинированные фенотипы обозначались как зелено-светлозеленые (NV), светлозелено-зеленые (VN), светлозелено-желтые (VX), светлозелено-белые (VA), желто-зеленые (XN), желто-светлозеленые (XV), желто-белые (XA), бело-зеленые (AN), бело-светлозеленые (AV), причем первая буква соответствовала окраске верхней половины листа, а вторая – нижней (Калам, Орав, 1974) (рис. 2). Обозначения фенотипов, в конечном счете, образовывались из начальных латинских букв соответствующего типа депигментации, знака >, и начальных букв соответствующего типа восстановления, например, V>N, V>VX (Титов, Олимпиакко, 1976).

Генетическая оценка де- и ресупрессии проростков овсяницы проводилась в лабораторном эксперименте при проращивании семян овсяницы луговой в условиях люминостата или фитотрона. Подсчитывали количество зеленых и депигментированных проростков при 35°C (десупрессия) и 25°C (частично или полностью восстановивших окраску листа до зеленой – ресупрессия). Полученные результаты проверяли на соответствие их дигибридной или моногибридной схеме наследования. Статистические различия оценивали по критерию хи-квадрат.

Таблица 1. Схемы проведения экспериментов

Условия проведения экспериментов и виды работ	Вид исследований
Лабораторные исследования	
Температура проращивания в фитотроне или люминостате – 35 °С, освещенность – 96–120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, влажность – 70%, длительность эксперимента – 10 сут., субстрат – водопроводная вода	Визуальная оценка частоты проростков и спектра депигментации (первый лист проростка)
Температура проращивания в фитотроне или люминостате – 25 °С, освещенность – 96–120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, влажность – 70%, длительность эксперимента – 4 сут., субстрат – водопроводная вода	Визуальная оценка частоты проростков и спектра восстановления пигментации (первый лист проростка)
Полевые исследования	
Дорастивание растений до фазы кущения в кюветах на тепличном грунте в условиях пленочной теплицы без подогрева, полив – водопроводная вода	Отбор маркированных по типу депигментации – восстановление проростков и высадка в грунт
Высадка в грунт с индивидуальным стоянием растений (60×60 см). Агротехнический уход	Формирование тест-линий (45 фенотипов, 539 растений)
Клонирование растений (8 особей в клоне), грунт с индивидуальным стоянием растений (60×60 см). Всего 110 клонов. Агротехнический уход	Оценка тест-линий (44 фенотипа) по морфологическим признакам, выживаемости, плодовитости (репродуктивной способности). Фиксация биологического материала для последующих лабораторных анализов
Экспедиционные работы	Сбор биологического материала <i>Festuca pratensis</i> в природных популяциях
Лабораторные исследования	
Биохимический анализ пигментов на свежем и фиксированном материале с использованием стандартных и модифицированных методов	Изучение пигментного состава растений-ревертантов
Фиксация материала и микроскопический анализ в соответствии с методами исследования	Анализ фертильности пыльцы, анатомии мезофилла листа растений-ревертантов и ультраструктуры его клеток
Морфологические исследования	Анализ морфологии и фертильности соцветия, зерновки; качественная оценка семян
Электрофоретический анализ природных популяций	Изучение генетической структуры природных популяций <i>Festuca pratensis</i>
Молекулярно-генетический анализ (RAPD) природных популяций на основе ПЦР	Изучение генетической структуры природных популяций <i>Festuca pratensis</i>
Статистическая обработка данных с использованием методов элементарной статистики и математического моделирования	Анализ и обобщение результатов

Фертильность пыльцы изучали у материнских растений-ревертантов в течение 6 вегетационных сезонов. В период цветения пыльники с пыльцой фиксировали в 70° спирте и оценивали фертильность пыльцевых зерен по способности их окрашиваться 1% раствором ацетокармина (Паушева, 1974). К группе фертильной пыльцы относили микроспоры, содержащие зернистую, окрашенную в темно-розовый цвет цитоплазму, вегетативное ядро и 2 генеративные клетки. Стерильной считалась сморщенная, неокрашенная, с видимыми повреждениями пыльца. Общее число пыльцевых зерен (более 2000 для каждого фенотипа) просматривали в 50 полях зрения микроскопа.

Анатомические методы изучения структуры фотосинтетического аппарата растений-ревертантов

Строение мезофилла листа изучали на временных и постоянных препаратах поперечных срезов, приготовленных по общепринятым методикам (Аксенов, 1967; Фурст, 1979). Размеры клеток хлоренхимы и число хлоропластов в них определялись на мацерированном материале по методике А. Т. Мокроносова и Р. А. Борзенковой (1978). Число хлоропластов, приходящихся на единицу площади (104 мкм^2) и объема (104 мкм^3), рассчитывали как отношение количества хлоропластов в клетке к ее площади и объему.

Для исследования ультраструктуры мезофилла методом трансмиссионной электронной микроскопии фиксировали фрагменты из средней части первого листа 10-дневных проростков и листа вегетативного побега взрослых растений по общепринятой методике: в 3% растворе глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) с постфиксацией в 2% растворе OsO_4 на фосфатном буфере (рН 8,0). После стандартной процедуры обезвоживания в серии спиртов и ацетона материал заливали в смесь эпона 812 и аралдита М. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме Ultracut E и исследовали на электронном микроскопе Hitachi 600 в лаборатории анатомии и морфологии Ботанического института им. В. Л. Комарова (С.-Петербург). Анализировали клетки 1-го субэпидермального слоя мезофилла по стандартным методикам (Мокроносов, Борзенкова, 1978; Силаева, Силаев, 1979). Парциальный объем структур-

ных элементов хлоропласта определяли методом сеток случайного шага как процентное отношение площади структурного элемента к площади хлоропласта (Силаева, Силаев, 1979). Коэффициент гранальности рассчитывали как отношение гранальных и агранальных мембран. Под агранальными мембранами понималась совокупность мембран, обращенных к строме, т. е. краевых мембран гран и непосредственно мембран стромы (Anderson, 1999). Протяженность мембран измеряли курвиметром. Площади среза клеток и органелл измеряли палеткой. Объем клеток находили по измененной формуле цилиндра:

$$V = \pi r^2 LK, \quad (1)$$

объем органелл находили по формуле Чезаро:

$$4/3\pi r^2(L/2)^2, \quad (2)$$

где r – половина ширины клетки, L – длина клетки, K – коэффициент (Цельникер, 1975; Мокроносов, Борзенкова, 1978). Количество элементов на единицу площади среза клетки рассчитывали как отношение количества элементов на срезе к его площади. Проводилось 25–50 измерений. Достоверность различий средних арифметических оценивали по критерию Стьюдента (Зайцев, 1984).

Методы выделения и идентификации зеленых и желтых пигментов

Содержание хлорофиллов a , b и каротиноидов определяли у растений четвертого года жизни (105 клонов) в исходной вытяжке без предварительного разделения пигментов, используя спектрофотометр СФ-10 (3 повторности в трех параллелях каждая). Предварительно определяли максимумы спектров поглощения пигментов в 100% ацетоне на спектрофотометре *UV-VIS Specord*. Оптическую плотность экстракта измеряли при двух длинах волн, хлорофиллы a и b в красной области спектра (667 и 649 нм) и при длине волны абсорбционного максимума каротиноидов (446,5 нм). Концентрацию пигментов (мг/г сырой массы) определяли расчетным путем (Шлык, 1968; Методы биохимического..., 1978). Расчет количества зеленых пигментов (хлорофиллы a и b), ассоциированных с реакционным центром (РЦ) фотосистем (ФС) I и II и свето собирающим комплексом (ССК), проводили с учетом того, что в

ССК находится весь хлорофилл *b* и часть хлорофилла *a*, соответствующая коэффициенту 1,3 (для злаков 1,2) от хлорофилла *b* (Lichtenthaler, 1987). Оставшаяся часть хлорофилла *a* содержится в РЦ ФС I и II. Формулы:

$$\text{ССК} = 1,2 \text{ chl } b + \text{chl } b \quad (3)$$

$$\text{РЦ} = (\text{chl } a + \text{chl } b) - \text{ССК} \quad (4)$$

Эффективность работы виолоксантинового цикла оценивали критерием эффективности дезоксидации (КЭД) по формуле:

$$\text{КЭД} = (A + Z)/(A + Z + V), \quad (5)$$

где *A* – количество антероксантина, *Z* – количество зеаксантина, *V* – количество виолаксантина (Elrad et al., 2002).

Метод адсорбционной тонкослойной хроматографии

Метод, основанный на различной адсорбции составных частей смеси на твердом адсорбенте, был использован для разделения каротиноидов (Берёзов, Коровкин, 1990). Стандартизированную навеску (300 мг) растирали в фарфоровой ступке с кварцевым песком до получения гомогенной массы. Для нейтрализации клеточного сока в ступку при растирании добавляли небольшое количество мела (Методы биохимического..., 1978). Извлечение пигментов из хорошо измельченных свежих тканей растений проводили при комнатной температуре с использованием чистого ацетона (4,5 мл/300 мг) (Сапожников, 1964). С целью удаления из вытяжки твердой фазы, состоящей из мезги, кварцевого песка и нейтрализующего агента, пробы центрифугировали 10 мин при 3,5 тыс. об/мин.

Фракционирование пигментов осуществляли методом двумерной хроматографии в тонком слое на пластинах размером 150×150 мм марки «*Silufol UV-366*» (Дараселия, 1983). Ацетоновый экстракт (0,5 мл) наносили капилляром на точку старта, отстоящую на расстоянии 2 см от нижнего и боковых краев пластины, постоянно подсушивая пятно в токе воздуха. Пластины помещали в герметичную хроматографическую камеру. Разгонка производилась в смеси бензин – ацетон – хлороформ (5 : 5 : 4) в течение 30 мин в каждом из двух направлений.

После разгонки и измерения коэффициентов распределения (*R_f*) пигментные зоны вырезали с пластин и помещали в отдельные про-

бирки с растворителями. Каротины элюировали хлороформом, а ксантофиллы – чистым ацетоном. Затем пробы центрифугировали 10 мин при 3,5 тыс. об/мин (Методы биохимического..., 1978).

Каротиноиды идентифицировали по сопоставлению максимумов поглощения полученных элюатов с эталонными спектрами пигментов в одинаковых растворителях, а также на основе сравнения R_f и по качественным реакциям (Дараселия, 1983). Спектры поглощения устанавливали с помощью «*UV-VIS Specord*». R_f рассчитывали по формуле:

$$R_f = a : b, \quad (6)$$

где a – расстояние, пройденное пигментом; b – расстояние, пройденное фронтом растворителя (Досон и др., 1991).

Каротиноиды разного типа в реакциях с рядом сильных неорганических кислот дают продукты разного цвета. С помощью качественных реакций были идентифицированы лютеин, зеаксантин и β -каротин (Дараселия, 1983).

Количественное содержание каротиноидов, разделенных методом хроматографии, оценивали по оптической плотности элюата при длине волны, соответствующей максимуму поглощения данного соединения, на спектрофотометре. Концентрацию пигмента в элюате рассчитывали по формуле согласно закону Ламберта – Бера, используя стандартные величины специфических коэффициентов поглощения каротиноидов:

$$C = E_{\max} \times d / E^{1\%}, \quad (7)$$

где C – концентрация исследуемого пигмента, мг/мл; E_{\max} – оптическая плотность при длине волны, соответствующей главному максимуму поглощения пигмента; $E^{1\%}$ – специфический коэффициент экстинкции, равный оптической плотности 1% раствора вещества (табл. 2); d – толщина слоя исследуемого раствора.

Содержание пигмента в исследуемых тканях растения (мг/г) рассчитывали по формуле:

$$A = C \times V \times V_1 / V_2 \times P, \quad (8)$$

где A – содержание пигмента, мг/г; C – концентрация пигмента, мг/мл; V – объем исходной вытяжки, мл; V_1 – объем элюата, мл; V_2 – объем вытяжки, нанесенной на хроматограмму, мл; P – навеска, г (Методы биохимического..., 1978).

Таблица 2. Главные максимумы поглощения и специфические коэффициенты экстинкции

Пигмент	Растворитель	Максимум поглощения (нм)	Коэффициент экстинкции
Каротины	хлороформ	464	2200
Зеаксантин + Антраксантин	ацетон	456	2310
Лютеин	ацетон	448	2540
Виолаксантин	ацетон	427	2500
Неоксантин	ацетон	423	2270

Оценка эффективности работы фотосинтетического аппарата и фотопротекторных свойств растений Festuca pratensis

Оценку эффективности работы фотосинтетического аппарата проводили на основе определения нескольких параметров электронного транспорта с помощью флюориметра MINI-PAM (Walz, 1996; Netherington et al., 1998). Измеряли листья растений в генеративной фазе развития в полевом эксперименте (второй лист на генеративном побеге) и листья растений в вегетативной фазе развития в лабораторном эксперименте (второй лист на вегетативном побеге).

Количество проанализированных листьев на одном растении – 2–4, количество проанализированных растений, различающихся хлорофильным дефектом в полевом эксперименте, – 4–12, в лабораторном эксперименте – 4–8.

Основные параметры, характеризующие различные потоки электронного транспорта, представлены в табл. 3.

Оценка интенсивности фотосинтеза на основе изучения CO₂-газообмена

Исследование проводили на растениях *F. pratensis*, выращенных в лабораторных условиях в горшочках с почвенным субстратом при температуре воздуха 25 °С, относительной влажности воздуха 50–60%, интенсивности света 144 мкмоль м² с⁻¹ ФАР, при фотопериоде 14 часов и достигших фазы кушения (10–12 вегетативных побегов).

Интенсивность нетто-фотосинтеза (CO₂ – газообмен на свету) 2-го листа изучали с помощью портативной фотосинтетической системы HSM-1000 (Walz, 1996). Условия изучения газообмена

внутри листовой камеры площадью $2,5 \text{ см}^2$ – температура воздуха $25 \text{ }^\circ\text{C}$, относительная влажность воздуха $50\text{--}60\%$, интенсивность света измерялась ступенями: $800, 500, 300, 100, 0 \text{ мкмоль м}^2 \text{ с}^{-1}$ ФАР, температура листа $25\text{--}28 \text{ }^\circ\text{C}$. По данным эксперимента были построены световые кривые нетто-фотосинтеза изученных образцов растений (Мокроносов, 1987).

Таблица 3. **Параметры потоков электронного транспорта**

Показатель	Формула	Ссылка
Флюоресценция образца растения (листа) перед пульсом насыщенности светом	F	Genty et al., 1989
Максимальная флюоресценция приспособленных к свету образцов	F _m	
Потенциал фотохимической эффективности (потенциальный квантовый выход фотохимии)	F _v /F _m	
Эффективный (фактический) выход фотохимического превращения энергии:	$Y = (F\phi_m - F)/F\phi_m$	
Фотохимическое тушение	$qP = (F_m - F)/(F_m - F_0)$	
Нефотохимическое тушение	$qN = (F_m - F\phi_m)/(F_m - F_0)$	Bilger, Schreiber, 1986
Часть нефотохимического тушения хлорофилла <i>a</i> , рассеянного в виде тепла	NPQ	

Примечание. F₀, F_v и F_m – основная (фоновая), переменная и максимальная флюоресценция адаптировавшихся к темноте образцов растений.

Оценка жизнеспособности, плодовитости, приспособленности растений и действия естественного отбора

Оценку выживаемости проводили на разных этапах онтогенетического развития растений (фертильность пыльцы, фертильность соцветия, всхожесть семян, доля выживших проростков, доля растений, достигших репродуктивной фазы развития) и вычисляли общую выживаемость путем умножения долей каждого показателя. Плодовитость особей оценивали на основе показателей массы семян на растение и массы 1000 семян. Оценку приспособленности проводили на основе анализа выживаемости и плодовитости растений (Тимофеев-Ресовский и др., 1977; Алтухов, 2003). Приспособленность рассчитывали

как произведение общей выживаемости и плодовитости по формуле:

$$W = v * k, \quad (9)$$

где v – выживаемость, k – плодовитость, W – приспособленность в долгах относительно *w-type* или контрольной популяции.

Элиминирующее действие отбора рассчитывали по формуле:

$$S = 1 - W, \quad (10)$$

где S – показатель элиминирующего отбора.

Для оценки действия естественного отбора (стабилизирующей формы) вычисляли среднюю арифметическую, а также разность между средним и конкретным значением соответственно для каждого признака. Полученные ряды разностей ранжировали. По диаграммам рядов разностей от средней вычисляли тренды (линии рассеивания) и по углу их наклона (крутизны) устанавливали степень различий между группами индивидуумов (особей) в отношении действия стабилизирующего отбора. При этом использовали формулу:

$$y = a + bx, \quad (11)$$

где y – разность между средним и конкретным значением признака; a – значение пересечения линии тренда с осью Y ; b – tg угла наклона линии тренда; x – номер ранга особи. Отклонения от средних в большинстве случаев значительно отличались друг от друга при $p < 0,05$, что вместе с высокими значениями коэффициента детерминации позволяло считать результаты статистически достоверными (Кох, 1994).

Описание мест расположения изучаемых природных популяций Festuca pratensis

В 1992–1995 гг. сравнивали популяции овсяницы луговой бассейна Ладожского озера (г. Питкяранта, о. Валаам) и популяции бассейна Онежского озера (западное побережье – г. Кондопога, г. Петрозаводск, о. Кижы, о. Большой Леликовский, о. Климецкий). Кроме того, в каждую группу входили популяции, подверженные антропогенному воздействию (городские популяции), и популяции островов, относительно экологически чистые. В 1995 г. была обследована популяция бассейна Онежского озера с восточного побережья – Бесов Нос (экологически чистый район).

Сбор семян осуществляли в период их полного созревания. В городах Петрозаводск и Кондопога сбор семян в разные годы исследований проводили на различных площадках. Так, в 1992 г. семена собирали в относительно чистых местах – пригороде г. Кондопоги на берегу Кондопожской губы (Конд-1) и в пригороде г. Петрозаводска на агробиологической станции Карельского научного центра (Петр-1); в 1993 г. в г. Кондопоге у причала (Конд-2). В 1994 г. семена были взяты в центре г. Кондопоги на загрязненной отходами производства целлюлозно-бумажного комбината территории (Конд-3). Популяция Петрозаводск-2 (Петр-2) (сбор семян 1993–1995 гг.) располагалась в центре города в районе Онежского тракторного завода, где экологическая ситуация неблагоприятна. В г. Питкяранте в 1993 и 1994 гг. семена собирали также в центре города.

Метод электрофоретического анализа растительных популяций

Семена от 40 до 70 растений каждой популяции проращивали на фильтровальной бумаге под люминесцентными лампами. Анализировали 10-дневные проростки. Приготовление образцов для электрофореза, разгонку и окраску изоферментов проводили по общепринятым методикам (Корочкин и др., 1977). Электрофорез проводили в трис-ЭДТА-боратной буферной системе рН 8,3 при напряжении 200 В в течение 2,5 ч. Удовлетворительные результаты были получены для пяти ферментных систем: алкогольдегидрогеназы (ADH, Е.С. 1.1.1.1), изоцитратдегидрогеназы (IDH, Е.С. 1.1.1.42), глутаматоксалат-трансаминазы (GOT, Е.С. 2.6.1.1), кислой фосфатазы (ACP, Е.С. 3.1.3.2) и эстеразы (EST, Е.С. 3.1.1.*). В окончательный анализ и расчеты были взяты шесть локусов: Adh, Idh, Got-1, Got-2, Acp-2, Est-3.

Поскольку овсяница луговая – диплоид, была определена генетическая основа большинства аллозимных вариаций, базирующаяся на известной субъединичной основе (Корочкин и др., 1977). При обозначении аллелей использовали следующие символы: *F* – быстрый, *S* – медленный, *I* – промежуточные аллели по скорости перемещения в геле. Нуль-аллель – 0. Остальные аллели и редкие варианты обозначали произвольными буквами.

Статистическую обработку полученных результатов проводили используя пакет программ POPGENE (Yeh, Boyle, 1997). Для этого были составлены бинарные матрицы, в которых присутствие или отсутствие в спектре одинаковых фрагментов ДНК обозначали как «1» или «0». Уровень генетического разнообразия популяций определяли с помощью следующих показателей: доли полиморфных локусов при 95% критерии (P), ожидаемой гетерозиготности (H_{exp}) и числа аллелей на локус (A).

Генетическую подразделенность популяций и их генетическое сходство определяли так же, как и при аллозимном анализе. Количество мигрантов на поколение оценивали по формуле:

$$N_e m = (1 - F_{ST})/4F_{ST}, \quad (12)$$

где N_e – эффективный размер популяции, m – коэффициент миграции (Хедрик, 2003). Среднюю приспособленность популяций (W) рассчитывали по формуле (9).

ГЛАВА 2

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ПОПУЛЯЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ С ЕСТЕСТВЕННЫМ И ИНДУЦИРОВАННЫМ ГРУЗОМ ПИГМЕНТНЫХ МУТАЦИЙ

2.1. Пигментные мутации в популяциях высших растений (обзор проблемы)

Понятие генетического груза, означающего снижение приспособленности популяции в определенных условиях окружающей среды и сопровождающего процессы сохранения генетического разнообразия, введено в генетику в начале 50-х гг. XX столетия (Müller, 1950). Однако еще в 1920–1930-х гг. были выполнены работы, показавшие насыщенность природных популяций неприспособленными мутантными фенотипами, которые выщеплялись в каждом поколении из внешне нормальных особей (Четвериков, 1926; Н. Timofeeff-Ressovsky, N. Timofeeff-Ressovsky, 1927; Дубинин и др., 1934; 1937). Несмотря на довольно продолжительный период изучения данной проблемы, концепция генетического груза, представляя особое значение в оценке приспособленности индивидуумов, популяций и интенсивности действия естественного отбора, до сих пор остается недостаточно разработанным разделом популяционной генетики (Динамика популяционных генофондов, 2004). Обусловлено это прежде всего медленным накоплением фактического материала, а не отсутствием интереса у исследователей. Рассмотрим основные итоги и проблемы изучения пигментных мутаций у высших растений как одной из форм генетического груза.

Главная причина формирования генетического груза – способность про- и эукариотических организмов сохранять в ряде генеративных потомств повреждения ДНК, возникающие в результате мутаций (Ganesan et al., 1982). В панмиктических популяциях растений этот груз может достигать значительной величины и оказы-

вать существенное влияние на формирование структурных и функциональных особенностей популяционного фенотипа и в той или иной степени ограничивать потенциал выживаемости и репродуктивной способности особей, слагающих популяцию.

У растений, важнейшей биологической особенностью которых является способность к автотрофному питанию, т. е. фотосинтезу, большое значение имеют различного рода нарушения пигментации (хлорофиллдефектность): от ядерных пигментных мутаций, консервативно блокирующих те или иные звенья биосинтеза пигментов, до лабильного изменения структуры хлоропласта в результате его повышенной термо- или светочувствительности. Среди различных мутаций, присущих растениям, пигментные (хлорофильные) мутации занимают особое место, что объясняется как высокой частотой встречаемости, так и сравнительной простотой их фенотипической оценки. Эта особенность позволяет использовать пигментные мутации в качестве маркеров при решении широкого круга задач, в частности при оценке эффектов естественного и индуцированного мутационного процесса (Holm, 1954; Apirion, Zonary, 1961; Ehrenberg et al., 1961; Gustaffson, 1963; Gaul, 1964), при изучении генетического контроля синтеза зеленых (Suzuki et al., 1997) и желтых (Bouvier et al., 1996; Marin et al., 1996; Pogson et al., 1996; Sun et al., 1996; Burbidge et al., 1997) пигментов, генетической регуляции процессов образования хлоропластных белков и ферментов (Reinbothe, Reinbothe, 1996; Reinbothe et al., 1997; Beale, 1999), механизмов фотоустойчивости растений (Niyogi et al., 1998).

Изучение генетической основы хлорофиллдефектности позволило установить, что пигментные мутации возникают в результате мутаций генов и/или изменения структуры хромосом (ядерные мутации); вследствие мутаций в ДНК хлоропласта (пластидные мутации); а также из-за изменения цитоплазмы. Наследование хлорофиллдефектности ядерного типа подчиняется законам Менделя. Закономерности цитоплазматической наследственности были открыты на спонтанно возникающих в природе пестролистных формах растений (*Mirabilis jalapa*, *Antirrhinum majus*, *Primula sinensis*, *Pelargonium zonale*). Передача по наследству подобных аномалий происходит по принципу материнской цитоплазматической наследственности (Насыров, 1975; Фадеева и др., 1980).

В литературе описаны пигментные мутанты у ячменя, гороха, арабидопсиса, кукурузы, хлопчатника, у ряда многолетних злаков, а также у других видов высших растений. Они имеют различное фенотипическое проявление: темно- и светло-зеленые, желтые, золотистые, белые и др. Наиболее ранние описания хлорофильных мутантов ячменя типа альбовиридис и альбоксанта принадлежат Нильссону-Эле (Nilsson-Ehle, 1913), а альбина, ксанта, виресценс и лютесценс – Хольквисту (Hallquist, 1924). Большой вклад в изучение хлорофильных мутаций внесли также де Хаан (Haan, 1933) и Эйстер (Eyster, 1934), которым принадлежат и первые попытки классификации хлорофильных мутаций. общепризнанная классификация была предложена шведским ученым Густафссоном (Gustafsson, 1940). Он подразделил мутации по фенотипическому выражению: альбина, ксанта, альбовиридис, виридис, тигрина и др. Позднее появились более детальные классификации (Lamprecht, 1955, 1960; Hänsel, 1960; Blixt et al., 1963). Описано большое количество типов пигментных мутаций у различных видов растений, например, у гороха выявлено 176 типов мутаций (Gottschalk, 1964), а у ячменя – 198 хлоропластных мутантов, которые были разделены на 5 групп: ксанта, тигрина, зоната, виридис и вироидальбина (Wettstein, Eriksson, 1965).

Существуют и другие подходы к классификации хлорофильных мутантов, например, по их физико-химической природе (Насыров, 1975; Фадеева и др., 1980):

1. Мутанты с блокировкой одной или нескольких стадий фотосинтеза, но сохранившие без изменения ультраструктуру хлоропласта и пигментный состав.

2. Пигментные мутанты, у которых блокирована одна из заключительных стадий биосинтеза пигментов и нарушена структура хлоропластов.

3. Ауксотрофные мутанты, у которых блокирован синтез аминокислот, входящих в состав структурных белков хлоропласта.

Мутанты с потерей фотосинтетической способности, как правило, летальны; их гибель может быть связана с нарушением фосфорилирования (отсутствие синтеза АТФ), блокированием активности реакционных центров или другими нарушениями (Wettstein et al., 1971). У одного из мутантов гороха установлено нарушение

электронно-транспортной цепи фотосинтеза, вследствие чего мутанты гибнут в фазе 2–3 настоящих листьев (Гостимский и др., 1991). Подобные мутанты известны у арабидопсиса, кукурузы, подсолнечника, ячменя и других высших растений (Хагеманн и др., 1972; Насыров, 1975; Stummann et al., 1980; Freeman et al., 1982; Duysen et al., 1984; Greene et al., 1988; Eskins et al., 1991; Bachmann et al., 1994; Bossmann et al., 1999).

Ауксотрофные мутанты отличаются тем, что добавление в среду культивирования недостающей в белке аминокислоты, вызывающей изменения в структуре хлоропластов и депигментацию, приводит к восстановлению структуры пластид. У ячменя, например, известен мутант *albina* с недостаточностью по аспарагину и лейцину. Хлоропласты такого мутанта практически не сформированы, часто имеют нетипичную, округлую или амебоидную форму, мембраны отсутствуют или представлены отдельными пузырьками. Добавление в среду аспарагина и лейцина нормализует формирование тилакоидов и гран (Wallis, 1971). Для арабидопсиса описан белый мутант, зеленеющий при добавлении в среду лейцина и тиамина (Насыров, 1975).

Хлорофиллдефектность растений другой группы выражается в неспособности синтезировать те или иные ферменты, участвующие в биосинтезе пигментов, вследствие чего нарушается структура пластидного аппарата и снижается содержание пигментов. Оба процесса, структурная деструкция и функциональная недостаточность, оказываются при этом тесно взаимосвязанными. Пигментный состав мутантов этой группы был изучен многими исследователями на разных видах растений: кукурузе, подсолнечнике, арабидопсисе, злаках и других (Nybom, 1955; Krinsky, Levines, 1964; Boardman, Highkin, 1966; McWilliam, Naylor, 1967; Highkin et al., 1969; Huffaker et al., 1970; Столбова, 1971; Land et al., 1971; Gavazzi et al., 1975; Specht, Gotz, 1975; Mascia, 1978; Miles et al., 1979; Bellemare et al., 1982; Eskins et al., 1983; Markwell et al., 1985, 1986; Runge et al., 1995; Krol et al., 1999).

Специфично функционирующие мутанты, для которых установлен генетический контроль дефекта (по генам *npq*, *aba*, *lut*, *lor*, *chl*, *vtc*, *PsbS* и др.), явились основными объектами изучения роли отдельных пигментов, белков, антиоксидантов в формировании

фотопротекторных свойств водорослей и высших растений (Niyogi et al., 1997a; Niyogi, 1999; Elrad et al., 2002). Наибольший интерес представляют *npq* мутанты, у которых нарушен биосинтез ксантофиллов (Lamprecht, 1960; McWilliam, Naylor, 1967; Hurry et al., 1997; Niyogi et al., 1997a, 1997b). Мутанты *Chlamydomonas*, дефектные по гену, контролирующему зеаксантинооксидазу (ZE), имеют блок в конверсии виолаксантина (Vx) к зеаксантину (Zx) (*npq1*) и Zx к Vx (*npq2*). Впоследствии было показано, что мутанты *npq2 Chlamydomonas*, *abal Arabidopsis* и *aba2 Nicotiana* накапливают Zx и содержат малые количества Ax, Vx и Nx (Koornneef et al., 1982; Duckham et al., 1991; Rock, Zeevaart, 1991; Marin et al., 1996; Niyogi et al., 1997a, 1998). Присутствие Zx в светособирающих комплексах фотосистемы II (ССК ФС II) у LHCs, *npq2* и *abal* мутантов оказалось недостаточным для тепловой диссипации, которая является рН-зависимой и требует низкого значения рН люмена. Индукция нефотохимического тушения хлорофилла (NPQ) при интенсивном освещении оказалась более быстродействующей у мутантов по сравнению с диким типом (Bilger, Björkman, 1990; Tardy, Navaux, 1996; Hurry et al., 1997; Niyogi et al., 1997b, 1998). Возможно, что у этих мутантов NPQ связано исключительно с повышением рН люмена. При интенсивном кратковременном освещении некоторые *abal*-мутанты показали ту же самую чувствительность к фотоингибированию, что и дикий тип (Hurry et al., 1997). Мутант *abal* в сочетании с другим мутантным аллелем оказался более светочувствительным (Bilger, Björkman, 1990; Tardy, Navaux, 1996).

Существуют некоторые различия в характеристиках NPQ у мутантов *Chlamydomonas* и *Arabidopsis*. У дикого типа *Chlamydomonas* после экспозиции светом высокой интенсивности выявлены две фазы NPQ, зависящие от цикла ксантофиллов: начальное быстродействующее увеличение NPQ составляло 70%, а медленное – 30%. У *npq1 Chlamydomonas* мутация затрагивает только вторую фазу (McWilliam, Naylor, 1967; Niyogi et al., 1997a). Мутант *npq1 Arabidopsis* показывает относительно растений дикого типа уменьшение NPQ на 80%, связанное с ксантофилловым циклом (Niyogi et al., 1998).

Chlamydomonas npp1-мутанты неспособны конвертировать Vx в Zx при интенсивном освещении. Они являются лишь частично дефектными по NPQ, но сохраняют рН-зависимую тепловую диссипацию. Это позволило предположить, что не вся тепловая диссипация у водорослей зависит от действия ксантофиллового цикла (McWilliam, Naylor, 1967; Niyogi et al., 1997a).

Генетические и молекулярные исследования *npp1* мутантов *Arabidopsis*, несущих рецессивную мутацию в гене, контролирующем синтез виолоксантиндеэпоксидазу (VDE), в отличие от *Chlamydomonas*, показали, что индукция рН-зависимой тепловой диссипации у *npp1* мутантов *Arabidopsis* почти полностью замедляется, т. е. большая часть тепловой диссипации у них зависит от деэпоксидации Vx (Niyogi et al., 1998). Листья растений *npp1* мутантов после кратковременного освещения интенсивным светом выдерживали большее фотоингибирование, чем дикий тип (Winter, Königler, 1989; Bilger, Björkman, 1990). В условиях, когда осуществляется переход от низкого уровня освещения к высокому, *npp1* мутанты проявляли большую чувствительность к фотоингибированию и окислению липидов, чем дикий тип. Рост *npp1* мутантов при высоком освещении не отличался существенно от растений дикого типа, при этом сохранялась способность к выживанию (Navaux, Niyogi, 1999). Возможно, что дефект в *npp1* может быть компенсирован другими фотозащитными процессами (Niyogi et al., 1998).

Изучение адаптации *vtc2* мутанта *Arabidopsis* с дефицитом аскорбата (Conklin et al., 1996, 2000) и двойных мутантов *vtc2-npp1* и *vtc2-npq4* (Müller-Moulé et al., 2003, 2004) по показателям роста при свете высокой интенсивности выявило относительную важность аскорбата по сравнению с другими фотопротекторными механизмами (ролью определенных ксантофиллов, белков и дезактивации обратной связи). Мутанты *vtc2* были чувствительны к интенсивному освещению и показали высокую степень выцветания сформировавшихся листьев, окисления липидов и фотоингибирования по сравнению с диким типом или *npp1* мутантами. Двойные мутанты *vtc2-npp1* с недостатком Zx и *vtc2-npq4* с недостатком PsbS-белков оказались еще более восприимчивыми к фотоокислению и обнаружили снижение уровня NPQ приблизительно в два раза, что указывает на синергизм различных фотозащитных меха-

низмов, а также подчеркивает их множественность и сложность (Müller-Moulé et al., 2003).

Исследование *lor1* мутанта *Chlamydomonas*, который испытывает недостаток в ксантофиллах, производных от каротина, указывает на возможную роль лютеина в тепловой диссипации (Chunaev et al., 1991; Niyogi et al., 1997a). Ни *npq1*, ни *lor1* мутанты, растущие при интенсивном освещении, оказались нечувствительны к фотоингибированию. Однако двойной мутант *npq1-lor1* с недостатком рН-зависимой тепловой диссипации проявлял чувствительность к фотоокислительной деструкции пигментов при тех же условиях (Niyogi et al., 1997a, 2001).

Анализ *npq1* мутантов *Arabidopsis* с низким содержанием лютеина показал рН-зависимый NPQ. Мутант *lut2* с дефектом, вызванным мутацией в гене циклазы ликопена, демонстрирует более медленную индукцию и более низкую степень NPQ, чем дикий тип (Newell et al., 1991; Pogson et al., 1998). Двойной мутант *npq1-lut2* характеризовался низким уровнем рН-зависимого NPQ. Лютеин может оказывать как прямое влияние на тепловую диссипацию как у *lor1* и *lut2* мутантов, так и косвенное, понижая относительную эффективность Zx (Niyogi, 1999).

У мутанта *npq4* состав ксантофиллов не отличался от дикого типа, но имелся низкий уровень NPQ. Высокая жизнеспособность мутанта при интенсивном свете позволила предположить, что фотопротекция у него реализуется через другие механизмы фотозащиты (Niyogi, 1999).

У *Chlamydomonas* описан *npq5*-мутант, который не способен устанавливать быстрое реверсионное NPQ. У этого мутанта отсутствует один из главных светособирающих полипептидов – Lhcb1 в ССК, что дало основание предполагать его участие в процессе NPQ (Elrad et al., 2002). Эта работа стала стимулом для активизации структурного подхода, используемого в последние годы в исследованиях механизмов утилизации световой энергии и фотопротекции у пигментных мутантов (Horton et al., 1996; Niyogi, 1999; Wollman, 2000; Elrad et al., 2002; Caffarri et al., 2004; Liu et al., 2004; Standfuss, Kuhlbrandt, 2004).

Как показано на структурной модели шпината, ЛНСII – гетерогенный тример, состоящий из трех почти идентичных полипепти-

дов, формирует внешнюю вспомогательную антенну и связан с основной антенной ФС II через внутреннюю. Тример ЛНСII выполняет функции адсорбции света и тепловой диссипации избыточно поглощенной энергии (Horton et al., 1996; Niyogi, 1999; Wollman, 2000; Elrad et al., 2002). Белки Lhcb1 и Lhcb2 тримера в количественном отношении и по свойствам сходны друг с другом и отличаются от Lhcb3–белка (Caffarri et al., 2004; Standfuss, Kuhlbrandt, 2004). Каждая мономерная субъединица содержит 14 молекул хлорофиллов (восемь хлорофилла *a* и шесть хлорофилла *b*), четыре каротиноидов (две молекулы лютеина, одну неоксантина и пигмент виолоксантинового цикла) и две липидов. Изучены структурные детали комплекса, включая размещение и ориентацию связанных хлорофиллов, различие между хлорофиллом *a* и *b*, место расположения лютеина и неоксантина. Такой комплекс обеспечивает несколько путей трансдукции сигнала и быстрое использование поглощенной энергии (Liu et al., 2004).

В то же время механизм диссипации избыточно поглощенной энергии в ЛНСII, включая место расположения пигментов виолоксантинового цикла и роль белков, находится в стадии исследования. Вспомогательные антенны могут различаться размером и составом пигментов, позволяя фотосинтезирующим организмам эффективно использовать большую часть солнечного спектра и экологических ниш.

Изучение мутантов ячменя, дефектных по хлорофиллу *b*, выявило специфическую его функцию в процессе термальной диссипации. Мутант с низким содержанием хлорофилла *b* имел меньшее количество некоторых полипептидов ФС I и ФС II, обнаруживал дефекты в тилакоидной структуре пластид и, что особенно важно, – редукцию NPQ. После переноса растений из среды с непостоянным освещением на постоянный свет обнаружилась взаимосвязь между уровнями NPQ и хлорофилла *b* (Hartel et al., 1996; Chow et al., 2000; Gilmore, Ball, 2000). Однако плеiotропная природа этих мутантов усложняла выявление относительной роли хлорофилла *b* и тримеров ССК ФС II в тепловой диссипации.

Таким образом, результаты изучения пигментных мутантов водорослей и высших растений позволили показать не только относительный вклад отдельных пигментов, белков и антиоксидантов в

фотопротекцию, но и существование различных путей абсорбции света, синергизм различных фотозащитных механизмов, обеспечивающих адаптацию к изменяющимся условиям среды, что подчеркивает сложность и множественность фотопротекторных механизмов растений.

Как показали исследования ряда авторов, фенотипическое проявление некоторых пигментных мутантов существенным образом зависит от условий культивирования растений: освещенности, температуры, почвенного питания и других внешних факторов. В частности, Коллинз (Collins, 1937) на ячмене и Истер (Eyster, 1933) на кукурузе впервые установили, что в некоторых случаях хлорофиллдефектность характеризуется зависимым от температуры типом экспрессии. Вопросам генетического контроля пигментных нарушений подобного типа посвящен ряд исследований (Holm, 1954; Nybom, 1955; Robertson, Anderson, 1961; Stanford, 1969; Land et al., 1971).

Как феномен температурозависимые пигментные нарушения в виде ядерных рецессивных мутаций хорошо известны (Robertson, Anderson, 1961; Stanford, 1969; Land et al., 1971). Это касается класса мутантов, в котором растения обнаруживают хлорофильную недостаточность при пониженной температуре культивирования (10–15 °C). Большой ряд температурозависимых мутантов ячменя, полученных с помощью ионизирующей радиации, проявляли свойственную им хлорофильную недостаточность при 12 °C (Nybom, 1955). Дефекты пигментации при той или иной температуре культивирования растений обнаружены у кукурузы (McWilliam, Naylor, 1967; Millerd, McWilliam, 1968; Alberto et al., 1974; Gavazzi et al., 1975), люцерны (Huffaker et al., 1970), костра безостого (Dunn et al., 1973), овсяницы луговой (Kajanus, 1921; Beddows, 1931; Land et al., 1971). Большинство хлорофильных мутантов (особенно желтых и белых) обладали низкой жизнеспособностью и редко выживали в естественной среде обитания (Land et al., 1971; Туренцева и др., 1975; Crăciun, Corneanu, 1980; Kevin, Willson, 1980; Янков и др., 1996).

Однако существует и другой класс пигментных мутантов, которые обладают визуально скрытой хлорофиллдефектностью в природных условиях, что связано с действием генов-супрессоров,

частично или полностью устраняющих проявление мутации (Лобашев и др., 1970; Rieger et al., 1992; Арефьев, Лисовенко, 1995). Феноменология генетической супрессии («версия эукариот») наиболее полно описана для дрожжей на основе изучения мутантов по генам *SUP35* (*SUP2*) и *SUP45* (*SUP1*). Обнаружение гомологов этих генов у других эукариот (животных и растений) позволяет считать, что данная генетическая система является специфичной для эукариот эволюционно-консервативной системой, обеспечивающей не только точность трансляции, но и ее интеграцию с другими клеточными процессами. Именно эти гены способствуют сохранению от действия отбора первичных мутаций, а следовательно, расширению генетического разнообразия. Обладая широкой плейотропией, они могут повышать адаптивные свойства и выживаемость индивидуумов и популяций, а также вносить вклад в эволюционные процессы (Инге-Вечтомов и др., 1994; Инге-Вечтомов, 2004).

У ряда видов многолетних злаков (овсяница луговая, овсяница красная, ежа сборная, тимофеевка луговая) обнаружена система температурозависимой депигментации проростков, большая часть которых специфически восстанавливается до нормального фенотипа после изменения экстремальных температурных условий культивирования на оптимальные (Олимпиенко и др., 1976; Титов, Олимпиенко, 1976; Титов и др., 1978). Генетическая основа температурозависимой хлорофиллдефектности базируется на действии генов-супрессоров и сопровождается комплексом компенсаторных эффектов, распространяющихся на широкий спектр анатомических и морфологических признаков и физиологических процессов. Генетическая супрессия хлорофиллдефектности, как естественное мутационное событие, представляет собой характерный механизм выживаемости и экологической устойчивости (светоустойчивости) панмиктических популяций при одновременном сохранении высокого уровня генетического груза. Генетическая дефектность данного типа, находясь под защитой супрессии, тем не менее жестко контролируется естественным (стабилизирующим) отбором, действие которого распространяется на ряд признаков (морфология побегов и листьев, содержание пигментов, выживаемость, плодовитость). Особенности экспрессии морфо-физиологических при-

знаков у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью вызывают относительно долговременную адаптацию к нестабильным температурно-световым условиям произрастания и обеспечивают их жизнеспособность (Олимпиаенко и др., 2005; Лебедева и др., 2007).

Супрессия хлорофиллдефектности у высших растений практически не изучается. Это связано с тем, что активно исследуются лишь дефектные тест-системы, мутантные гены которых обладают блокирующим эффектом. Насколько можно судить, генетический контроль систем репарации хлорофиллдефектности до сих пор не только не изучался, но и не рассматривался как компонент при решении проблемы выживаемости организмов с естественным и индуцированным грузом мутаций.

Как показывает обзор литературы по пигментным мутациям у высших растений, основные исследования направлены на углубленное изучение структурных и функциональных (генетических и фенотипических) особенностей мутантов, выявляемых в ходе онтогенеза. В то же время такие важные популяционные характеристики мутантных особей, как частота встречаемости, выживаемость, плодовитость, действие отбора, приспособленность (возможная адаптивная ценность мутантов, основанная на взаимодействии генов), которые и определяют благополучие/неблагополучие (существование во времени и пространстве) популяций, практически не изучаются. Комплексное исследование мутантов с супрессированной хлорофиллдефектностью, которое осуществляют на протяжении ряда лет авторы монографии, расширяет границы понимания адаптационного потенциала индивидуумов и популяций.

Это направление исследований, разрабатываемое авторами монографии с использованием тест-системы с супрессированной хлорофиллдефектностью многолетних злаков, несомненно, вносит вклад в решение проблемы, имеющей важное научное и практическое значение, и расширяет существующие знания о генетическом грузе популяций растений, о возможности выявления стратегий их выживаемости и заметно дополняет современные представления об основах биоразнообразия растительных организмов.

2.2. Груз пигментных мутаций и выживаемость растений в потомствах *Festuca pratensis*, сформированных на мутантной основе

Для определения частоты индуцированных мутаций у многих видов растений в качестве основного критерия используются видимые рецессивные мутации, связанные с нарушением синтеза хлорофилла, которые могут быть проанализированы уже на стадии проростков (Найлэн, 1967). В нашем исследовании при выборке 1–7 тыс. проростков по каждому мутантному потомству зависимость выхода частоты хлорофильных мутантов от способа перевода мутантных генов в гомозиготное состояние (ауткросс, инцухт, гибридизация) статистически не подтвердилась. Одной из возможных причин является то, что один и тот же мутантный фенотип контролируется не единственным генным локусом. Этим же объясняется наличие семей, неустойчиво выщепляющих мутации в течение трех лет наблюдений (табл. 4).

Таблица 4. Выщепление пигментных мутаций в M_3 -поколении при различных способах опыления растений *Festuca pratensis*

Способ опыления	Проанализировано всего семей (шт.)	Семьи, выщепляющие мутации (%)		
		всего	устойчиво	неустойчиво
Ауткросс M_1 , инцухт семей M_2	56	30,4	16,1	14,3
Гибридизация M_1 , инцухт семей M_2	44	34,1	13,6	20,5
Инцухт соцветия M_1 , инцухт семей M_2	47	44,7	12,8	31,9

Для контроля над величиной груза мутаций был выбран внутрисемейный инцухт, следующий после ауткросса. При этом сочетании способов опыления, как будет показано ниже, отчетливо проявляются и сохраняются на протяжении трех генераций различия между потомствами, полученными на основе воздействия химическими мутагенами и комбинированного применения их с γ -излучением. Для получения наибольшего количества мутаций в ранних генерациях предпочтительнее проводить инцухт соцветия M_1 с последующим семейным инцухтом M_2 -растений (рис. 4).

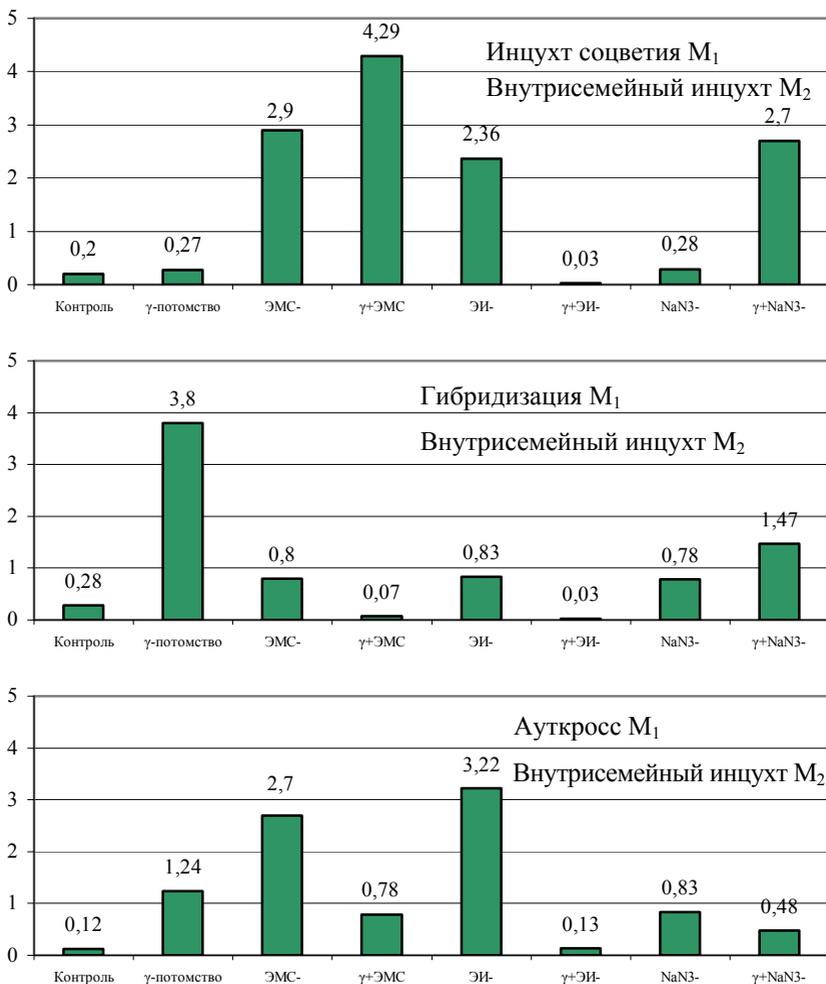


Рис. 4. Зависимость частоты пигментных мутаций от способа опыления у M₃-мутантных потомств *Festuca pratensis*:

ось x – потомства; ось y – частота пигментных мутаций (%)

Наибольшая частота хлорофильных мутаций (20–30-кратное превышение над контролем) в нашем, как и в ряде других исследований (Heiner et al., 1960; Blixt et al., 1963; Gustafsson, 1963),

наблюдалась у M_3 -потомств, сформированных на основе действия алкилирующими монофункциональными соединениями (этиленмин, этилметансульфонат). В случае применения γ -излучения и азид натрия превышение над контролем составило 7–10-кратный уровень. Комбинированное использование γ -излучения с алкилирующими соединениями по тесту «хлорофильные мутации» или не давало эффекта, т. е. результат не превышал контроль, или он был менее значительным: 4–6-кратное повышение (табл. 5).

По данным нашего анализа, этот последний результат связан с элиминацией растений уже в первых генерациях после комбинированной обработки семян мутагенами, и в случае γ +ЭИ-потомств она была особенно высокой. Элиминация растений и частота пигментных мутаций оказались количественно связаны, но лишь в пределах двух следующих друг за другом генераций (M_2 – M_3). Уровень элиминации растений в мутантных популяциях поддается регулированию через уровень почвенного питания. «Комфарту» (высокий фон почвенного питания) и дефициту (обедненный фон почвенного питания) адекватно соответствуют реакции толерантности и резистентности, при которых элиминация растений в условиях полевого эксперимента минимальна. Чередование условий «дефицит – комфорт» или «комфорт – дефицит» сохраняет выживаемость растений при высоком уровне генетических повреждений клеток, и это важно в селекционном отношении (табл. 6).

Анализ частоты пигментных мутаций M_4 - и M_5 -поколений показал существование у мутантных потомств долгоживущих потенциальных генетических повреждений ДНК, постепенно переходящих в реальные (табл. 5). Возможно, именно поэтому экспериментальные данные двух последующих генераций (M_3 – M_4 ; M_4 – M_5) у ЭМС-, γ +ЭМС-, ЭИ-, NaN_3 -потомств характеризуются простой закономерностью: ниже частота хлорофильных мутаций в предшествующей генерации – выше в последующей.

Эта закономерность не относится к γ -потомству, показывающему в M_3 – M_5 генерациях по пигментным мутациям стабильные результаты; у γ +ЭИ- и γ + NaN_3 -потомств частота мутаций возрастала от M_3 - к M_5 -поколению. Превышение частоты пигментных мутаций над контролем в M_5 -поколении составило 2–7-кратный уровень у потомств, полученных на основе действия химическими

Таблица 5. Зависимость частоты пигментных мутаций (%) у M_3 – M_5 -проростков *Festuca pratensis* от способа обработки семян мутагенами

Потомство	Потомство											
	M_3			M_4			M_5					
	Проанализировано проростков	Частота мутаций	p_1	p_2	Проанализировано проростков	Частота мутаций	p_1	p_2	Проанализировано проростков	Частота мутаций	p_1	p_2
Контроль	3424	0,12	< 0,001		1802	0,72			1542	0,52		
γ -потомство	3306	1,24	< 0,001		4152	1,67	< 0,01		2153	1,25	< 0,05	
ЭМС-	4590	2,70	< 0,001	< 0,001	3211	1,46	< 0,05	< 0,001	2683	5,03	< 0,001	< 0,001
γ +ЭМС-	5162	0,78	< 0,001		814	3,69	< 0,001		2181	0,50	> 0,05	
ЭИ-	6672	3,22	< 0,001	< 0,001	1479	1,49	< 0,05	< 0,05	1459	1,30	< 0,05	< 0,001
γ +ЭИ-	3827	0,13	> 0,05		1519	1,05	> 0,05		2071	11,25	< 0,001	
NaN_3 -	3382	0,83	< 0,001	< 0,01	1973	3,96	< 0,001	< 0,001	3338	1,50	< 0,001	< 0,01
γ + NaN_3 -	5650	0,48	< 0,001		2056	0,63	> 0,05		999	2,60	< 0,001	

Примечание. p_1 – достоверность различий между контролем и мутантными потомствами; p_2 – достоверность различий между мутантными потомствами: «химический мутаген» и « γ -облучение + химический мутаген».

Таблица 6. Элиминация растений *Festuca pratensis* в зависимости от характера мутагенной обработки семян и условий выращивания в М₁–М₆-поколениях (%)

Потомство	Фон почвенного питания материнских растений в двух последующих поколениях							
	умеренный, М ₁ высокий, М ₂	высокий, М ₂ высокий, М ₃	высокий, М ₂ умеренный, М ₃	умеренный, М ₁ умеренный, М ₂	умеренный, М ₂ умеренный, М ₃	умеренный, М ₃ умеренный, М ₄	умеренный, М ₄ умеренный, М ₅	умеренный, М ₅ умеренный, М ₆
Контроль	7	2	0	6	5	0	12	0
γ-потомство	2	2	0	10	0	0	12	0
ЭМС-	5	0	2	8	0	0	6	0
γ+ЭМС-	0	11	0	14	0	0	10	0
ЭИ-	5	5	2	8	0	0	20	0
γ+ЭИ-	4	14	0	22	0	0	30	0
NaN ₃ -	3	5	0	14	0	0	12	0
γ+NaN ₃ -	3	5	0	4	0	0	4	0

Примечание. Выделены высокие уровни элиминации растений.

мутагенами, и 5–20-кратный уровень – на основе комбинированного применения их с γ-излучением (табл. 5). Общее количество мутаций, выщепляющихся у мутантных потомств, возрастает от М₃- и М₄-генераций к М₅-генерации (соответственно 9,38; 13,95 и 23,43%).

Это указывает на значительную величину генетического груза в отдаленных от мутагенного воздействия потомствах, скрытого, вероятнее всего, высоким уровнем гетерозиготности перекрестно-опыляющихся популяций. Оценка варьирования частоты пигментных мутаций по поколениям у 7 мутантных потомств показала, что оно существенно и статистически значимо ($\chi^2 = 12,25$; $p < 0,01$). Увеличение частоты пигментных мутаций к М₅-поколению привело к снижению выживаемости растений и возрастанию их элиминации, особенно высокой у ЭИ- и γ+ЭИ-потомств (табл. 4). Таким образом, полученные результаты показывают, что процессы изменения величины груза пигментных мутаций и выживаемости растений носят волнообразный характер со сдвигом максимума частот в одно-два поколения.

Аддитивный эффект совместного действия γ -излучения и химических мутагенов по тесту «пигментные мутации» не выявлен при используемых способах обработки, дозе γ -излучения и концентрациях химических мутагенов. Одна из возможных причин отсутствия аддитивного эффекта при комбинированном применении мутагенных агентов – развитие реакции адаптивного ответа (индуцибельной формы репарации ДНК), направленной против повреждений, обусловленных алкилированием (Samson, Cairns, 1977). Изучение радиочувствительности растений M_3 -потомств, выполненное Г. С. Олимпиенко и Н. А. Павловой (1990) с использованием кофеина, позволило выявить у них реакцию адаптивного ответа. Кривые дозовой зависимости по уровню клеточной пролиферации имеют различные формы у потомств, полученных на основе действия химических мутагенов, и комбинированного применения γ -излучения и алкилирующих соединений. Для первой группы потомств характерны кривые доза-эффект с максимумом в середине, а не в начале диапазона доз. Данные, полученные с использованием кофеина, отчетливо указывают, что подобная реакция относится к классу адаптивных: форма кривой, отражающей наличие адаптивного ответа, утрачивается.

Спектр пигментных мутаций в группе M_3 -потомств, сформированных на основе действия алкилирующими агентами, был шире, чем у γ -потомства, в количественном отношении преобладал мутантный тип виридис. Совместное использование мутагенных агентов изменило соотношение основных типов мутаций: у γ +ЭМС-потомства превалировали мутации альбина, у γ + NaN_3 -потомства отмечен более широкий спектр мутаций, чем при независимой обработке, спектр мутаций у γ +ЭИ-потомства обеднен (рис. 5).

У M_4 -потомств (по сравнению с M_3) произошло изменение спектра депигментации проростков. Он расширился у NaN_3 -, γ +ЭМС- и γ -потомств и сузился у ЭИ- и γ + NaN_3 -потомств. Наибольшее колебание частот у всех потомств отмечено по основному мутантному типу (виридис) и по количеству мутантных проростков с фенотипом альбина.

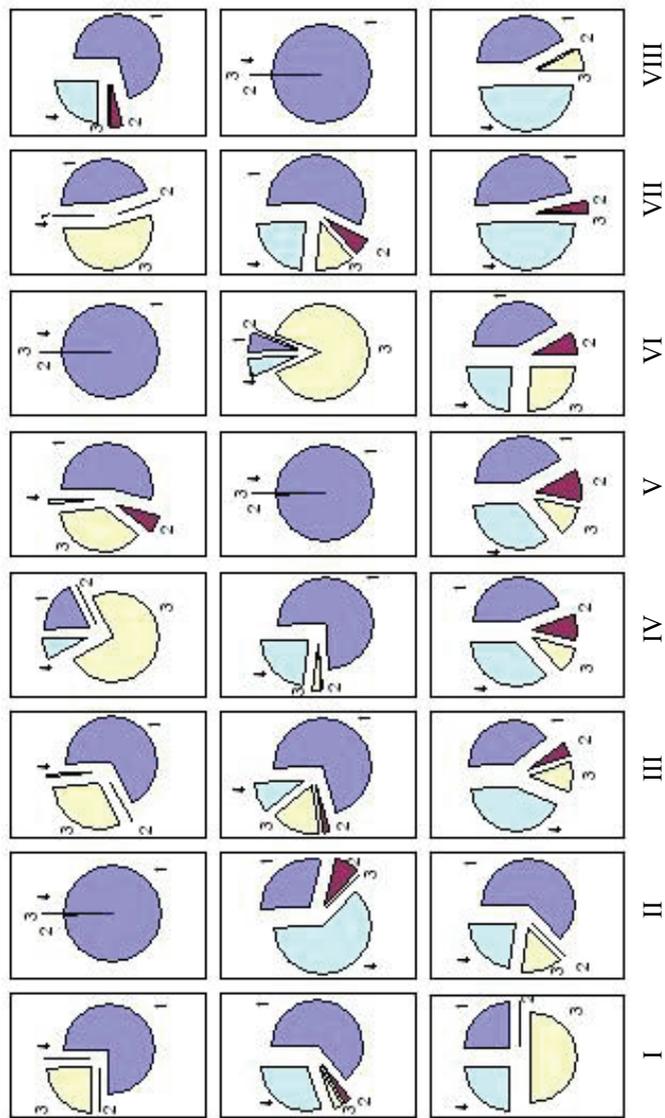


Рис. 5. Частота отдельных классов пигментных мутаций в M_3 - M_5 -поколениях *Festuca pratensis*:

1 – виридис, 2 – ксанта, 3 – альбина, 4 – комбинированные фенотипы. Потомства: I – контроль, II – γ -потомство, III – ЭМС, IV – γ +ЭМС, V – ЭИ, VI – γ +ЭИ, VII – NaN_3 , VIII – γ + NaN_3 -потомства; 1 ряд – M_3 , 2 ряд – M_4 - и 3 ряд – M_5 -поколения

От М₃- к М₅-поколению увеличилось число потомств, имеющих более глубокий тип депигментации проростков (ксанта) и комбинированные фенотипы (табл. 7).

Таблица 7. **Общее число мутантных классов пигментных мутаций в М₃–М₅-поколениях *Festuca pratensis***

Потомство	Поколение		
	М ₃	М ₄	М ₅
Контроль	2	5	3
γ-потомство	1	5	7
ЭМС-	4	4	12
γ+ЭМС-	3	4	6
ЭИ-	5	1	6
γ+ЭИ-	1	3	11
NaN ₃ -	2	5	8
γ+NaN ₃ -	4	1	6

В М₅-поколении у мутантных потомств увеличивается не только частота пигментных мутаций, но и сохраняется тенденция расширения фенотипического спектра за счет ксанта, альбина и комбинированных фенотипов, что, на наш взгляд, связано с отсутствием в М₃–М₄-поколениях элиминации растений, несущих нежизнеспособные мутации (рис. 4). В целом спектр хлорофильных мутаций так же, как и их частота, характеризуется значительным варьированием результатов у всех мутантных потомств на протяжении трех генераций. Немногочисленные экспериментальные данные литературы, полученные на многолетних перекрестноопыляющихся злаках *Phleum pratense* L. (Blizt, 1976) и *F. pratensis* (Drozdová, 1985), также показывают нестабильность результатов в М₂- и М₃-поколениях как по частоте мутаций, дефектных по синтезу хлорофилла, так и по отдельным фенотипическим классам.

Оценка специфичности и продуктивности действия физических и химических мутагенов в отношении пигментных мутаций является одним из дискуссионных и нерешенных вопросов мутагенеза у высших растений. В работах Найлона и Конзака (Nilan, Konzak, 1961) химические мутагены (ДЭС, ЭМС и ЭИ) индуцировали у ячменя относительно больше мутаций с фенотипом виридис и ксанта и меньше с фенотипом альбина, чем рентгеновские и γ-лучи. Авторы

сделали подобный вывод, опираясь на большое число полученных мутантных типов, использованных для анализа мутационных спектров. Аналогичные данные в отношении алкилирующих соединений получены на ячмене и другими исследователями (Ehrenberg et al., 1961; Gustafsson, 1963). Отличия в спектрах пигментных мутаций авторы связывают как с различиями в частоте индуцированных хромосомных aberrаций, так и/или в фертильности растений.

Показана также зависимость фенотипического спектра от целого ряда внешних факторов, прежде всего температурных условий выращивания растений (Hallquist, 1924; Collins, 1937; Nybom, 1955; Hänsel, 1960; Gaul, 1964). В приведенных исследованиях специфичность действия физических и химических мутагенов оценивалась, как правило, лишь в M_2 - или M_3 -поколении, об условиях их культивирования не сообщалось.

Анализ спектра пигментных мутаций в отношении специфичности действия γ -излучения и химических мутагенов, проведенный нами на трех последовательных мутантных поколениях, показывает, что выщепление отдельных типов мутаций у потомств, полученных на основе действия γ -излучения и алкилирующих соединений, колеблется от поколения к поколению (рис. 5). Статистическая оценка этого события для фенотипа виридис, который дает наибольшую частоту, выявила отсутствие влияния показателя «потомства» (генетических особенностей мутантных потомств, связанных с действием физических и химических мутагенных агентов) на его проявление ($\chi^2 = 8,94$; $p > 0,05$). В то же время сила влияния показателя «поколение» (генотипических особенностей мутантных потомств в каждом поколении и условий их культивирования) оказалась существенной ($\chi^2 = 390,0$; $p < 0,001$).

Приведенные результаты позволяют предположить, что специфичность действия мутагенов обусловлена процессами внутриклеточного характера, не имеющими прямого отношения к реакции отдельных локусов на действие мутагенов. Преимущественное появление определенных мутантных фенотипов зависит не только от первичного генетического акта, т. е. взаимодействия мутагена и ДНК, но и от тех последствий, которые вносят активность ферментов репарации, наличие предшеству-

ников репарационного синтеза ДНК, процессы трансляции, размножение клеток, несущих мутации, и внешние условия: температура, кислород, почвенное питание растений. Таким образом, представленные данные позволяют говорить о том, что при оценке специфичности действия физических и химических мутагенов важно не только достаточно большое количество отдельных типов пигментных мутаций, но необходим анализ спектра пигментных мутаций в ряде мутантных поколений, а также контроль условий выращивания растений.

Алкилирующие мутагенные агенты в нашем исследовании (ЭМС и ЭИ) оказались более продуктивны, чем γ -излучение, в отношении индуцированных пигментных мутаций: их количество (в сумме за три поколения), несмотря на колебания частот по поколениям, в 1,5–2 раза больше, чем у γ -потомства.

Еще один вопрос, который следует отметить, – это взаимосвязь спектра пигментных и морфологических мутаций, характеризующих жизнеспособность растений, а также ценных в селекционном отношении. Например, частота хлорофильных мутаций у гороха и ячменя часто коррелирует с частотами других мутаций (эректоидные и карликовые мутанты, стерильные и полустерильные формы), что важно не только в теоретическом отношении, но и в мутационной селекции (Lefort, 1959; Heringa, 1964; Ахунд-Заде, Хвостова, 1966; Сидорова, 1966; Валева, 1967; Орав и др., 1972). У гороха расширение спектра хлорофильных мутаций сопровождалось разнообразными морфологическими мутациями, хотя автор не отрицает случаев, когда положительная зависимость между частотой пигментных и морфологических мутаций отсутствовала (Сидорова, 1966).

В M_2 -поколении нами был выделен морфологический мутант эректоидного типа (компактный узел кущения, небольшое количество репродуктивных побегов, темно-зеленые с восковым налетом вертикально расположенные листья, компактная, реже полураскидистая метелка, крупные семена) и только при высоком уровне почвенного питания растений. Частота их у мутантных потомств оказалась весьма незначительной: γ -потомство – 0,01, ЭМС-потомство – 0,02, ЭИ-потомство – 0,06. В последующем эректоиды были выделены только в M_6 -поколении.

Между частотой пигментных мутаций, показателями жизнеспособности (фертильность пыльцы, всхожесть семян, масса 1000 семян) и репродуктивной способностью растений (масса семян на растение) в М₃–М₅-поколениях не выявлено отрицательных корреляций. Это обусловлено прежде всего гибелью хлорофильных мутантов, неспособных к восстановлению уже на ранних этапах развития в полевых условиях культивирования. Генетический груз в форме пигментных мутаций оказал негативное влияние лишь на формирование массы 10-дневных проростков (табл. 8).

Таблица 8. Взаимосвязь частоты пигментных мутаций с показателями жизнеспособности, выживаемости и репродуктивной способности у М₃–М₅-потомств *Festuca pratensis*

Показатель	Потомство		
	М ₃	М ₄	М ₅
Фертильность пыльцы (%)	0,07	0,07	0,29
Всхожесть семян (%)	0,26	-0,05	-0,55*
Надземная масса (г/растение)	0,07	0,29	-0,36
Масса семян (г/растение)	0,86*	0,04	-0,11
Масса 1000 семян (г)	-0,21	–	0,75*
Масса 100 проростков (г)	-0,64*	-0,64*	-0,71*

Примечание. * – коэффициент непараметрической корреляции по Кэндаллу значим при $p < 0,05$.

Таким образом, анализ пигментных мутаций при описании количественных и качественных эффектов действия мутагенных агентов (как в отношении их природы: химические и физические мутагены, так и способа их использования – простое и комбинированное действие) у многолетних перекрестноопыляющихся злаков на примере *F. pratensis* Huds. показал их высокую генетическую продуктивность и выраженную нестабильность результатов от поколения к поколению.

Существенное влияние на частоту пигментных мутаций оказывает элиминация растений в ранних мутантных поколениях, а переход мутаций в гомозиготное состояние вызывает, в свою очередь, снижение выживаемости в более поздних поколениях.

Мутационный процесс у живых организмов может охватывать различные признаки и свойства. К числу биологически существенных признаков относят, прежде всего, жизнеспособность мутантных особей. У растений к признакам, характеризующим жизнеспособность на разных этапах онтогенеза, можно отнести фертильность пыльцы, всхожесть семян, частоту выживших проростков, частоту растений, достигших репродуктивного развития. Все перечисленные показатели легко поддаются оценке и моделированию. Жизнеспособность, выживаемость и плодовитость индивидуумов являются важнейшими компонентами приспособленности популяций и действия отбора как в пределах поколения на разных этапах онтогенеза, так и в ряду поколений. На изменчивость этих признаков могут оказывать влияние различные факторы: продолжительность отдельных стадий жизненного цикла, разная скорость развития растений и условия их произрастания и, прежде всего, температура, освещенность, влажность, фон почвенного плодородия и др.

Фертильность пыльцы. Овсяница луговая является преимущественно аллогамным растением со слабовыраженной автогамией и преобладанием хазмогамного типа цветения (Auquier, 1977). Подобная система опыления обычно сопровождается продуцированием большого количества пыльцы, характеризующейся определенной экологической пластичностью и генетической разнокачественностью (Геодакян, 1978). Это свойство лежит в основе микрогаметофитного отбора, когда ценность микрогамет определяет и конкурентоспособность зрелой пыльцы (Лях, 1995). Следствием естественного отбора в мужском гаметофитном поколении могут быть существенные изменения в структуре популяций – повышение уровня самофертильности растений, ухудшение качества потомства и др. (Попова, 1971; Агаджанян, 1987; Mulcahy, Mulcahy, 1987; Орлова, 1994). Поскольку уровень жизнеспособности пыльцы во многом определяется как внутренним состоянием спорофита, так и внешними условиями (Welch, Klatt, 1971; Jones, 1976), этот критерий представляется необходимым условием при оценке состояния и изменчивости растений, характеризующихся различной степенью выживаемости в условиях экспериментов. В качестве теста на жизнеспособность растений фертильность мужского гаметофита часто используется в генетических исследованиях и селекционной

работе с мутантными, гибридными и трансгенными растениями (Freeling, 1981; Georgiew, 1981; Nilan et al., 1981; Николаевская, 1997; Luna et al., 2001; Westgate et al., 2003; Wang et al., 2004).

Как показали наши исследования, у растений мутантных популяций фертильность мужского гаметофита отличалась значительной величиной варьирования, наблюдавшегося на протяжении пяти поколений (табл. 9). В первом поколении после воздействия мутагенов выделились три группы популяций: одна – с высокой жизнеспособностью пыльцы по сравнению с контролем, объединившая варианты с обработкой химическими мутагенами (ЭМС и ЭИ) и γ -радиацией; вторая – популяции с более низкой, чем в контроле, фертильностью пыльцы, представленные вариантами с комбинированной обработкой мутагенами (γ +ЭМС, γ +ЭИ) и NaN_3 -популяции; у γ + NaN_3 -популяции жизнеспособность пыльцы соответствовала контрольному уровню. В последующих поколениях (M_2 – M_5) доля фертильных пыльцевых зерен повысилась у всех мутантных популяций, но зависимость от мутагенного воздействия все также четко прослеживалась. Так, стабильно высокую фертильность пыльцы сохраняли популяции, сформированные на основе действия химических мутагенов: ЭМС, ЭИ и NaN_3 . У популяций с использованием γ -радиации независимо и совместно с химическими мутагенами наблюдалось колебание значений признака от поколения к поколению.

Таблица 9. Фертильность пыльцы (%) у растений мутантных потомств *Festuca pratensis* в M_1 – M_5 -поколениях

Потомства	Поколения				
	M_1	M_2	M_3	M_4	M_5
Контроль	69,4±1,1	64,5±0,7	87,5±0,2	88,5±0,9	85,3±1,5
γ -потомство	76,5±0,9***	77,2±0,6***	69,0±0,4***	88,6±1,0	91,5±0,6***
ЭМС-	74,1±1,0***	86,1±0,5***	82,0±0,6***	95,3±0,6***	90,8±1,1**
γ +ЭМС-	48,3±1,3***	75,1±0,8***	91,2±0,2***	88,0±0,8	87,5±1,2
ЭИ-	81,4±0,8***	77,2±0,7***	96,1±0,2***	94,4±0,6***	92,7±0,7***
γ +ЭИ-	64,3±1,1***	79,8±0,6***	85,2±0,3**	94,1±0,5***	91,1±0,3***
NaN_3 -	64,4±1,1**	68,4±0,81**	91,2±0,2***	90,4±0,7*	89,4±0,3*
γ + NaN_3 -	69,2±1,1	48,8±0,6***	92,3±0,2***	88,2±1,0	88,3±1,5

Примечание. Различия между контрольной популяцией и мутантными потомствами достоверны при * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Как показывают представленные данные, количество жизнеспособной пыльцы зависит у растений от целого ряда факторов (генетических, возрастных, условий среды), и потому значения признака существенно колеблются. В связи с этим были проанализированы не только экспрессия показателя, но и его изменчивость на основе сравнения компонент фенотипической дисперсии разных по составу комплексов. Для этой цели применен метод двухфакторного дисперсионного анализа, позволяющий оценить влияние генетических факторов и условий среды на фертильность пыльцы.

У растений мутантных популяций в M_1 – M_5 -поколениях специфичность варьирования количества фертильных пыльцевых зерен в значительной степени обусловлена влиянием фактора «поколение» (возрастные особенности мутантных популяций и условия их выращивания в каждом поколении) и составила 61% от общей фенотипической дисперсии. Влияние генетического фактора (генетические особенности мутантных популяций) оказалось несущественным (табл. 10).

Таблица 10. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа изменчивости фертильности пыльцы у растений мутантных потомств *Festuca pratensis*

Факторы	Число степеней свободы	Дисперсия	Критерий Фишера		Влияние фактора (%)
			F (факт.)	F (эмп.)	
Мутантные потомства	7	73,57	1,19	2,36	8,93
Поколения	4	880,84	14,26	2,1	61,08
Остаточное	28	61,78			29,99
Общее	39				

Примечание. Здесь и в табл. 21, 43, 46, 53: F (факт.) – критерий Фишера фактический, F (эмп.) – критерий Фишера эмпирический при $p < 0,05$; выделены наиболее высокие доли влияния фактора.

В то же время при различных способах опыления растений влияние специфического генетического фактора (мутантные потомства) на уровень изменчивости фертильной пыльцы было значительным. Так, при гибридизации оно составило 30,9%, при инбридинге – 26,2%, а при ауткроссе – 12,5% от общей дисперсии. Таким образом, при изучении влияния на изменчивость фертильности пыльцы различных факторов необходим анализ

разных по составу дисперсионных комплексов с различным набором и сочетанием специфических и неспецифических (генетических и негенетических) факторов.

Особый интерес как в генетических, так и в селекционных исследованиях представляет оценка действия естественного отбора (стабилизирующей его формы) в отношении признаков, характеризующих жизнеспособность популяций с индуцированным генетическим грузом. Действие стабилизирующего отбора может быть оценено на основе анализа отклонений от среднего арифметического значения признака (Шмальгаузен, 1969; Алтухов, 2003). Отклонения от среднего значения фертильной пыльцы (+ или -), графически представленные прямыми линиями рассеяния (тренды) с разными углами наклона к оси абсцисс, отчетливо характеризуют различия между мутантными популяциями.

Фертильность пыльцы у двух групп мутантных популяций, сформированных на основе действия химических мутагенов и их комбинированного применения с гамма-радиацией, ближе к среднему арифметическому, и это отражается в меньшей крутизне принадлежащих им линейных трендов (рис. 6).

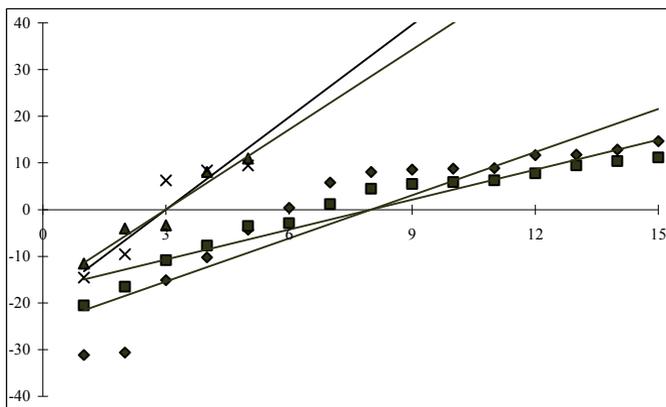


Рис. 6. Фертильность пыльцы у растений мутантных потомств *Festuca pratensis*, выраженная в отклонениях значений от средней арифметической: X – контроль; ▲ – гамма-радиация; ◆ – комбинированные и ■ – химические варианты обработки.

По оси ординат – отклонения от средних значений процента фертильности пыльцы; по оси абсцисс – номер ранга растений в мутантной популяции

Напротив, значительно отличается от среднего фертильность пыльцы у контроля и гамма-популяции с соответствующими им крутыми трендами.

Таким образом, анализ фертильных пыльцевых зерен у растений овсяницы луговой показал, что количество зрелой сформированной пыльцы зависит от действия ряда специфических и неспецифических факторов. В процессе индуцированного мутагенеза формирование доли фертильной пыльцы связано как с типом мутагенов (химические, гамма-радиация), так и действием средовых условий на протяжении исследованных пяти генераций. Стабилизирующий отбор действовал более жестко в отношении фертильности пыльцы мутантных потомств, сформированных на основе применения химических мутагенов.

Частота выживших проростков и всхожесть семян

В поисках критериев оценки популяционного фенотипа мутантных потомств, позволяющих оценивать их в широком диапазоне биологических особенностей (выживаемость, жизнеспособность, рост растений) уже в ювенильной фазе развития, мы разделили 10–14-дневные проростки овсяницы луговой на несколько фракций, различающихся активностью ростовых процессов: летали (семена не прорастают), потенциально летальные проростки (проростки не формируют первый настоящий лист при наличии первичного корешка или, напротив, имеют первый лист, но неспособны сформировать первичный корешок), проростки с длиной первого листа < 2 см (задержка прорастания), проростки с длиной первого листа 2–4 см (активно растущие проростки), проростки с длиной первого листа > 4 см (повышенная активность роста) (рис. 7, А–Г). Такой экспериментальный подход, как показали многолетние исследования, позволил оценить компоненты приспособленности, естественный и индуцированный мутационный груз и описать особенности формирования популяционного фенотипа в различных условиях культивирования растений в полевых и лабораторных экспериментах, а также выявить и оценить действие естественного отбора (стабилизирующей его формы) в отношении изученных признаков.

У различных фракций проростков оценили пролиферативную активность клеток на основе митотического индекса (табл. 11).

Таблица 11. Значение митотического индекса у 10-дневных проростков *Festuca pratensis* с различной длиной первого листа

Потенциально летальные проростки	Длина первого листа (см)		
	< 2	2–4	> 4
55,0±5,4	78,7±7,9	87,5±7,3	113,7±11,0

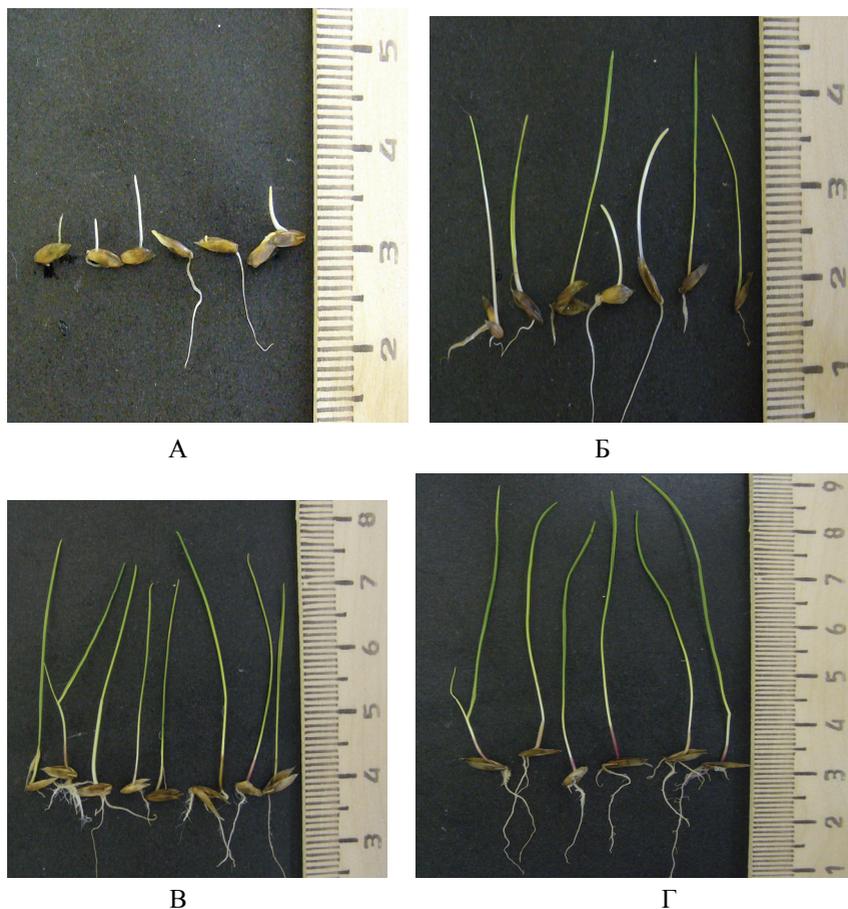


Рис. 7. Проростки *Festuca pratensis* с различной активностью ростовых процессов:

проростки: А – потенциально летальные; Б – с длиной первого листа < 2 см; В – с длиной первого листа 2–4 см; Г – с длиной первого листа > 4 см

Как показали полученные данные, скорость пролиферации адекватна предложенной градации фракций проростков: чем больше длина первого листа (ростка), тем большим значением митотического индекса они характеризуются. При анализе M_2 – M_6 -мутантных потомств, культивируемых в полевых условиях при одном уровне почвенного питания (умеренном) и одинаковых условиях лабораторного эксперимента (табл. 12), фенотипические различия между мутантными потомствами отчетливо проявляются по двум показателям роста: задержка прорастания (частота проростков < 2 см) и повышенная активность роста (частота проростков > 4 см).

Варьирование значений частот проростков < 2 см, как и потенциальных леталей (ПЛП), от поколения к поколению находится в противофазе с варьированием частоты проростков > 4 см (больше для первых двух показателей – меньше для последнего) у мутантных потомств, сформированных на основе обработки семян химическими мутагенами, как простой, так и комбинированной с γ -облучением. Характер варьирования частоты проростков > 4 см от поколения к поколению в контрольной популяции, как и в γ -потомствах, оказался противоположен изменению частот ПЛП и отличался от изменения их частот в потомствах, сформированных с использованием химических мутагенов. Контрольная популяция и γ -потомства (M_2 – M_6 -поколения) имели сходную динамику изменений и также отличались от потомств, сформированных с использованием химических мутагенов (рис. 8–11). Изменение частот проростков с длиной первого листа 2–4 см от поколения к поколению происходит у большинства мутантных потомств по типу ПЛП и проростков < 2 см.

Отличия по всхожести семян у контроля и мутантных потомств незначительны (рис. 12). В общем случае значение признака колеблется от 70 до 90%. Устойчивое колебание частоты от поколения к поколению проявило лишь γ -потомство, так же, как и проростки с длиной первого листа 2–4 см. В целом выживаемость мутантных потомств в раннем онтогенезе на протяжении пяти поколений можно оценить как высокую.

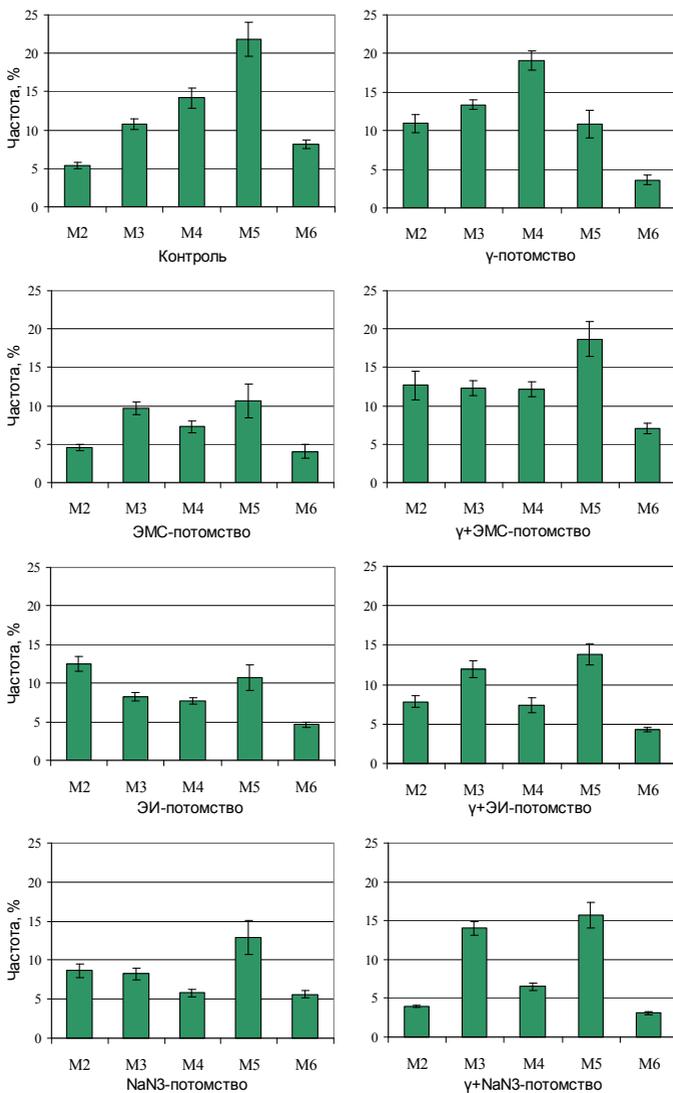


Рис. 8. Частота потенциально летальных проростков у мутантных потомств *Festuca pratensis* в М₂–М₆-поколениях при умеренном фоне почвенного питания материнских растений:

здесь и на рис. 9–12: температура проращивания 25 °С

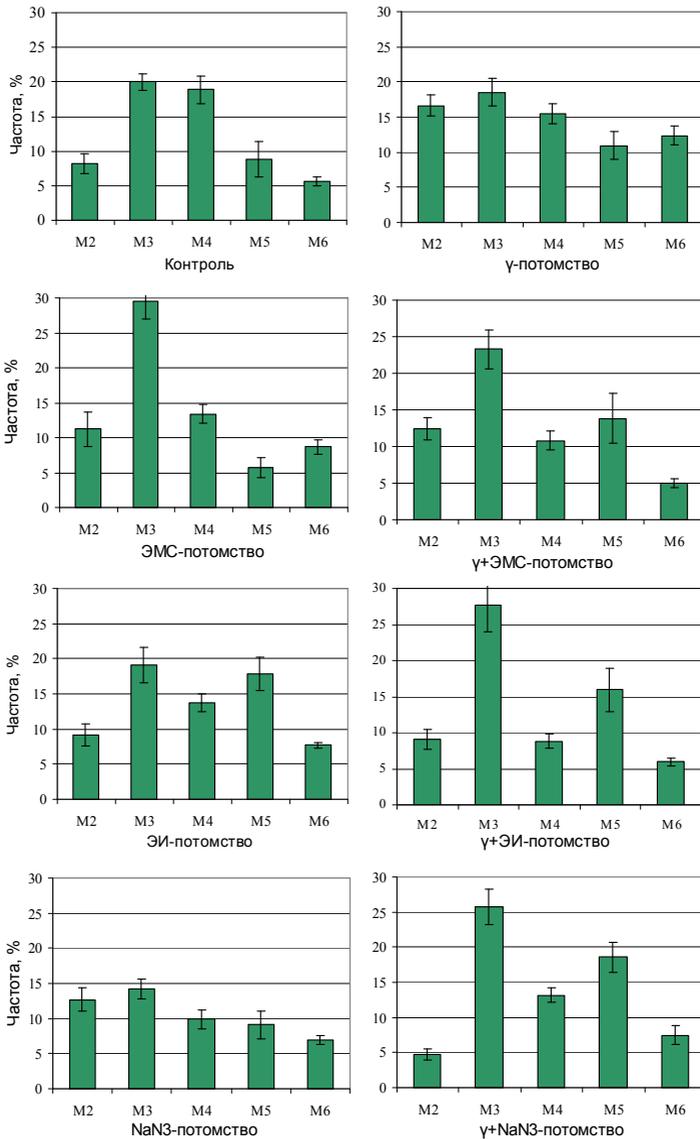


Рис. 9. Частота проростков < 2 см у мутантных потомств *Festuca pratensis* в M₂–M₆-поколениях при умеренном фоне почвенного питания материнских растений

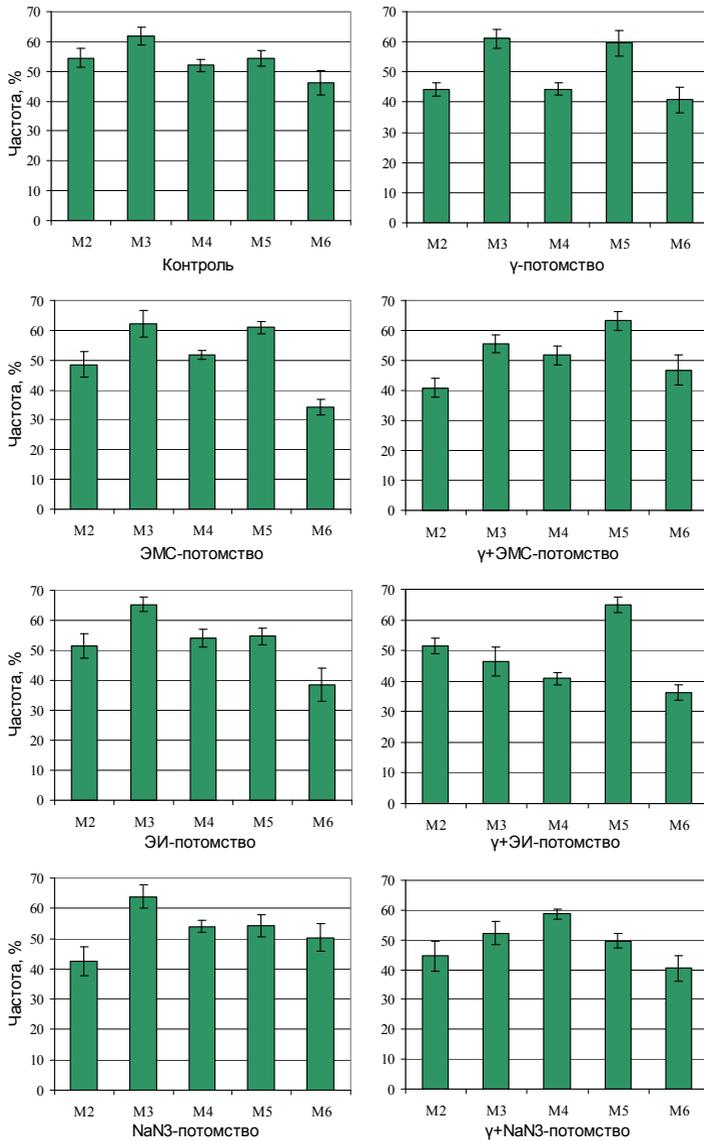


Рис. 10. Частота проростков 2–4 см у мутантных потомств *Festuca pratensis* в M₂–M₆-поколениях при умеренном фоне почвенного питания материнских растений

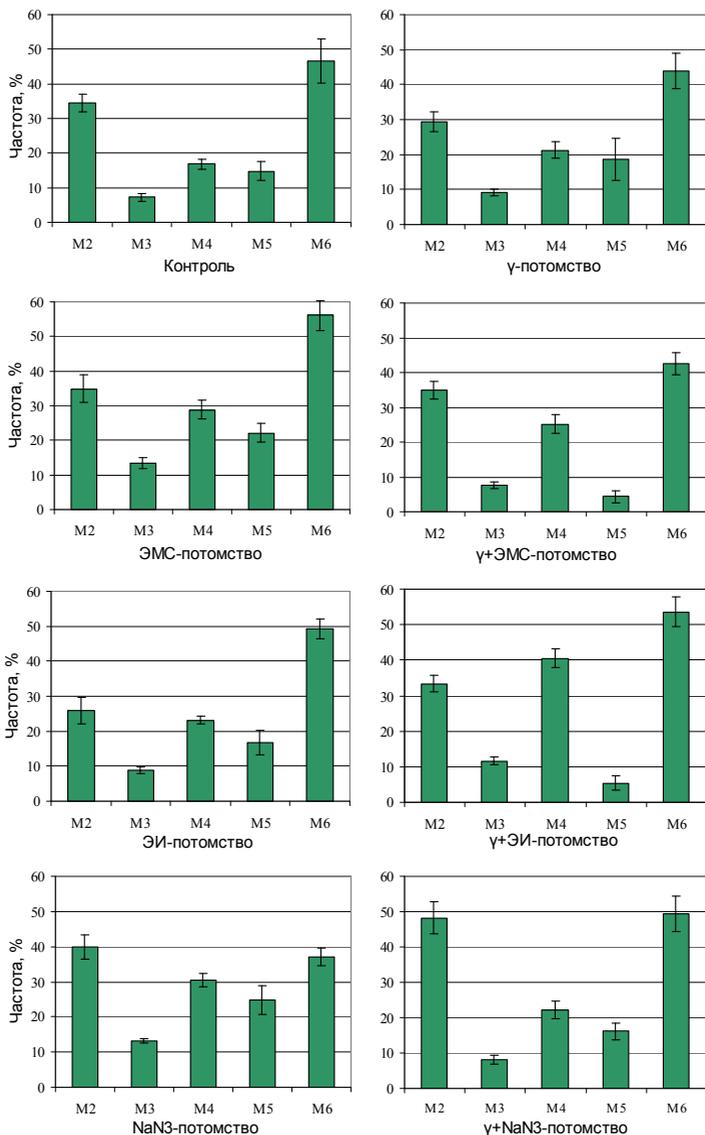


Рис. 11. Частота проростков > 4 см у мутантных потомств *Festuca pratensis* в M_2 – M_6 -поколениях при умеренном фоне почвенного питания материнских растений

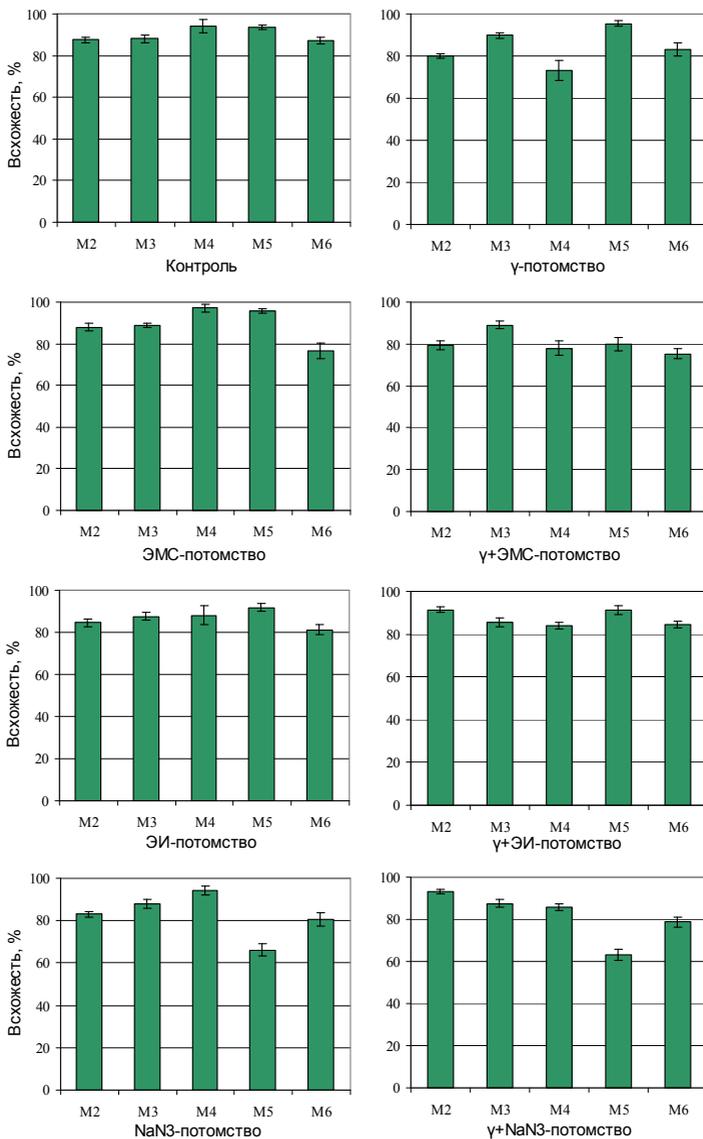


Рис. 12. Всхожесть семян у мутантных потомств *Festuca pratensis* в M_2 – M_6 -поколениях при умеренном фоне почвенного питания материнских растений

Таблица 12. Компоненты выживаемости растений *Festuca pratensis* в M₂-M₆-мутантных потомствах

Признак	Потомство							
	Конт- роль	γ- потомство	ЭМС-	γ+ЭМС-	ЭИ-	γ+ЭИ-	NaN ₃ -	γ+NaN ₃ -
M ₂ -потомство								
Фертильность пыльцы	0,65	0,77	0,86	0,75	0,77	0,80	0,68	0,49
Всхожесть семян	0,88	0,80	0,88	0,80	0,85	0,91	0,83	0,93
Частота выживших проростков	0,89	0,74	0,83	0,76	0,77	0,85	0,82	0,93
Частота растений, достигших репродуктивного развития	0,94	0,90	0,92	0,86	0,92	0,78	0,86	0,96
Общая выживаемость	0,48	0,41	0,58	0,39	0,46	0,48	0,40	0,41
M ₃ -потомство								
Фертильность пыльцы	0,86	0,69	0,82	0,91	0,96	0,85	0,91	0,92
Всхожесть семян	0,88	0,90	0,89	0,89	0,88	0,86	0,88	0,88
Частота выживших проростков	0,69	0,70	0,76	0,63	0,74	0,58	0,77	0,61
Частота растений, достигших репродуктивного развития	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Общая выживаемость	0,50	0,43	0,55	0,51	0,63	0,42	0,62	0,49
M ₄ -потомство								
Фертильность пыльцы	0,89	0,89	0,95	0,88	0,94	0,94	0,90	0,88
Всхожесть семян	0,94	0,73	0,97	0,78	0,88	0,84	0,94	0,86
Частота выживших проростков	0,69	0,66	0,81	0,77	0,77	0,81	0,85	0,81
Частота растений, достигших репродуктивного развития	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Общая выживаемость	0,58	0,43	0,75	0,53	0,64	0,64	0,72	0,61

M ₅ -потомство										
Фертильность пыльцы	0,85	0,92	0,91	0,88	0,93	0,91	0,89	0,88		
Всхожесть семян	0,94	0,96	0,96	0,80	0,92	0,91	0,66	0,63		
Частота выживших проростков	0,69	0,78	0,83	0,68	0,72	0,70	0,79	0,66		
Частота растений, достигших репродуктивного развития	0,88	0,92	0,96	0,92	0,70	0,60	0,88	0,96		
Общая выживаемость	0,49	0,63	0,70	0,44	0,43	0,35	0,41	0,35		
M ₆ -потомство										
Фертильность пыльцы	0,80	0,79	0,83	0,87	0,86	0,82	0,83	0,71		
Всхожесть семян	0,87	0,83	0,77	0,75	0,81	0,84	0,81	0,79		
Частота выживших проростков	0,93	0,85	0,90	0,89	0,88	0,90	0,87	0,90		
Частота растений, достигших репродуктивного развития	0,98	0,96	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00		
Общая выживаемость	0,68	0,63	0,58	0,58	0,61	0,62	0,57	0,64		
Общая выживаемость (среднее по 5 генерациям)	0,55	0,51	0,63	0,49	0,55	0,50	0,54	0,50		
Выживаемость относительно к контрольной популяции (среднее по 5 генерациям)	1	0,93	1,15	0,89	1,00	0,91	0,98	0,91		

Примечание. Выделены значения общей и относительной выживаемости.

Изучение общей выживаемости панмиктических популяций, представленной частотами жизнеспособных особей на разных этапах онтогенетического развития растений пяти последовательных генераций (M_2 – M_6 , 25 лет наблюдений), показало, что она выше у мутантных потомств, сформированных на основе действия алкилирующих мутагенных агентов (этиленимин, этилметансульфонат), чем у потомств, сформированных на основе комбинированного их действия с γ -радиацией (табл. 12). Максимальные различия в выживаемости двух групп мутантных потомств выявлены в годы с благоприятными условиями произрастания растений. Величины относительной выживаемости (в сравнении с контрольной популяцией) указывают на развитие компенсаторных реакций, обеспечивающих повышенную выживаемость растений, только у потомств, сформированных на основе действия алкилирующих мутагенных агентов. Аналогичные эффекты в выживаемости мутантных особей тутового шелкопряда и растений гороха были получены ранее и объяснялись авторами формированием у них компенсационного комплекса генов (Струнников, 1974; Гостимский и др., 1987).

Оценка действия естественного отбора в отношении растений с естественным и индуцированным генетическим грузом представляет особый интерес (Шмальгаузен, 1969; Алтухов, 2003). Анализ ранжированных отклонений от среднего арифметического значения выживаемости и жизнеспособности растений на разных этапах онтогенеза (фертильность пыльцы, всхожесть семян, частота выживших проростков, частота растений, достигших репродуктивного развития) показал, что эффективность действия стабилизирующего отбора на протяжении пяти поколений определяется типом мутагенеза (радиационный, химический) и способом использования мутагенов (простая и комбинированная обработка) (рис. 13).

В отношении мутантных потомств, сформированных на основе простой обработки семян химическими мутагенами (ЭИ, ЭМС, NaN_3), стабилизирующий отбор действует более жестко для всех изученных признаков (пологие линии трендов), по сравнению с потомствами, сформированными на основе комбинированного их действия с γ -радиацией (более крутые линии трендов). γ -потомства характеризуются наиболее жестким давлением стабилизирующего отбора. В контроле действие стабилизирующего отбора проявляется в меньшей степени, чем у мутантных потомств.

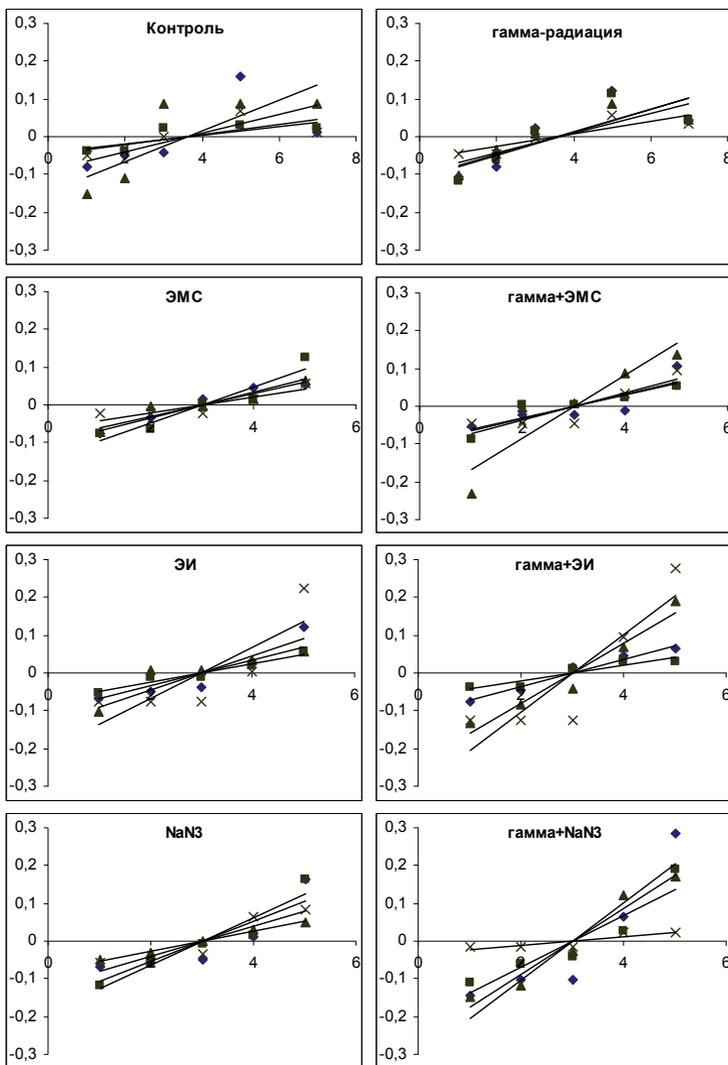


Рис. 13. Выживаемость растений мутантных потомств *Festuca pratensis*, выраженная в отклонениях значений от средней арифметической:

◆ – фертильность пыльцы; ■ – всхожесть; ▲ – частота выживших растений; × – частота растений, достигших репродуктивного развития.

По оси ординат – отклонения от средних значений признаков; по оси абсцисс – номер ранга значения признака

Таким образом, изучение индуцированного генетического груза и выживаемости растений в ближайших и отдаленных от мутагенного воздействия мутантных потомствах позволило выявить особенности характера их формирования в зависимости от природы мутагенных факторов (химические и физические), от типа мутагенной обработки (простая, комбинированная), показать длительность индуцированного мутационного процесса, его нестабильность; оценить действие элиминирующего и стабилизирующего отбора в отношении компонентов выживаемости и показать возможность развития адаптивных реакций.

Полученные знания дополняют теоретические представления о роли генофондов и условий произрастания в выживаемости растительных популяций и расширяют возможности направленной селекции.

2.3. Феноменология температурозависимой хлорофиллдефектности – тест-системы выживаемости растительных популяций

2.3.1. Генетическая основа температурозависимой хлорофиллдефектности

Феноменология температурозависимой депигментации состоит в том, что проращивание семян в течение 7–10 суток при 35 °С и постоянном освещении (96–130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) приводит к появлению у некоторых проростков отчетливо выраженной хлорофиллдефектности, фенотипически идентичной ядерным хлорофильным мутантам. Данный тип депигментации обратим при последующем культивировании проростков в условиях нормальной температуры (25 °С) через несколько суток. Важно отметить, что рецессивные пигментные мутации способностью к восстановлению не обладают. Полное восстановление зеленой окраски листьев (реверсия к дикому фенотипу) происходит в фазе кушения. Достигшие в полевых условиях репродуктивной фазы развития растения-ревертанты, культивируемые в полевых условиях и маркированные на стадии проростка по типу депигментации и восстановления, при тщательной оценке могут быть визуально дифференцированы.

Выявляемые фенотипические различия значительно слабее тех, которые отличают проростки ювенильной фазы при температурном экстремуме.

Генетическая основа температурозависимой хлорофиллдефектности представлена системой, включающей мутантный ген и ген-супрессор, действие которой проявляется фенотипически как при подавленной функции гена-супрессора, так при ее восстановлении. Подавление функционирования супрессора в наших экспериментах происходило при повышенной (35–37 °С) температуре проращивания семян в фитотроне и круглосуточном их освещении.

Как показало исследование, степень подавления функции гена-супрессора фенотипически дифференцирует температурозависимую хлорофиллдефектность (табл. 13). При полном и быстром подавлении функции гена-супрессора появляются проростки с фенотипами *viridis* (светло-зеленый, V), *xantha* (желтый, X) и *albina* (белый, A); при отсроченном – с комбинированными фенотипами (*norma-virido*, NV; *norma-xantha*, NX; *virido-xantha*, VX; *norma-albo*, NA; *virido-alba*, VA). При восстановлении функции гена-супрессора без снятия температурной нагрузки выявляются ранние ревертанты.

Хлорофиллдефектность в этом случае идентифицируется по типу смешанных ядерных хлорофильных мутантов (*virido-norma*, VN; *xantha-norma*, XN; *xantha-viridis*, XV; *albo-norma*, AN; *albo-viridis*, AV). Последняя группа фенотипов представлена небольшой долей проростков, которые не встречаются в классе рецессивных ядерных пигментных мутаций.

Таблица 13. **Фенотипический спектр проростков в зависимости от полноты супрессии (температура проращивания семян 35 °С)**

Функция гена-супрессора	Фенотип проростка
подавлена полностью	V, X, A
подавлена полностью, но отсрочена	NV, NX, VX, VA, XA
восстановлена (акклимация)	VN, XN, XV

Это еще раз подтверждает экспериментальный факт отличия последних от температурозависимых супрессированных хлорофильных мутаций. Часть проростков сохраняла зеленую окраску при проращивании семян при 35 °С и рассматривалась нами как дикий тип – *w-type* (N).

Зеленые и хлорофиллдефектные проростки характеризовались особенностями структуры хлоропластов. Хлоропласты зеленых проростков имели правильную линзовидную форму, хорошо развитую тилакоидную систему, крупные многочисленные граны и мелкозернистую плотную строму, в которой локализируются пластоглобулы и редкие небольшие крахмальные зерна. Электронно-микроскопическое изучение проростков и растений-ревертантов, маркированных по хлорофиллдефектности и культивируемых уже в полевых условиях, показало значительные деструктивные изменения и самих пластид и их ламинарной структуры (Венжик и др., 2002). Таким образом, даже под прикрытием гена-супрессора растения-ревертанты имели структурные изменения пластидного аппарата клеток.

На проявление аллелей гена-супрессора могут оказывать влияние различные факторы: в одной генотипической среде и при одних эндогенных условиях они рецессивны, а в другой генотипической среде и при других эндогенных условиях – доминантны (Ригер, Михаэлис, 1967). Полнота супрессии в нашем исследовании зависела от целого ряда факторов: генофонда популяции (естественные и мутантные популяции, сорта, гибридные потомства), генотипической среды (способ опыления, эпистатическое взаимодействие мутантного гена с геном-супрессором, плейотропное действие гена-супрессора) и эндогенной среды клеток (различный уровень пула метаболитов и веществ-энергоносителей) (табл. 14).

Таблица 14. Факторы, влияющие на проявление доминирования гена-супрессора

Генофонд популяции	Генотипическая среда	Эндогенная среда
Естественные и сформированные на мутантной основе популяции Сорта Гибридные потомства	Способ опыления: гибридизация, ауткросс	Различный уровень пула метаболитов и веществ-энергоносителей в клетках

Генетический анализ хлорофиллдефектности показал, что доля депигментированных проростков в экспериментальном пуле гибридных потомств растений-ревертантов, маркированных по хлорофиллдефектности, равна 3/4 (табл. 15). Соотношение 4 : 12, приве-

денное в табл. 15, является лишь частным случаем генетически детерминированной хлорофиллдефектности. Соотношение зеленых и хлорофиллдефектных проростков в экспериментальном пуле у сорта-популяции Карельская и у мутантных потомств, сформированных на основе поликросса, отличается от такового у гибридных потомств, тем не менее во всех случаях расщепление соответствует дигибридной схеме наследования признаков с эпистатическим взаимодействием генов (7 : 9; 3 : 13). Частота зеленых и хлорофиллдефектных проростков у мутантных потомств оказалась зависимой от условий культивирования материнских растений (уровень почвенного плодородия). Мутантные потомства и с. Карельская показали одинаковое соотношение зеленых и хлорофиллдефектных проростков при культивировании материнских растений в одних условиях: 7 : 9 – при умеренном фоне и 3 : 13 – при высоком фоне (табл. 15).

Таким образом, не только генотипическая среда, но и условия культивирования материнских растений оказывают влияние на величину пула растений с супрессированной хлорофиллдефектностью в следующем поколении.

Ген-супрессор проявляет нестойкое доминирование и, как следствие, различное соотношение частот фенотипов с зеленой и хлорофиллдефектной окраской листа проростка в экспериментальных популяциях. Полученные нами данные укладываются в классические представления о доминантности не как свойстве генов, а лишь как о результате действия соответствующих локусов (состоянии) в общей системе реакций генотипов. Еще в 30-е годы XX века Холдейн и Райт (Haldane, 1930; Wright, 1934) отмечали, что эволюция доминантности некоего аллеля является функцией физиологического действия этого аллеля при условии, что гены определяют признаки посредством действия ферментов. Райт (Wright, 1977) критически относился к представлению Фишера (Fisher, 1931) о зависимости доминантности и рецессивности от действия других генов-модификаторов. Грант (Grant, 1975) рассматривал модификаторы доминантности у растений как гены, обладающие плейотропным действием и оказывающие влияние на проявление некоторых аллелей других локусов. Краткий обзор проблемы и полученные нами экспериментальные данные позволяют считать, что проявление

ние доминантности зависит от ряда факторов, включая генотипическую и эндогенную среду клеток. Наблюдаемые эффекты проявления гена-супрессора в наших экспериментах связаны, прежде всего, с высокой его чувствительностью к температуре культивирования растений в раннем онтогенезе.

Таблица 15. Результаты генетического анализа хлорофиллдефектности 10-дневных проростков *Festuca pratensis* (температура проращивания семян 35 °С)

Потомство	Фенотип и количество проростков		Соотношение фактически полученных фенотипов	Значение χ^2 при $p < 0,05$
	зеленый	хлорофилл-дефектный		
Гибридное потомство F ₁ , ФСП	1090	3277	4 : 12	0,001
Сорт Карельская, ФСП	106	158	7 : 9	1,39
Мутантные потомства M ₅ , ФСП	814	1087	7 : 9	0,69
Сорт Карельская, ФВП	38	169	3 : 13	0,02
Мутантные потомства M ₅ , ФВП	289	1289	3 : 13	0,21

Примечание. ФСП – фон среднего (умеренного) почвенного плодородия (N₆₀P₆₀K₆₀); ФВП – фон высокого почвенного плодородия (N₁₂₀P₆₀K₆₀ + органические удобрения 60 т/га). Критическое значение $\chi^2 = 3,84$ при $p < 0,05$.

Резюмируя эту часть исследования, в качестве главного из представленных результатов следует отметить тот факт, что температурозависимая хлорофиллдефектность генетически детерминирована и является скрытой мутационной изменчивостью, когда первичная мутация инактивируется вторичной (супрессорной). Данный тип хлорофиллдефектности биологически отличается от естественных или индуцированных пигментных точковых мутаций, выщепляющихся в форме гомозигот по рецессивному мутантному аллелю, неспособных к восстановлению и, как правило, летальных.

Система супрессии хлорофиллдефектности оказалась мультивалентной. Ресупрессия в период температурной релаксации происходит множественными альтернативными путями: быстро – медленно; через репопуляцию клеток базальной части проростка или реверсию с использованием физиологических ресурсов для восстановления структуры хлоропластов и синтеза пигментов. Возможны различные сочетания скорости и механизмов восстановления (быстрая реверсия – медленная реверсия и быстрая репопуляция – медленная репопуляция). Еще одной феноменологической чертой температурозависимой депигментации является тот факт, что восстановление может протекать двумя путями. Каноническое восстановление (от окраски проростка с более выраженной депигментацией к менее выраженной) в 1–2 этапа и неканоническое и только медленное (часто с усилением хлорофиллдефектности или с фенотипическими повторениями на первых этапах восстановления, зеленая окраска проявляется у последующих листьев) (табл. 16).

Таблица 16. **Фенотипический спектр проростков *Festuca pratensis* в зависимости от скорости и механизма восстановления функции гена-супрессора (температура проращивания семян 25 °С)**

Скорость и механизмы восстановления функции гена-супрессора	Фенотип проростка
Быстрая реверсия (каноническое)	$V > N, X > N, X > V, A > N, A > V$
Медленная реверсия (каноническое)	$V > V > N, X > X > N, A > A > N$
Медленная реверсия (неканоническое)	$V > X > N, X > A > N$
Быстрая репопуляция (каноническое)	$VN > VN, XN > XN, XV > XV$
Быстрая репопуляция + быстрая реверсия (каноническое)	$VN > N, XN > N, XV > N, XV > XN$
Медленная репопуляция (каноническое)	$V > VN, X > XN, X > XV, A > AN, A > AV$
Медленная репопуляция (неканоническое)	$V > XN > N, X > AV > N, X > AN > N$

В мутантных популяциях в сравнении с естественными наблюдаются особенности формирования пула температурозависимой депигментации проростков. Это, прежде всего, ослабление супрессии, наиболее выраженное у проростков, выращенных из семян, сформировавшихся на материнских растениях, культивируемых при высоком уровне почвенного плодородия.

Кроме того, у мутантных потомств при равных условиях проращивания семян по сравнению с сортом-популяцией Карельская спектр хлорофиллдефектности оказался вдвое шире и генетически однозначным – почти половину его составили фенотипы *xantha* (0,48–0,51), как возможные гетерозиготы. Еще одна особенность – высокая активность гена-супрессора у части проростков с фенотипами *viridis* и *xantha*, которая приводит к появлению ранних ревертантов в экстремальных условиях роста (35 °С). Восстановление пигментации у них осуществляется только через репопуляцию. Феномен ранней ресупрессии, как представляется, связан с адаптивными реакциями, свойственными небольшой части особей популяции.

Существующие и используемые альтернативные пути восстановления подтверждают наличие «узких» мест в этих процессах, возможности их эффективного обхода и синергизма действия. Как будет показано далее, действие супрессорной системы сопровождается определенными компенсаторными и адаптивными эффектами, распространяющимися на большой спектр морфологических и физиологических признаков на разных этапах онтогенеза. Подобные генетические системы, безусловно, селективно значимы и определяют адаптивный потенциал и стратегию выживаемости.

Как показало наше исследование, стабилизирующий отбор, благоприятствующий фенотипам с характеристиками, сосредоточенными возле средних популяционных значений (Шмальгаузен, 1969; Алтухов и др., 1976; Алтухов, 2003), контролирует пул депигментированных проростков. На рис. 14 представлены линейные тренды, характеризующие отклонения частот фенотипов с депигментацией от средних значений у 7 мутантных потомств и с. Карельская. Как правило, стабилизирующий отбор более интенсивен в отношении всех хлорофиллдефектных фенотипов, по сравнению с фенотипической нормой, с характерными пологими линиями отклонений от среднего значения признака. Тем не менее выявились особенности действия отбора в отношении частоты растений с хлорофиллдефектным фенотипом при различных фонах почвенного питания материнских растений. При всех изученных уровнях почвенного питания (высоком, умеренном и низком) в отношении частоты особей в экспериментальном пуле проростков

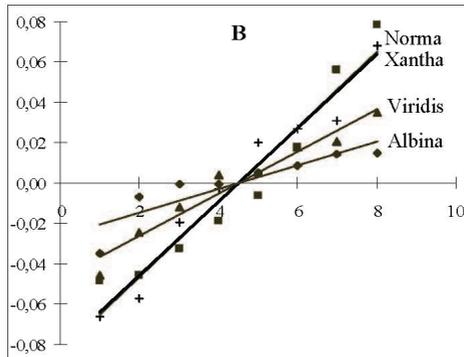
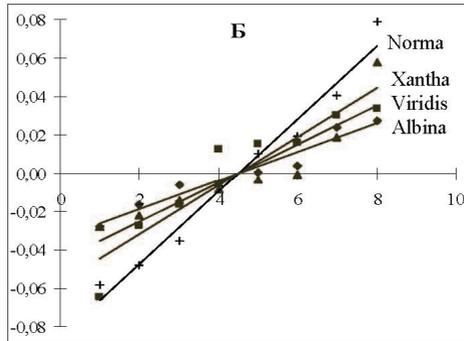
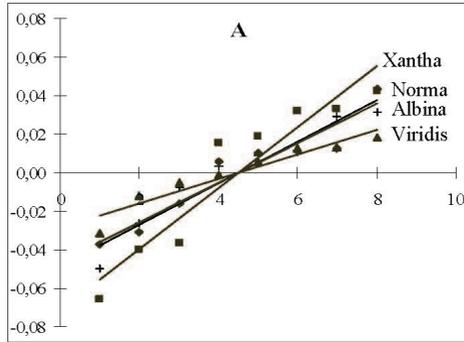


Рис. 14. Частота растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической:

А, Б, В – соответственно высокий, умеренный и низкий фон почвенного питания

с фенотипом *xantha* стабилизирующий отбор действует менее жестко, чем с фенотипами *albina* и *viridis*, а при высоком уровне – и по сравнению с *w-type*. У растений с фенотипом *viridis* стабилизация признака происходит при высоком, а с фенотипом *albina* – при низком и умеренном фоне. Высокий уровень почвенного питания сохраняет от действия отбора особи, которые формируют потомство, характеризующееся высокими значениями частот проростков с глубокими типами депигментации: *xantha* и *albina*. Умеренный почвенный уровень культивирования растений создает наиболее жесткий селективный фон для всех хлорофиллдефектных фенотипов. При этом из популяций элиминируют особи, характеризующиеся сниженной способностью к восстановлению депигментации.

Полученные данные указывают и на тот факт, что в зависимости от уровня почвенного питания материнских растений соотношение частот зеленых и хлорофиллдефектных проростков у потомков будет разным. Это соотношение, как было показано выше, отражается и на формуле расщепления. Таким образом, не только генотипическая среда, но и условия культивирования материнских растений оказывают влияние на величину пула растений с супрессированной хлорофиллдефектностью в следующем поколении.

2.3.2. Структурно-функциональные особенности растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью

2.3.2.1. Анатомические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью

Анатомо-морфологические особенности растений часто обусловлены различиями в структурно-функциональной организации листа, являющегося органом фотосинтеза. Основную часть листа составляет мезофилл – высокоспециализированная фотосинтезирующая ткань, которая представлена двумя типами клеток: палисадными и губчатыми, различающимися по пloidности, структуре, функциям и особенностям развития (Эзау, 1969, 1980; Горышина, 1979; Мокроносков, 1981, 1983; Тахтаджян, 1987). У однодольных растений мезофилл чаще всего относят к типу гомогенных или диффузных тканей (Brown, 1958; Николаевский, 1972; Цвелев,

1976; Пьянков, Кондрачук, 1995), хотя в листе некоторых видов семейства *Poaceae* имеется «столбчатый мезофилл» (Николаевский, 1970; Renvoize, 1982, 1986; Вознесенская, 1984; Березина, Корчагин, 1985).

Как показали наши исследования, структура листа *F. pratensis* типична для злаков с фестукоидным типом анатомии (рис. 15). Основные клетки эпидермы вытянуты вдоль листа и покрыты слоем толстой кутикулы. Они содержат крупную вакуоль, занимающую практически все внутреннее пространство клетки, и небольшое ядро, расположенное в пристенном слое цитоплазмы. В адаксиальной эпидерме встречаются также мелкие окремневшие клетки, трихомы и довольно крупные моторные (пузыревидные) клетки, содержимое которых занято большими вакуолями. Абаксиальная эпидерма, включающая некрупные основные клетки, менее разнообразна по структуре. Парацитный устьичный аппарат, типичный для злаков, состоит из двух замыкающих и двух побочных клеток, располагающихся на адаксиальной и абаксиальной сторонах листа, что характеризует лист овсяницы как амфистоматический. Под устьицами размещаются воздушные полости, окаймленные вытянутыми, часто изогнутыми паренхимными клетками неправильной формы. Крупные проводящие пучки коллатерального закрытого типа чередуются с двумя-тремя более мелкими.

В ассимиляционной паренхиме листа *F. pratensis* клетки, располагающиеся непосредственно под эпидермой, отличаются от клеток, находящихся в более глубоких слоях мезофилла. Под абаксиальной (нижней) эпидермой обнаруживается довольно плотный слой продолговатых палисадных клеток, длина которых более чем в 2 раза превышает ширину (рис. 15, табл. 17). Они размещаются и под адаксиальной (верхней) эпидермой, где их ряд прерывается моторными клетками. В центральной части мезофилла листа губчатые клетки располагаются рыхло, между ними находятся крупные и мелкие межклетники. Форма этих клеток – округлая изодиаметрическая или неправильная, а длина ненамного больше ширины. Клетки той и другой формы различаются между собой по всем морфометрическим показателям: длине, ширине, площади и объему (табл. 17).

Таблица 17. Количественные характеристики клеток мезофилла листа *Festuca pratensis* Huds.

Параметры клеток мезофилла листа	Форма клеток растений на различных фазах развития			
	Проростки		Генеративная фаза	
	Удлиненная	Округлая	Удлиненная	Округлая
Длина (мкм)	20,8±0,5***	31,4±0,7	34,2±0,5	25,1±0,3***
Ширина (мкм)	14,5±1,5	14,2±0,3	17,3±0,3	18,7±0,3***
Длина/ширина (мкм)	1,50±0,03***	2,20±0,06	2,10±0,04	1,40±0,02***
Площадь (мкм ²)	304±11***	448±15	595±14	480±13***
Объем (тыс. мкм ³)	2,4±0,2***	3,9±0,3	4,9±0,2	5,7±0,2*
Количество хлоропластов в клетке (шт.)	11±0,3***	16±0,3	19±0,4	13±0,3***
Количество хлоропластов (на 10 ³ мкм ²)	316±11	354±16	336±16	297±12*

Примечание. Различия между удлиненными и округлыми клетками достоверны при * $p < 0,5$; ** $p < 0,1$; *** $p < 0,01$.

Оба типа клеток имеют тонкие оболочки, крупную центральную вакуоль, занимающую почти все внутреннее пространство клетки. Довольно большое ядро с ядрышком и многочисленные дисковидной формы хлоропласты располагаются в пристенном слое цитоплазмы (рис. 15). Существенными оказались и различия двух типов клеток в отношении численности основных фотосинтезирующих структур – хлоропластов. Количество зеленых пластинок как в одной клетке, так и на единицу ее площади и объема в палисадной ткани листа взрослых растений было значительно больше, чем в губчатой. Аналогичные закономерности прослеживались и в листе десятидневных проростков (табл. 17).

Анализ структуры мезофилла *F. pratensis* показал, что лист этого злака можно отнести к переходному типу между листом с дифференцированной и недифференцированной хлоренхимой. Выделенные в ассимиляционной паренхиме листа *F. pratensis* удлиненные клетки, расположенные под эпидермой, структурно близки к палисадным клеткам ксероморфных овсяниц (Николаевский, 1970).

В то же время по размерам, и особенно по площади и объему, удлиненные клетки значительно превосходят округлые, размещающиеся в центре мезофилла и вокруг проводящих пучков. Существенными оказались и различия, имеющие непосредственное отношение к основной фотосинтетической функции листа.

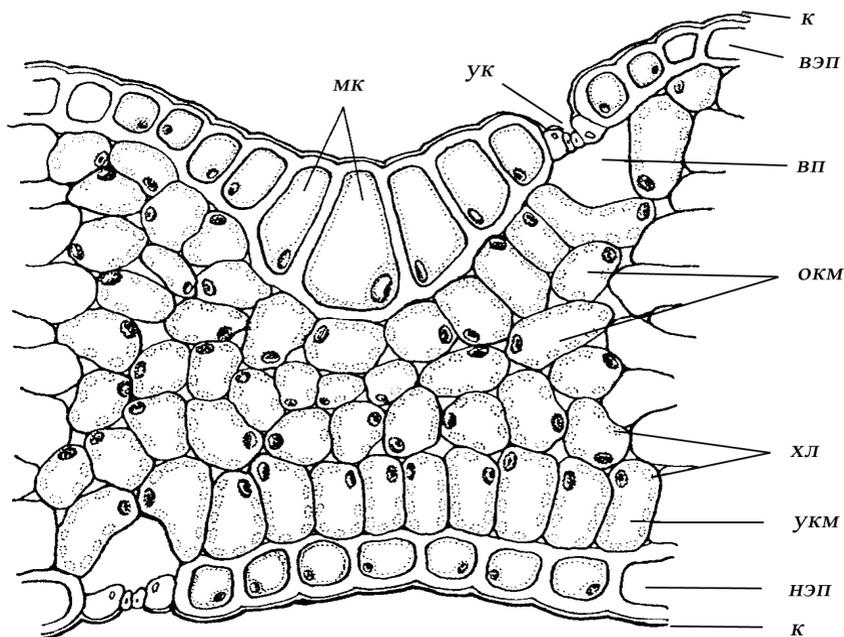


Рис. 15. Строение мезофилла листа генеративного побега *Festuca pratensis*:

к – кутикула, *вэп* – верхняя эпидерма, *вп* – воздухоносная полость, *окм* – округлые клетки мезофилла, *хл* – хлоропласты, *укм* – удлинённые клетки мезофилла, *нэп* – нижняя эпидерма, *мк* – моторные клетки, *ук* – устьичный комплекс

Клетки той и другой формы отличаются друг от друга количеством хлоропластов не только в листе растений, достигших репродуктивного развития, но и у десятидневных проростков.

Структура клеток мезофилла проростков *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в общих чертах типична для злаков. Форма клеток ближе к округлой, оболочки тонкие, с хорошо выраженной срединной пластинкой. Ограниченная тонопластом центральная вакуоль занимает основной объем клетки, цитоплазма располагается тонким слоем по периферии клетки. Ядро овальное, довольно крупное; с ядрышком и зонами конденсиро-

ванного хроматина. Пластиды, как и все другие органеллы, располагаются в пристенном слое цитоплазмы. По количеству хлоропластов ни в палисадных, ни в губчатых клетках не наблюдается разницы между хлорофиллдефектными фенотипами и контролем.

У взрослых растений с супрессированной хлорофиллдефектностью мезофилл листа по своей структуре мало отличался от растений *w-type*. Однако у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при ресупрессии с глубокими типами депигментации (*xantha*, *albina*) выделялся очень четко выраженный слой палисадных клеток под адаксиальной, эпидермой, что отличало взрослые растения от проростков.

Например, клетки 1-го слоя на адаксиальной стороне листа имели удлиненную форму (длинная ось больше короткой примерно в 1,5–2 раза). Палисадные клетки размещаются и под адаксиальной эпидермой, где их ряд прерывается моторными клетками. В центральной части мезофилла листа губчатые клетки располагаются рыхло, между ними находятся крупные и мелкие межклетники. Форма этих клеток – округлая изодиаметрическая или неправильная, а длина ненамного больше ширины (табл. 18). Клетки мезофилла листа растений содержат крупную центральную вакуоль и несколько более мелких цитоплазматических вакуолей.

Таблица 18. **Размеры клеток и число хлоропластов у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при десупрессии**

Параметры клеток мезофилла листа	Фенотип			
	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Длина (мкм)	23,1±0,6	20,5±0,4***	24,2±1,1	25,0±1,9
Ширина (мкм)	11,4±0,6	8,3±0,4***	10,0±0,5	11,1±0,6
Площадь (мкм ²)	263±13	174±12***	242±18	278±33
Объем (мкм ³)	1,8±0,2	0,8±0,1	1,2±0,1	1,7±0,3
Количество хлоропластов (на клетку)	14±0,5	12±0,7*	11±0,5**	–
Количество хлоропластов (на 10 ³ мкм ²)	59±4,0	69±4,8	46±5,2*	–

Примечание. Здесь и далее в табл. 19, 22–24, 27–37 различия между растениями дикого типа (*w-type*) и хлорофиллдефектными фенотипами значимы при * $p < 0,5$; ** $p < 0,1$; *** $p < 0,01$.

Клетки мезофилла листа растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при де- и ресупрессии существенно отличались по ряду анатомо-морфологических показателей: площади и объему, количеству и размерам содержащихся в них хлоропластов (табл. 18, 19).

Размеры хлорофиллоносных клеток мезофилла в большей степени варьировали у растений-ревертантов при ресупрессии, тогда как у хлорофиллдефектных проростков при десупрессии они были одинаковы.

В обоих случаях просматривается тенденция прямой зависимости размеров клеток от уровня хлорофиллдефектности: чем сильнее дефект, тем крупнее хлорофиллоносные клетки. Особенно четко это видно при ресупрессии, здесь наибольшими размерами паренхимных клеток отличались растения с фенотипом *albina* (табл. 19). Клетки листа растений с фенотипами *viridis* и *xantha* по размерам были близки к растениям *w-type*. При десупрессии минимальными оказались площадь и объем клеток у проростков с фенотипом *viridis*, отличавшихся по размерам клеток от *w-type* (табл. 18).

Таким образом, структурные особенности мезофилла листа у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью характеризуются наличием компонентов, присущих и мезофиллу двудольных, которые могут рассматриваться как адаптивные, обеспечивающие у мутантных растений функционирование фотосинтетического аппарата.

Таблица 19. Размеры клеток и количество органелл у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при ресупрессии

Параметры клеток мезофилла листа	Фенотип			
	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Длина (мкм)	34,3±1,3	36,7±1,4	36,7±1,6	46,1±1***
Ширина (мкм)	15,4±0,5	17,2±0,7*	16,8±0,8	19,7±0,7***
Площадь (мкм ²)	541,3±34,9	647,5±42,7*	634±53,4	909,3±37,4***
Объем (мкм ³)	4,7±0,4	6,3±0,6*	5,9±0,9	8,6±0,9***
Количество хлоропластов (на клетку)	21,0±0,5	21,0±0,6	18,0±0,4***	24,0±0,7***
Количество хлоропластов (на 10 ³ мкм ²)	38,8±3,1	32,4±4,2	28,4±5,1	26,4±3,8**

Количество хлоропластов варьирует в зависимости от глубины хлорофиллдефектности при десупрессии: у проростков с фенотипом *viridis* количество хлоропластов больше на 15–20%, а у *xantha* на 20% меньше по сравнению с *w-type* (табл. 18). Проростки с фенотипом *albina* не имели сформированных хлоропластов, поэтому их параметры не учитывались. Количество хлоропластов в клетках мезофилла у растений-ревертантов при ресупрессии оказалось иным: наибольшим количеством отличались растения с фенотипом *albina*, наименьшим – *xantha* в сравнении с *w-type*. Однако количество хлоропластов на определенный объем клетки оказывается наибольшим у растений *w-type*, а наименьшим – у *albina*-ревертантов, что связано с более крупным размером клеток у последних (табл. 19).

Объем клетки, занимаемый одним хлоропластом (КОХ), и относительный объем хлоропластов в клетке (V) являются расчетными параметрами (табл. 20). Как видно из представленных данных, во всех случаях фенотип *viridis* характеризуется максимальным показателем КОХ. При этом суммарный относительный объем хлоропластов достигает 20% (при средних значениях 10–15%).

Таблица 20. Особенности хлоропластов растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при де- и ресупрессии

Параметры хлоропластов	Десупрессия				Ресупрессия			
	Фенотип							
	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
КОХ (мкм ³)	538±25	727±41	425±83	–	186±15	303±33	346±54	380±41
V _{отн.} (%)	6	20	3	–	11	14	13	13

Примечание. КОХ – объем клетки, приходящийся на один хлоропласт, V_{отн.} – относительный объем хлоропластов (суммарный объем всех хлоропластов в клетке, %, по отношению к ее объему).

При сопоставлении полученных результатов (табл. 18–20) обнаруживается, что количество хлоропластов на единицу площади клеток у взрослых растений меньше, чем у проростков. Этот факт объясняется особенностями развития мезофилла листа: скорость деления хлоропластов в молодом листе опережает рост объема

самых клеток мезофилла. На более поздних стадиях роста листа объем клеток значительно увеличивается, а количество органелл к этому времени уже постоянно, и поэтому взрослые растения характеризуются меньшим числом органелл на единицу площади клеток листа (Мокроносков, 1981).

Как показал двухфакторный дисперсионный анализ, количество зеленых пластид зависело от двух факторов (табл. 21).

Таблица 21. **Влияние хлорофиллдефектного фенотипа растений *Festuca pratensis* (фактор 1) и формы клеток мезофилла листа (фактор 2) на количество в них хлоропластов**

Варьирование данных	Сумма квадратов	Число степеней свободы	Дисперсия	Критерий Фишера		Доля влияния фактора (%)
				F (эмп.)	F (крит.)	
По градациям фактора 1	70,98	15	4,73	6,42	2,40	22,69
По градациям фактора 2	230,73	1	230,73	313,00	4,54	73,77
Остаточное	11,06	15	0,74			3,54
Общее	312,76	31				

Доля влияния «морфологического» фактора (изменчивость формы клеток и их локализация) в формировании количества хлоропластов в клетках мезофилла листа составила 74%. Доля влияния «генетического» фактора (интенсивность депигментации) составила меньшую величину – 23%. Структура мезофилла листа играет большую роль в определении количества хлоропластов у различных хлорофиллдефектных фенотипов. Необходимо отметить, что размеры клеток и число хлоропластов в них определялись двумя различными способами. Так, изложенные выше данные получены при анализе мацерированной ткани мезофилла листа. При этом изучалась клетка целиком на давленом препарате. Ее параметры несколько отличались от результатов, полученных при анализе ультратонких срезов листа на постоянных препаратах, где размеры и число органелл подчитывались на срез и единицу его площади. Однако прослеживаемые тенденции в изменении параметров клеток и их органелл в зависимости от степени хлорофильного дефекта, как будет показано далее, оставались неизменными.

Анализ ультратонких срезов клеток мезофилла листа *F. pratensis* разных фенотипов (проростки *w-type*, *viridis*, *xantha* и *albina*) позволил выявить и другие их особенности. Форма клеток почти округлая, оболочки тонкие, с хорошо видимой срединной пластинкой. Центральная вакуоль ограничена тонопластом и занимает почти весь объем клетки, цитоплазма расположена по периферии клетки. Плазмалемма слегка извилистая и не всегда плотно примыкает к оболочке, возможно, вследствие особенностей фиксации. Ядро овальное, крупное; отчетливо просматриваются ядрышко и зоны конденсированного хроматина. Органеллы (пластиды, митохондрии и др.) находятся в пристенном слое цитоплазмы. У всех исследованных фенотипов митохондрии многочисленные, округлые по форме, образуют небольшие группы (по две-три органеллы) и тесно контактируют с пластидами. В гиалоплазме встречаются профили эндоплазматического ретикулума, рибосомы, диктиосомы и липидные капли.

Различия в строении клеток мезофилла у проростков разных фенотипов касаются размеров клеток и их основных органелл (хлоропластов и митохондрий). Площадь срединного среза клетки одинакова у *w-type* и *viridis*- фенотипов и больше на 10–20% у *xantha*- и *albina*-проростков. Крупные размеры клеток у проростков *xantha* связаны в основном с шириной клетки, а у *albina* – увеличены оба линейных размера клетки и, как результат, – их площадь и объем (табл. 22).

Размеры хлоропластов у отдельных фенотипов оказались различными: минимальные (по площади и объему) – у *w-type*, несколько крупнее – у *xantha*, а самые большие (почти в 2 раза) – у проростков *viridis*. У фенотипа *albina* пластиды самые мелкие, бесформенные, с обильными выростами и инвагинациями, что делает невозможным их измерение. Размеры митохондрий у *viridis* и *albina* на 10–20% больше, чем у *w-type* и *xantha*-фенотипов (табл. 23). Количество хлоропластов и митохондрий варьирует в зависимости от степени хлорофиллдефектности.

По сравнению с *w-type*-фенотипом у *viridis* хлоропластов больше примерно на 15–20%, а митохондрий – почти вдвое. У проростков *xantha* количество хлоропластов на 20% меньше, чем у *w-type*. При этом число митохондрий у первых по сравнению с

w-type выше на 50% (табл. 24). У проростков *albina* количество пластид на срез клетки визуально меньше по сравнению с *w-type*, а митохондрий несколько увеличено (на 10%). Что касается соотношения митохондрий и хлоропластов (количество митохондрий на 1 хлоропласт), то оно постепенно возрастает в ряду от *w-type* к фенотипу *xantha* (табл. 23). Хлорофиллдефектные проростки различаются формой и степенью развития органелл (хлоропластов и митохондрий) и их структурных компонентов. Хлоропласты проростков *w-type* имеют правильную линзовидную форму, хорошо развитую тилакоидную систему, крупные многочисленные грани и мелкозернистую плотную строму, в которой локализируются пластоглобулы и редкие небольшие крахмальные зерна (рис. 16, а). Хлоропласты фенотипа *viridis* также хорошо развиты, отличаются большей протяженностью системы тилакоидов стромы и большими размером и количеством крахмальных зерен. Митохондрии в обоих случаях имеют одинаково развитую систему крист.

У проростков *xantha* обнаруживаются пластиды двух типов. Первый тип – достаточно развитые крупные хлоропласты, мембранная система которых представлена мелкими (2–5 тилакоидов) гранами и многочисленными тилакоидами стромы (рис. 16, б). И гранальные, и стромальные тилакоиды сильно вытянуты в длину. Крахмальные зерна в плотном мелкозернистом матриксе хлоропластов этого типа практически не отмечены, пластоглобул немного. Второй тип – мелкие округлые или чуть вытянутые недифференцированные пластиды (рис. 16, в). В их строме отмечаются единичные тилакоиды и значительные скопления пластоглобул различных размеров – от мелких до очень крупных. Необходимо отметить, что в мезофилле проростков *xantha* встречаются клетки либо с одним из двух типов пластид, либо с обоими типами – и недифференцированными пластидами и хлоропластами (рис. 16, г). Митохондрии хорошо развиты.

У проростков *albina* обнаруживаются только недифференцированные пластиды, бесформенные, с множеством выростов и инвагинаций. Единичные тилакоиды встречаются редко, но отмечаются большие скопления пластоглобул, как и в неразвитых пластидах проростков *xantha*. Система крист митохондрий развита слабо.

Таблица 23. Количество пластид и митохондрий в клетках мезофилла листа растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью на разных стадиях онтогенеза

Количество оргanelл (шт.)	Фенотип						
	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
	Ювенильная фаза развития (проростки)				Генеративная фаза развития (растения-ревертанты)		
	Пластиды						
На срез клетки	7,0±0,4	8,0±1,0	4,0±0,5**	Не под- считывалось	8,0±0,2	9,0±0,3***	8,0±0,3
На 100 мкм ² среза клетки	55,5±3,5	66,1±3,6**	28,2±5,5**	–	18,3±0,7	15,9±1,5	14,4±0,9**
	Митохондрии						
На срез клетки	5,0±0,3	9,0±1,0***	8,0±1,0***	7,0±1,0	10,0±0,7	10,0±0,7	7,0±0,4***
На 100 мкм ² среза клетки	39,4±2,9	74,9±2,9***	56,3±6,2**	46,4±5,0	22,9±1,6	17,7±1,4**	12,6±1,1***
На 1 хлоропласт	0,7±0,04	1,0±0,07***	2,0±0,04***	Не под- считывалось	1,6±0,1	1,1±0,1***	0,9±0,06***
							6,0±0,3***
							7,3±0,6***
							0,6±0,04***

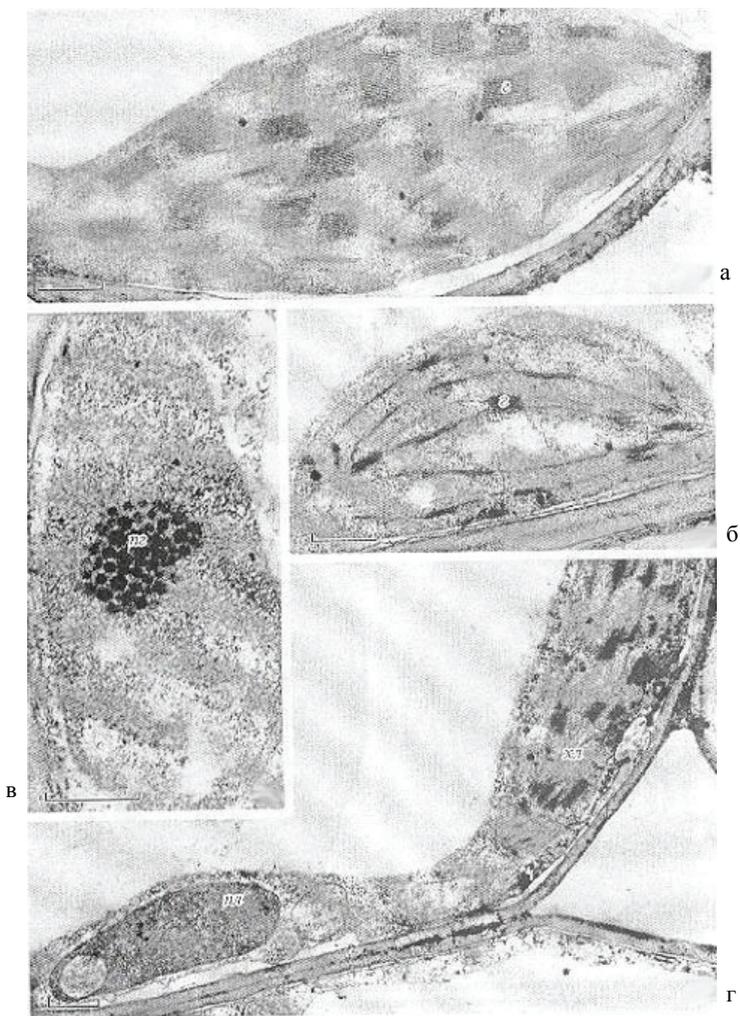


Рис. 16. Ультраструктура пластид в клетках мезофилла хлорофиллдефектных проростков *Festuca pratensis*:

проростки с фенотипами: а – *w-type*, б – *xantha* (сформировавшиеся хлоропласты), в – *albina* (недифференцированные пластиды); г – *xantha* – участок клетки мезофилла с двумя типами пластид. *г* – грана, *ng* – пластоглобулы, *nl* – пластида, *chl* – хлоропласт.

Масштабная линейка – 0,5 мкм

Мезофилл листа взрослых растений (*w-type*, *viridis*-, *xantha*- и *albina*-ревертанты), в отличие от проростков, более четко дифференцирован: клетки 1-го слоя на адаксиальной стороне листа имеют удлиненную форму (длинная ось больше короткой примерно в 1,5–2 раза) и содержат, кроме крупной центральной, несколько более мелких электронно-прозрачных цитоплазматических вакуолей. Помимо того, в клетках *xantha*-ревертантов наблюдаются фибриллярные включения (видимо, белковой природы), локализованные в ядре и окруженные мембраной.

Размеры клеток у *viridis*- и *xantha*-ревертантов по сравнению с *w-type* больше на 30%, а у *albina*-ревертантов – почти на 100%. При этом у всех ревертантов, в отличие от дикого фенотипа, форма клеток более вытянутая (отношение длинной оси к короткой достигает наибольших значений у *xantha*-ревертантов). В отличие от проростков, *viridis*- и *xantha*-ревертанты близки по размерам клеток, а *albina*-ревертанты резко отличаются большими размерами клеток (табл. 22).

Площадь среза и объем одного хлоропласта постепенно возрастают в ряду от растений *w-type* к *albina*-ревертантам, причем у последнего фенотипа эти величины вдвое больше. Увеличение размеров хлоропластов происходит в основном за счет их короткой оси, что приводит к изменению формы хлоропластов от линзовидной (*w-type* и *viridis*-ревертанты) к овальной (*xantha*- и *albina*-ревертанты). Размеры митохондрий в 2–3 раза больше у всех ревертантов по сравнению с *w-type*; наибольшие размеры отмечаются у *viridis*-ревертантов (табл. 22).

Различия по количеству хлоропластов и митохондрий у взрослых растений-ревертантов менее выражены, чем у проростков. Однако у *xantha*-ревертантов количество хлоропластов на единицу площади и объема клетки на 15%, а у *albina*-ревертантов – на 30% меньше, чем у растений *w-type* (табл. 23).

Количество митохондрий уменьшается в ряду растений от дикого типа до *albina*-ревертантов (на 50–80%). Отношение количества митохондрий на один хлоропласт также постепенно снижается, что противоположно результату, полученному у хлорофиллдефектных проростков (табл. 23). Выявленные различия в большей степени касаются *xantha*- и *albina*-ревертантов, у которых отмеченные показатели существенно снижены – на 40–80%.

У всех изученных ревертантов хлоропласты имеют типичную ультраструктуру: в мелкозернистой плотной строме располагаются структурные компоненты – хорошо развитая тилакоидная система, граны, пластоглобулы и крахмальные зерна (рис. 17, а–г). В некоторых хлоропластах у всех типов ревертантов отмечены деструктивные изменения мембранного комплекса – появляются гофрированные граны и раздутые тилакоиды (рис. 17, б). Хлоропласты *xantha*- и *albina*-ревертантов отличаются также неупорядоченным расположением гран и нарушением их ориентации относительно длинной оси хлоропласта (рис. 17, в, г).

Анализ структурных элементов хлоропластов показал, что парциальный объем гран выше у *viridis*-ревертантов и несколько меньше у *albina*-ревертантов по сравнению с растениями *w-type* и *xantha*-ревертантами (табл. 24). Парциальный объем межгранных тилакоидов существенно больше у всех ревертантов по сравнению с *w-type*, но наибольшие значения (в 4 раза) отмечаются у *viridis*-ревертантов. Соответственно объем стромы минимален у структурно-сформированного *viridis*-ревертанта и несколько выше у *albina*-ревертантов.

Среди растений-ревертантов. выделяются *viridis*-ревертанты, хлоропласты которых имеют наиболее развитую в имеющемся спектре мембранную систему – протяженность мембран гранальных и агранальных тилакоидов почти в 2 раза выше по сравнению с растениями *w-type*; максимальным является также и показатель диаметра гран. Протяженность агранальных мембран выше у всех ревертантов по сравнению с растениями *w-type*. Самые крупные граны (с большим числом тилакоидов) характерны для *xantha*- и *albina*-ревертантов. Однако число гран на единицу площади среза хлоропласта, наоборот, – максимально у растений *w-type*. Парциальный объем пластоглобул возрастает в ряду от растений *w-type* к *albina*-ревертантам, достигая у последних максимальных значений (на 50% больших, чем у *w-type*). Среднее же количество пластоглобул у *albina*-ревертантов по сравнению с *viridis*- и *xantha*-ревертантами оказалось значительно ниже (на 60%) (табл. 24).

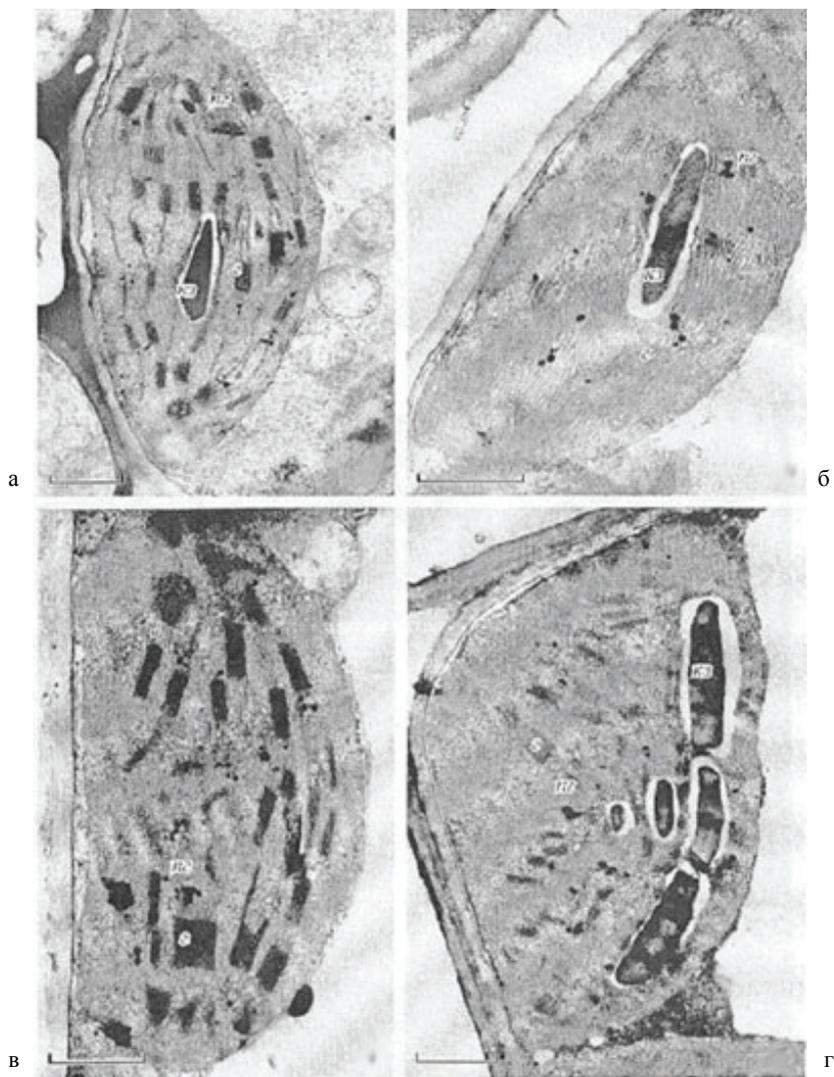


Рис. 17. Ультраструктура хлоропластов в клетках мезофилла растений-ревертантов *Festuca pratensis*:

растения с фенотипами: а – *w-type*, б – *viridis*, в – *xantha*, г – *albina*.

г – грана, кз – крахмальное зерно, пг – пластоглобулы.

Масштабная линейка – 1,0 мкм

Размеры крахмальных включений обнаруживают наибольшие различия между ревертантами. У *xantha*-ревертантов крахмальные зерна практически отсутствуют (рис. 17, в), у *albina*-ревертантов их площадь максимальна (рис. 17, г), но по парциальному объему они уступают растениям *w-type*. *Viridis*-ревертанты занимают промежуточное положение (табл. 24).

Проведенные исследования показали, что как хлорофиллдефектные проростки, так и взрослые морфологически сходные растения с супрессированной хлорофиллдефектностью существенно различаются по ультраструктуре листа. На мезоструктурном уровне хлорофиллдефектность проявляется в увеличении размеров клеток, органелл и числа митохондрий у визуально дефектных (светло-зеленых, желтых и белых) проростков по сравнению с зелеными.

Аналогичный результат («разбухание» органелл) уже описан для классических хлорофиллдефектных мутантов и считается типичным структурным проявлением мутационного груза (Веттштейн, 1962; Сейджер, 1962; Брик, 1970; Калам и Орав, 1974).

Таблица 24. Параметры структурных компонентов хлоропластов клеток мезофилла листа хлорофиллдефектных растений *Festuca pratensis*

Параметры структурных элементов	Фенотип			
	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Парциальный объем компонентов (%)				
Гран	26,9±1,7	29,3±1,1	25,8±1,5	18,0±0,9*
Тилакоидов стромы	5,8±0,9	21,9±1,3***	14,2±1,1***	12,7±1,0***
Стромы	51,7±1,6	40,7±1,4***	55,7±1,5	57,5±1,2**
Пластоглобул	2,1±0,4	2,9±0,3	3,1±0,4	3,1±0,4
Крахмала	13,6±1,6	5,2±0,7***	1,2±0,3***	8,7±1,0**
Число компонентов на 10 мкм ² среза хлоропласта				
Гран	27±3	23±2	17±2***	12±1***
Пластоглобул	20±2	24±2	27±3	15±2*
Протяженность мембран тилакоидов (мкм)				
Гран	90,7±8,2	122,8±4,1***	118,7±7,9***	90,1±5,6
Стромы	38,7±2,3	63,5±2,6***	57,7±3,9***	56,2±2,3***
Количественные характеристики гран				
Коэффициент гранальности	2,4±0,2	1,9±0,1	2,0±0,2	1,6±0,1
Диаметр гран (мкм)	0,30±0,01	0,40±0,01***	0,40±0,01***	0,30±0,01
Количество тилакоидов в гране (шт.)	8,0±0,6	8,0±0,2	8,0±0,3	9,0±0,6

Особое место в ряду изученных хлорофиллдефектных проростков занимает фенотип *viridis*. Наряду с визуальной депигментацией у него отмечается увеличение числа хлоропластов, органеллы хорошо дифференцированы, в них четко просматриваются развитые мембранные структуры. Эти факты свидетельствуют о включении у данного фенотипа компенсационных систем, которые усиливают его адаптационные возможности. Для проростков *xantha* и *albina* характерно сравнительно меньшее количество хлоропластов, их структурные дефекты, «несформированность» и значительное увеличение количества митохондрий, сопровождается некоторым снижением степени их развития. Такие результаты, по видимому, свидетельствуют об активном функционировании в условиях высокой температуры систем прямого ингибирования дифференцировки хлоропластов, а косвенно через продукты метаболизма и митохондрий (Гоффман, 1971; Силаева, 1978; Ленинджер, 1985). У фенотипа *xantha* этот процесс в большей степени затрагивает хлоропласты, а у *albina* – и митохондрии. Тесная взаимосвязь между хлоропластами и митохондриями подтверждается в нашем эксперименте: количество митохондрий коррелирует как с размерами ($r = 0,97$), так и с количеством хлоропластов ($r = 0,98$). Увеличение размеров и количества митохондрий у мутантов может быть связано как со специфическими потребностями хлорофильных мутантов в энергии (Сейджер, 1962; Брик, 1970; Калам и Орав, 1974), так и со смещением направленности синтетических процессов в связи с ингибированием развития хлоропластов. Необходимо отметить также, что увеличение числа митохондрий – неспецифическая стресс-реакция. Подобный эффект рассматривается как компенсационный механизм при снижении эффективности дыхания в стрессовых условиях (Балагурова и др., 1980; Буболо, 1984; Pihakaski, 1981; Кислюк и др., 1995).

Несмотря на визуальное сходство взрослых растений с пигментными мутациями овсяницы луговой, их ультраструктурная организация существенно различается. Каждый из ревертантов имеет свой специфический характер изменений в ультраструктуре хлоропластов. Так, у растений *w-type* количество гран максимально, но сами граны мелкие, малотилакоидные (ближе к световому типу строения хлоропласта), а у *albina*-ревертантов, наоборот, –

возрастает среднее число тилакоидов в гране, но количество самих гран незначительно (ближе к теневому типу строения хлоропласта) (табл. 25).

Таблица 25. Распределение гран по количеству тилакоидов в хлоропластах растений-ревертантов *Festuca pratensis*

Фенотип	Распределение гран по количеству тилакоидов					
	2–3	4–6	7–10	11–15	16–20	> 21
<i>w-type</i>	19,78	30,08	35,36	15,99	12,41	6,17
<i>viridis</i>	11,62	33,14	37,32	16,36	4,44	4,00
<i>xantha</i>	11,97	31,62	37,21	16,11	4,42	4,52
<i>albina</i>	10,75	44,47	37,70	12,74	11,86	4,50

Иной характер трансформации у *viridis*- и *xantha*-ревертантов – парциальный объем гран у них очень высокий, а также увеличена протяженность гранальных мембран за счет возрастания диаметра гран. У *viridis*-ревертантов высоких значений достигает также и развитие системы межгранных тилакоидов. В результате этого уменьшается коэффициент гранальности, отражающий отношение протяженности гранальных мембран (фотосистема II) к протяженности агранальных мембран (фотосистема I). Такой же эффект наблюдается и у *albina*-ревертантов, но лишь за счет уменьшения протяженности гранальных мембран. Аналогичная трансформация гранального и агранального комплексов известна как адаптивная реакция на воздействие тех или иных факторов среды (Мирославов и др., 1999; Anderson, 1999).

Все наблюдаемые деструктивные изменения хлоропластов: разбухание самих пластид, появление гофрированных гран, раздутых тилакоидов, дезориентированных гран являются, как известно, неспецифической структурной реакцией хлоропласта на многие внешние воздействия, в частности тепловой шок (Smille et al., 1978; Буболо и др., 1988; Буболо, Шаркова, 1993; Шаркова и др., 1996; Мирославов и др., 1999), и, как показало наше исследование, может быть вызвано также действием мутации.

Еще одной структурной особенностью хлоропластов у ревертантов является большой парциальный объем пластоглобул – резервуара липидов, хинонов (Силаева, 1978) и исходных компонентов синтеза каротиноидов и хлорофиллов, которые не используют

ся хлоропластом для построения пигментов (Ширяев, 1978; Guiamet, Nooden, 1999). Максимальные значения парциального объема пластоглобул оказались у *xantha*- и *albina*-ревертантов. Более того, у *albina*-ревертантов, при максимальном парциальном объеме и площади пластоглобул, наблюдается минимальное их количество на единицу площади среза пластиды.

У *xantha*-ревертантов не происходит накопления крахмала в хлоропластах, а у *albina*-ревертантов, напротив, крахмал откладывается в избытке. Подобный результат может свидетельствовать о существенных нарушениях обменных процессов в хлоропласте мутантных растений.

Полученные результаты позволяют выделить четыре различных типа ультраструктуры хлоропластов (табл. 26). Некоторые из изменений, наблюдаемых у изученных растений, уже описаны для мутантов с хлорофиллдефектностью: варьирование размеров и формы хлоропластов (Сейджер, 1962; Хагеманн и др., 1972; Гуляева и др., 1980), их количества (Хагеманн и др., 1972; Hudák, Šomšáková, 1979; Янков и др., 1996), дезориентированность тилакоидов и гран или их существенное разрушение (Гуляева и др., 1980; Kevin, Wilson, 1980; Stummann et al., 1980; Kubicka, Gabara, 1998), раздутые тилакоиды и концевые диски гран (Kevin, Wilson, 1980; Stummann et al., 1980). Нередки также распад или слияние пластид в гомогенную массу и др. (Насыров, 1975; Thomas, 1977, 1983; Гуляева и др., 1980; Freeman et al., 1982). Такие мутантные растения обладают низкой жизнеспособностью и редко выживают в естественной среде обитания (Land et al., 1971; Туренцева и др., 1975; Cráciun, Corneanu, 1980; Kevin, Willson, 1980; Янков и др., 1996).

Однако некоторые изменения в ультраструктуре выявлены нами впервые и не были описаны ранее. Это – значительное увеличение «палисадности» клетки (вытягивание в длину), формирование хлоропластов двух типов – светового и теневого, мощное развитие системы межгранных тилакоидов, полное отсутствие крахмальных включений, увеличение объемов пластоглобул (от *w-type* к *albina*-ревертантам), появление гофрированных гран. По всей вероятности, эти признаки можно считать специфическими характеристиками растений с супрессированной хлорофиллдефектностью *F. pratensis*.

Таблица 26. Типы ультраструктуры хлоропластов растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью

Фенотип	Тип ультраструктуры хлоропластов
<i>w-type</i>	Хлоропласты самые маленькие (13,2 мкм ²), но многочисленные (18,3 на 10 ³ мкм ²) в имеющемся спектре, правильной линзовидной формы, с большим количеством малотилакоидных гран (световой тип). Протяженность гранальных мембран – 91 мкм, агранальных (очень небольшая) – 39 мкм. Коэффициент гранальности высокий (2,4 – наибольший в имеющемся спектре, что свидетельствует о превалировании фотосистемы II у данного варианта). Встречаются деструктивные изменения гран: раздутые тилакоиды, гофрированные граны. Парциальный объем пластоглобул минимальный – 2,1%, крахмала – максимальный – 13,6%
<i>viridis</i>	Хлоропласты на 30% крупнее, а их число несколько (на 12%) меньше, чем в предыдущем варианте. Хлоропласты линзовидной формы, число гран чуть меньше, чем у исходно зеленых, но они большего диаметра. Высочайших значений достигает развитие мембранного комплекса – как гран, так и межгранных тилакоидов. Протяженность мембран больше на 30–50%, чем у исходно зеленых. Коэффициент гранальности снижен до 1,9. Практически каждый хлоропласт несет деструктивные изменения гран. Много пластоглобул крупных размеров. В 2 раза уменьшено содержание крахмала по сравнению с предыдущим вариантом
<i>xantha</i>	Размеры хлоропластов примерно такие, как у <i>viridis</i> -ревертанта. Форма хлоропластов изменяется за счет роста короткой оси – хлоропласты округляются, раздуваются. Количество хлоропластов меньше, чем у предыдущих вариантов. Число гран в хлоропластах резко падает, но диаметр остается на уровне <i>viridis</i> -ревертантов, как и все основные параметры, касающиеся мембранного комплекса. Граны дезориентированы (нарушена ориентация вдоль длинной оси, не просматриваются тилакоиды на срезе граны). Растут парциальный объем и число пластоглобул. Крахмала практически нет
<i>albina</i>	Размеры хлоропластов максимальны – 24,1 мкм ² . Их число минимально – 12,2 на 10 ³ мкм ² . Хлоропласты округлые, раздутые, гран очень мало, но число тилакоидов в грани возрастает (теневого типа). Протяженность гранальных мембран на уровне исходно зеленых растений, агранальных – больше почти на 20% (на уровне <i>xantha</i> -ревертантов). Коэффициент гранальности минимален (превалирует фотосистема I) – 1,6. Парциальный объем гран резко снижен, объем же межгранных тилакоидов более чем в 2 раза превышает таковой у <i>w-type</i> . Большинство гран дезориентировано. Объем стромы максимален. Число пластоглобул минимально, но они очень крупные. Крахмала много – 8,7%

Таким образом, не только хлорофиллдефектные проростки, но и фенотипически сходные взрослые растения характеризуются гетерогенностью структурной организации тканей листа. Супрессия хлорофиллдефектности может быть связана с адаптивной трансформацией ультраструктурной организации клеток мутантных фенотипов, которая позволяет сохранять жизнеспособность растительного организма в целом.

2.3.2.2. Морфологические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью

Абсолютные значения и популяционная и внутривидовая вариабельность тех или иных показателей, характеризующих различные стороны жизнеспособности растений, определяются, как известно, в основном генетическими факторами, варьированием условий среды, эффектами взаимодействия этих факторов (Hauska, 1969; Теория отбора в популяциях растений, 1976; Николаевская, Олимпиенко, 1980; Ермакова, 1984, 1989; Alberto et al., 1987; Dube, Morisset, 1987; Калинина, Лайдинен, 1988). Уровень изменчивости репродуктивной сферы растений менее выражен в сравнении с вегетативной и характеризуется значительной долей генотипической компоненты [Титов и др., 1975; Стоева, 1979; Chanyu-Kovacs, Horanszky; 1979; Olah, 1981].

Для растений *F. pratensis* Huds. с супрессированной хлорофиллдефектностью изменчивость морфологических признаков практически не исследована, хотя и является важной составляющей при оценке выживаемости и приспособленности индивидуумов, популяций и действия естественного отбора.

Экспрессия морфологических признаков растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью была связана со специфичностью (скорость и механизмы) восстановления пигментации в процессе ресупрессии.

Так, установлено, что количество генеративных побегов на растение снижается (в 1,5–1,7 раза) независимо от скорости (быстрое, медленное) и путей (реверсия, репопуляция) восстановления пигментации в сравнении с растениями дикого типа (табл. 27–29). Однако величина снижения количества генеративных побегов зависела от скорости восстановления при том

или ином механизме. Значение признака снижается на меньшую величину при быстрой реверсии и медленной репопуляции (в 1,3 и 1,7 раза соответственно) по сравнению с медленной реверсией и быстрой репопуляцией (в 1,7 и 1,9 раза соответственно).

Высота побегов практически не отличалась от *w-type* (среднее значение по группе фенотипов при том или ином механизме восстановления пигментации). Тем не менее для отдельных хлорофиллдефектных фенотипов с более глубокой степенью хлорофиллдефектности она оказалась сниженной в 1,06 раза при медленной репопуляции ($X>XN$, $X>XV$, $X>VA$, $X>AV$) и медленной реверсии ($A>A$, $A>VA$, $A>XA$) по сравнению с диким фенотипом (табл. 38, 39).

Длина соцветия отличалась увеличением размеров в 1,2 раза почти для всех групп фенотипов по сравнению с *w-type* (табл. 29). Однако у растений одних и тех же фенотипов ($X>XN$, $X>XV$, $X>VA$, $X>AV$ и $A>AN$, $A>AV$, $A>XN$) как при медленной репопуляции, так и быстрой реверсии длина соцветия оставалась на уровне дикого фенотипа (табл. 27–28).

Показатели *листа генеративного побега* в среднем почти не изменились в сравнении с *w-type* (табл. 29), однако площадь генеративного листа увеличивалась (в 1,1 раза) при быстрой репопуляции. У отдельных хлорофиллдефектных фенотипов ($V>XN$, $V>AN$) в случае медленной репопуляции выявлено снижение в 1,2 раза значений признака. Длина генеративного листа у всех фенотипов оказалась немного меньше, чем у *w-type*, в случае медленной репопуляции, а для отдельных фенотипов ($X>N$, $X>V$, $X>VN$) и при быстрой реверсии.

Лист вегетативного побега (длина и площадь) в среднем реагирует снижением (до 1,3 раза) показателей при всех типах реверсии и медленной репопуляции, однако у фенотипов с более глубоким хлорофильным дефектом проростков ($A>AN$, $A>AV$, $A>XN$) экспрессия этих признаков не отличалась от дикого типа (табл. 27–29). При быстрой репопуляции значения оказались также на уровне *w-type*.

Таблица 27. Морфологические признаки растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью 3-го года жизни, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Морфологические признаки						
	Генеративный побег			Лист вегетативного побега		Лист генеративного побега	
	Высота	Количество	Длина соцветия	Длина	Площадь	Длина	Площадь
<i>w-type</i>	109,2±1,6	107,0±4,9	22,2±0,4	35,5±1,0	13,1±0,6	23,4±0,5	11,0±0,3
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)							
VN>N, VN>VN	111,3±2,2	57,0±4,3*	25,4±1,2*	34,6±1,4	13,9±0,8	22,2±0,7	12,1±0,4*
XN>N, XV>V, XV>VN, XV>AV	109,0±2,5	55,0±4,5*	23,2±0,5*	34,0±1,2	13,5±0,7	23,5±0,4	12,6±0,4*
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)							
V>XN, V>AN	109,3±4,1	76,0±6,9*	26,6±1,1*	29,4±1,5*	11,1±0,8	20,5±0,8*	9,0±0,8*
X>XN, X>XV, X>VA, X>AV	101,9±0,2*	64,0±4,6*	21,9±0,6	28,7±0,9*	10,3±0,4*	21,8±0,5*	10,7±0,4
A>AN, A>AV, A>XN	109,9±2,5	49,0±7,1*	22,1±0,9	35,5±1,5	13,5±0,9	26,4±0,7*	13,1±0,9*

Растения дикого типа продуцировали короткую и широкую зерновку, что характерно для многолетних злаков и овсяницы луговой в частности (Николаевская, 1998). Анализ размера зерновки растений, различающихся степенью хлорофильного дефекта, выявил четкие отличия по ее длине, как от *w-type*, так и между хлорофиллдефектными фенотипами (табл. 30). Растения с фенотипом *viridis* (V) имели самую длинную зерновку, *xantha* (X) – самую короткую, а растения с фенотипом *albina* (A) формировали длинную и узкую зерновку, которая по своим параметрам приближается к «щуплому» семени. Относительно *w-type* наблюдаются колебания значений – уменьшение длины зерновки у фенотипа *xantha* и увеличение у фенотипов *viridis* и *albina* – в незначительных пределах (3–6%).

Таблица 28. Морфологические признаки растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью 3-го года жизни, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Морфологические признаки						
	Генеративный побег			Лист вегетативного побега		Лист генеративного побега	
	Высота	Количество	Длина соцветия	Длина	Площадь	Длина	Площадь
<i>w-type</i>	109,2±1,6	107,0±4,9	22,2±0,4	35,5±1,0	13,1±0,6	23,4±0,5	11,0±0,3
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)							
V>N, VX>N, VX>NV	114,6±5,9	101,0±4,0	24,8±1,3*	32,1±2,5	12,3±0,9	24,2±1,1	11,9±0,4*
X>N, X>V, X>VN	109,7±1,2	85,0±3,8*	23,3±0,6	32,0±0,8*	12,3±0,4	22,3±0,3*	10,5±0,26
A>V, A>VX, A>VN, A>XV	106,9±1,9	61,0±5,1*	21,4±0,5	30,5±1,7*	10,7±0,76*	24,4±0,6	11,1±0,4
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)							
V>V, VX>VX, VX>V, VX>XV, V>VX, VX>VA	106,0±2,3	61,0±4,3*	24,6±0,8*	29,4±0,9*	10,5±0,5*	23,0±0,4	11,2±0,3
X>X, X>VX	110,8±1,5	72,0±3,7*	24,6±0,8*	32,4±0,9*	12,8±0,5	23,9±0,4	12,1±0,3*
A>A, A>VA, A>XA	103,2±3,6*	57,0±6,1*	24,2±1,5*	28,5±1,6*	10,2±0,8*	22,3±0,8	10,4±0,7

Механизмы и скорость восстановления пигментации при ресупрессии вносили своеобразные коррективы в формирование зерновки у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью (табл. 31). У группы фенотипов с быстрой и медленной реверсией формируется зерновка, близкая по размерам к растениям *w-type*. Увеличение длины зерновки (среднее значение по группе фенотипов) отмечено только при медленной репопуляции. При том или ином характере восстановления выявлены фенотипические особенности хлорофиллдефектных растений.

Таблица 29. Морфологические признаки растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью 3-го года жизни, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Морфологические признаки						
	Генеративный побег			Лист вегетативного побега		Лист генеративного побега	
	Высота (см)	Количество (шт.)	Длина соцветия (см)	Длина (см)	Площадь (см ²)	Длина (см)	Площадь (см ²)
<i>w-type</i>	109,2±1,6	107,0±4,9	22,2±0,4	35,5±1,0	13,1±0,6	23,4±0,5	11,0±0,3
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)							
Среднее по группе	110,2±2,3	56,0±2,2*	24,3±0,8*	34,3±1,3	13,7±0,75	22,8±0,5	12,3±0,4*
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)							
Среднее по группе	107,1±2,3	63,0±6,2*	23,7±0,8*	31,2±1,3*	11,6±0,7*	22,9±0,7	10,9±0,7
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)							
Среднее по группе	110,4±3,0	83,0±7,6*	23,2±0,8*	31,5±1,6*	11,8±0,69*	23,7±0,6	11,2±0,35
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)							
Среднее по группе	106,7±2,4	63,0±4,7*	24,5±1,0*	30,1±1,1*	11,2±0,6*	23,0±0,5	11,2±0,4

Таблица 30. Размеры зерновки у растений *Festuca pratensis* 3-го жизни, различающихся степенью хлорофильного дефекта

Фенотип	Размер зерновки (мм)			
	Длина		Ширина	
	X±s _x	относительно <i>w-type</i>	X±s _x	относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	3,16±0,05		1,11±0,01	
V	3,35±0,05***	106,0	1,11±0,01	100,0
X	3,07±0,03*	97,2	1,12±0,01	100,9
A	3,31±0,03**	104,8	1,04±0,01***	93,7

У одних фенотипов (V>V, VX>V, A>A) при реверсии зерновка значительно крупнее, а у других (VX>VX, X>V, X>X) – мельче, по сравнению с диким типом. Растения с фенотипами группы *xantha* формировали более короткую зерновку, чем с фенотипами *viridis* и *albina*. Шириной зерновки отличались от растений дикого типа только фенотипы групп *albina* при медленных реверсии и репопуляции (A>A, A>AN) и фенотип X>N при быстрой реверсии.

Таблица 31. Размеры зерновки у растений *Festuca pratensis* 3-го года жизни, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Размер зерновки (мм)			
	Длина		Ширина	
	$X \pm s_x$	относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i> (N)	3,16±0,05		1,11±0,01	
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VX	3,57±0,04*	113,0	1,11±0,01	100,0
X>AV	3,17±0,04	100,3	1,13±0,01	101,8
A>AN	3,18±0,04	100,6	1,00±0,01*	90,1
Среднее по группе	3,31±0,04*	104,6	1,08±0,01	97,3
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	3,11±0,03	98,4	1,11±0,02	100,0
X>N	3,07±0,04	97,2	1,03±0,02*	92,8
A>V	3,20±0,05	101,3	1,09±0,01	98,2
Среднее по группе	3,13±0,04	99,0	1,08±0,01	97,0
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>V	3,35±0,05*	106,0	1,11±0,01	100,0
VX>V	3,27±0,05*	103,5	1,09±0,01	98,2
VX>VX	3,03±0,06*	95,9	1,10±0,01	99,1
X>V	2,94±0,03*	93,0	1,11±0,01	100,0
X>X	3,07±0,03*	97,2	1,12±0,01	100,9
A>A	3,31±0,03*	104,8	1,04±0,01*	93,7
Среднее по группе	3,16±0,04	100,1	1,10±0,01	98,6

Как видно из представленных данных, ширина зерновки – это признак, характеризующийся более низким уровнем варьирования в сравнении с ее длиной и практически не зависящий от характера восстановления пигментации при ресупрессии.

2.3.3. Физиологические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью

Изучение содержания зеленых и желтых пигментов проводили у растений 3-го года жизни, маркированных в ювенильной фазе развития по характеру хлорофильного дефекта и восстановления пигментации при ресупрессии.

Анализ содержания зеленых пигментов у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью 3-го года жизни, маркированных в ювенильной фазе развития по характеру хлорофильного дефекта, не выявил фенотипических особенностей. У большинства фенотипов (V, VN, XN, XV, A) наблюдается повышенное содержание как суммарного количества хлорофилла *a* (на 13–18%), так и его содержания в реакционных центрах (на 20–30%) по отношению к этим показателям у растений *w-type*. Обращает на себя внимание, что три хлорофиллдефектных фенотипа являются ранними ревертантами (VN, XN, XV), т. е. восстановление пигментации у них проявляется при 35° путем репопуляции (табл. 32).

В отличие от зеленых пигментов содержание каротиноидов у растений, различающихся хлорофильным дефектом, оказалось зависимым от его интенсивности. Так, растения с фенотипами *viridis* и *xantha* характеризуются снижением каротина (на 30–35%), лютеина (на 20–25%), зеа- + антраксантина (на 13–17%) и суммы ксантофиллов в целом (на 10%), а с фенотипом *albina* – увеличением содержания лютеина (на 35%), неоксантина (на 30%) и общего пула ксантофиллов (на 8%) (табл. 33).

Кроме того, выявлена зависимость содержания зеленых пигментов от путей восстановления пигментации (реверсия – репопуляция) при ресупрессии. Установлено, что состав зеленых пигментов растений с супрессированной хлорофиллдефектностью связан только с определенными механизмами восстановления пигментации при ресупрессии. При восстановлении хлорофильного дефекта путем репопуляции (быстрой и медленной) у растений всех фенотипических групп наблюдается повышенное содержание суммарного количества хлорофилла *a* (на 12–23%) и его содержания в реакционных центрах (РЦ) (на 22–40%).

Восстановление пигментации у проростков с менее глубоким типом депигментации (*viridis* и *xantha*) через реверсию (быструю и медленную) сопровождается снижением (в среднем на 10%) количества хлорофилла *b* у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью в репродуктивную фазу развития относительно *w-type* и, как следствие, суммы хлорофиллов *a + b* в ССК (на 15%).

Таблица 32. Содержание и соотношение пигментов (мг/г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся типом хлорофильного дефекта

Фено-тип	Содержание и соотношение пигментов						c/a
	a	b	a/b	ССК	ПЦ	c	
w-type	1,14±0,05	0,49±0,01	2,33±0,07	1,13±0,08	0,55±0,04	0,29±0,01	0,25±0,02
V	1,34±0,07*	0,55±0,05	2,44±0,03*	1,21±0,11	0,68±0,04*	0,36±0,02*	0,27±0,01
VN	1,31±0,05*	0,53±0,03	2,47±0,06*	1,16±0,06	0,67±0,02*	0,24±0,01*	0,18±0,02*
VX	1,15±0,07	0,47±0,02	2,45±0,05	1,04±0,05	0,59±0,05	0,26±0,02	0,23±0,01
X	1,14±0,03	0,45±0,01*	2,53±0,03*	0,99±0,03*	0,60±0,02	0,31±0,09	0,27±0,01
XN	1,30±0,01*	0,52±0,01*	2,50±0,05*	1,15±0,03	0,67±0,01*	0,31±0,03	0,24±0,01
XV	1,34±0,09*	0,53±0,08	2,53±0,05*	1,16±0,17	0,71±0,11*	0,34±0,11	0,25±0,02
A	1,29±0,07*	0,49±0,03	2,63±0,10*	1,08±0,06	0,69±0,04*	0,35±0,03*	0,27±0,04

Таблица 33. Содержание желтых пигментов (мг/г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся типом хлорофильного дефекта

Фено-тип	Содержание желтых пигментов						КДЭ
	Каротин	Лютеин	Виолаксантин	Зеаксантин + антраксантин	Неоксантин	Сумма ксантофиллов	
w-type	0,114±0,012	0,131±0,010	0,040±0,004	0,224±0,015	0,033±0,003	0,297±0,007	0,848±0,010
V	0,074±0,007*	0,104±0,009*	0,039±0,003	0,195±0,011*	0,027±0,003	0,257±0,004*	0,847±0,007
VN	0,094±0,012	0,131±0,010	0,042±0,004	0,248±0,015	0,033±0,004	0,323±0,009*	0,849±0,011
X	0,077±0,007*	0,099±0,008*	0,041±0,005	0,185±0,014*	0,035±0,004	0,261±0,008*	0,820±0,013*
XN	0,122±0,012	0,126±0,011	0,041±0,003	0,228±0,017	0,035±0,003	0,304±0,011	0,853±0,016
XV	0,095±0,012	0,112±0,013	0,036±0,004	0,199±0,019	0,029±0,004	0,264±0,013*	0,854±0,018
A	0,099±0,011	0,177±0,007*	0,046±0,004	0,231±0,017	0,043±0,004*	0,320±0,008*	0,834±0,008

Содержание зеленых пигментов (a , b , в ССК и в РЦ) у растений, характеризующихся быстрым восстановлением пигментации проростков к *w-type* через репопуляцию, выше относительно среднего по группе фенотипов, чем при реверсии. И, напротив, при медленных и реверсии, и репопуляции эти же показатели оказались одинаковыми. Соотношение зеленых пигментов (a/b) как у растений отдельных фенотипов, так и средних значений по группе фенотипов выше, чем у *w-type* при реверсии и репопуляции (быстрой и медленной) (табл. 34).

Количество желтых пигментов (среднее значение по группе фенотипов с тем или иным типом восстановления) у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью ниже уровня *w-type* или не отличалось от него. Так, количество каротина не отличается от *w-type* только при быстрой репопуляции и снижено (на 21–38%) при других типах восстановления: медленная репопуляция, быстрая и медленная реверсия (табл. 35).

Содержание лютеина зависит от скорости восстановления: при быстром оно достигает уровня *w-type*, а при медленном – ниже его (на 15–32%). Выявляется специфика механизмов восстановления: при быстром количество лютеина больше на 30–40% (при реверсии и репопуляции соответственно) и КДЭ выше на 10% по сравнению с медленным. При быстрой репопуляции выше количество каротина (в 1,5 раза), зеаксантина + антераксантина (в 1,4 раза) и сумма ксантофиллов (в 1,5 раза) по сравнению с медленной репопуляцией.

Следует отметить и фенотипические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью в содержании отдельных фракций каротиноидов. Так, у растений с фенотипами *viridis* и *xantha*, независимо от скорости и путей фенотипических превращений окраски растений при ресупрессии, снижено количество каротина, лютеина, зеаксантина + антераксантина и суммы ксантофиллов. Однако у ранних, восстанавливающихся до нормального фенотипа (VN и XN) при быстрой репопуляции, напротив, наблюдается количественный рост этих показателей (на 17–45%). Выявлена специфичность содержания отдельных фракций каротиноидов у растений с фенотипом *albina*, которые отличаются по ряду показателей от *viridis*- и *xantha*-фенотипов (табл. 35).

Таблица 34. Содержание и соотношение пигментов (мг/г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся механизмом восстановления восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Содержание и соотношение пигментов					
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a/b</i>	ССК	РЦ	<i>c/a</i>
<i>m-type</i>	1,14±0,05	0,49±0,01	2,33±0,07	1,13±0,08	0,55±0,04	0,29±0,01
	Быстрое восстановление (репопуляция) при 35 °С					
VN>N, VN>VN	1,30±0,06*	0,52±0,03	2,54±0,04*	1,14±0,07	0,69±0,03*	0,25±0,02*
XN>N	1,30±0,02*	0,52±0,02	2,53±0,06*	1,14±0,04	0,68±0,01*	0,22±0,02
XV>V, XV>VN	1,40±0,10*	0,52±0,05	2,79±0,08*	1,14±0,08	0,77±0,05*	0,23±0,03
Среднее по группе	1,33±0,06*	0,52±0,03	2,62±0,06*	1,14±0,06	0,710±0,003*	0,29±0,03
	Медленное восстановление (репопуляция) при 25 °С					
V>VN	1,32±0,08*	0,48±0,07	2,77±0,08*	1,06±0,05	0,74±0,07	0,36±0,01*
X>XN	1,20±0,07	0,44±0,06	2,73±0,09*	0,97±0,07*	0,67±0,04*	0,33±0,03
A>AV	1,31±0,09*	0,48±0,04	2,73±0,07*	1,06±0,08	0,74±0,06*	0,32±0,02
Среднее по группе	1,28±0,08*	0,47±0,06	2,74±0,08*	1,03±0,07	0,72±0,06*	0,34±0,02*
	Быстрое восстановление (реверсия) при 25 °С					
V>N	1,02±0,09	0,44±0,03*	2,35±0,14	0,96±0,06*	0,49±0,08	0,25±0,02*
X>N	1,08±0,05	0,43±0,02*	2,57±0,09*	0,99±0,04*	0,58±0,04	0,32±0,03
A>V	1,16±0,06	0,44±0,04	2,68±0,11*	0,97±0,09	0,64±0,02*	0,32±0,09
Среднее по группе	1,09±0,06	0,44±0,03*	2,53±0,11*	0,97±0,06*	0,57±0,05	0,30±0,05
	Медленное восстановление (реверсия) при 25 °С					
V>V	1,20±0,04	0,45±0,02*	2,69±0,10*	0,99±0,05*	0,66±0,03*	0,40±0,04*
X>X	1,11±0,08	0,43±0,03*	2,52±0,07*	0,96±0,07*	0,58±0,04	0,28±0,03
A>A	1,14±0,04	0,46±0,04	2,48±0,09	1,02±0,09	0,58±0,05	0,34±0,04
Среднее по группе	1,15±0,05	0,44±0,03*	2,56±0,09*	0,99±0,07*	0,61±0,04	0,34±0,04

Таблица 35. Содержание каротиноидов (мг/г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Содержание каротиноидов						Сумма ксантофиллов	КДЭ
	Каротин	Лютеин	Виолаксантин	Зеаксантин + антраксантин	Неоксантин			
<i>w-type</i>	0,114±0,012	0,131±0,010	0,040±0,004	0,224±0,015	0,033±0,003		0,297±0,007	0,848±0,010
Быстрое восстановление (репопуляция) при 35 °С								
VN>N	0,065±0,012*	0,109±0,010*	0,038±0,004	0,174±0,014*	0,028±0,004		0,240±0,007*	0,821±0,008*
VN>VN	0,123±0,011	0,152±0,010*	0,045±0,005	0,322±0,015*	0,037±0,004		0,404±0,011*	0,877±0,014*
XN>N	0,148±0,012*	0,139±0,010	0,045±0,003	0,257±0,015*	0,040±0,002*		0,342±0,010*	0,851±0,013
XN>VN, XV>V, XV>VN	0,095±0,012	0,112±0,013	0,036±0,004	0,199±0,019	0,029±0,004		0,264±0,013*	0,854±0,018
Среднее по группе	0,108±0,014	0,128±0,011	0,047±0,004	0,238±0,016	0,038±0,004		0,323±0,010*	0,857±0,013
Медленное восстановление (репопуляция) при 25 °С								
V>VN	0,068±0,005*	0,094±0,015*	0,033±0,006	0,176±0,011*	0,024±0,003*		0,233±0,006*	0,842±0,015
X>VN, X>XV, X>AV	0,073±0,005*	0,085±0,011*	0,040±0,007	0,160±0,013*	0,044±0,002*		0,244±0,007*	0,805±0,014*
Среднее по группе	0,071±0,005*	0,089±0,013*	0,037±0,007	0,168±0,012*	0,034±0,003		0,251±0,007*	0,823±0,015
Быстрое восстановление (реверсия) при 25 °С								
V>N	0,086±0,013*	0,110±0,005*	0,037±0,001	0,212±0,015	0,031±0,005		0,280±0,004*	0,851±0,003
X>N	0,077±0,011*	0,101±0,009*	0,042±0,003	0,182±0,015*	0,031±0,004		0,255±0,011*	0,813±0,015*
A>V	0,103±0,012	0,237±0,012*	0,050±0,004	0,253±0,020	0,028±0,002		0,331±0,008*	0,835±0,012
Среднее по группе	0,089±0,012*	0,149±0,009	0,039±0,003	0,215±0,016	0,030±0,004		0,285±0,007	0,845±0,010
Медленное восстановление (реверсия) при 25 °С								
V>V	0,068±0,004*	0,107±0,006*	0,046±0,003	0,198±0,007*	0,027±0,001*		0,271±0,003*	0,812±0,004*
X>X	0,082±0,006*	0,112±0,006*	0,040±0,005	0,213±0,014	0,030±0,002		0,301±0,006	0,842±0,010
A>A	0,095±0,011	0,116±0,003*	0,042±0,004	0,208±0,013	0,058±0,006*		0,308±0,008	0,832±0,004
Среднее по группе	0,082±0,007*	0,111±0,005*	0,043±0,004	0,206±0,011	0,038±0,003		0,293±0,006	0,828±0,006*

В современных физиологических и генетических исследованиях растений широко применяется техника, позволяющая изучать флюоресценцию хлорофилла, впервые предложенная (Kautsky et al., 1960) и развитая в дальнейшем (Quick, Horton, 1984). При этом исследования эффективности работы фотосинтетического аппарата и фотопротекторных свойств высших растений без данных по флюоресценции рассматриваются как неполные.

Эта тенденция в значительной степени основывается на доступности использования портативных флюориметров. Однако, несмотря на простоту измерений флюоресценции, интерпретация полученных данных остается достаточно сложной и в отдельных моментах дискуссионной (Horton, Bowyer, 1990; Krause, Weis, 1991; Govindjee, 1995).

Принцип, лежащий в основе анализа флюоресценции хлорофилла, основывается на том, что легкая энергия, поглощенная молекулами хлорофилла в листе, может использоваться в одном из трех процессов: а) фотосинтез (фотохимия), б) избыточно поглощенная энергия может быть рассеяна в виде тепла (тепловая диссипация) или в) может повторно испуститься как флюоресценция хлорофилла. Эти три процесса происходят на основе конкуренции: любое увеличение эффективности одного процесса приведет к уменьшению соответствующей доли двух других. Весь анализ включает некоторую форму нормализации различных вычисляемых параметров флюоресценции (Maxwell, Johnson, 2000).

В нашем исследовании были проанализированы растения с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающиеся механизмом восстановления пигментации при ресупрессии и выращенные в лабораторном и полевом экспериментах, на основе изучения следующих показателей: Fv/Fm – потенциал фотохимической эффективности (потенциальная квантовая эффективность) открытых центров фотосистемы II (отношение переменной к максимальной флюоресценции хлорофилла a); $Yield$ – эффективный (фактический) выход фотохимического превращения энергии; qP – фотохимическое и qN – нефотохимическое тушение флюоресценции хлорофилла a относительно некоторой адаптированной к темноте контрольной точки; NPQ – диссипация избыточно поглощенной энергии в виде тепла. Эти параметры успешно используются для оценки генотипических и фенотипических различий растений при изучении процессов фотозащиты и фотоингибирования (Maxwell, Johnson, 2000).

Потенциал фотохимической эффективности открытых центров фотосистемы II (Fv/Fm) достиг у растений *w-type* 0,74, что указывает на развитость фотосинтетического аппарата. Показатель Fv/Fm у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью (при умеренной инсоляции в условиях лабораторного эксперимента) и с медленной реверсией не отличается, а с медленной репопуляцией незначительно снижен относительно *w-type*. Эффективный выход фотохимического превращения энергии и показатель фотохимического тушения флюоресценции хлорофилла на 25% выше при медленной репопуляции, чем эти же показатели у растений *w-type*, нефотохимическое тушение флюоресценции хлорофилла (NPQ) в виде тепловой диссипации снижено на 15% (табл. 36).

Таблица 36. Эффективность работы фотосинтетического аппарата растений *Festuca pratensis*, различающихся механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Показатели эффективности работы фотосинтетического аппарата				
	Fv/Fm	$Yield$	qP	qN	NPQ
<i>w-type</i>	0,74±0,01	0,34±0,03	1,05±0,05	0,78±0,01	1,46±0,09
Медленная репопуляция	0,72±0,07*	0,42±0,02*	1,32±0,11*	0,78±0,01	1,26±0,07*
Медленная реверсия	0,73±0,06	0,39±0,04	1,06±0,10	0,77±0,05	1,36±0,09

Анализ световых кривых нетто-фотосинтеза листьев исследованных групп растений, различающихся механизмами восстановления пигментации при ресупрессии (быстрая и медленная репопуляция, быстрая и медленная реверсия), и *w-type* показали, что по мере увеличения освещенности (с 100 до 800 мкмоль $m^{-2} c^{-1}$ ФАР) интенсивность поглощения CO_2 возрастает с постепенным переходом на плато насыщения у растений всех групп (рис. 18–20).

Растения с быстрой репопуляцией и реверсией к зеленому фенотипу характеризовались большим по сравнению с растениями с медленной реверсией и репопуляцией, как и *w-type*, углом наклона прямолинейного участка световой кривой, отражающим высокую эффективность использования световой энергии в ходе фотосинтетической реакции. Максимальные значения фотосинтеза при насыщающей интенсивности света (500–800 мкмоль $m^{-2} c^{-1}$ ФАР) на 30% выше у растений с медленной репопуляцией по сравнению с медленной реверсией и *w-type*.

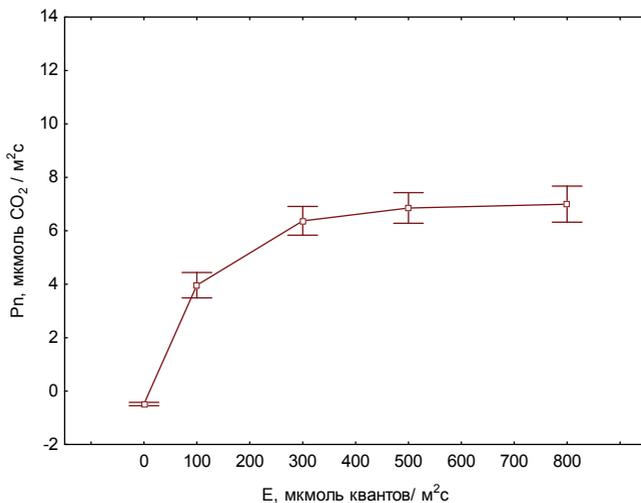


Рис. 18. Световые кривые нетто-фотосинтеза (интенсивность поглощения CO_2) у растений *Festuca pratensis* дикого типа (*w-type*)

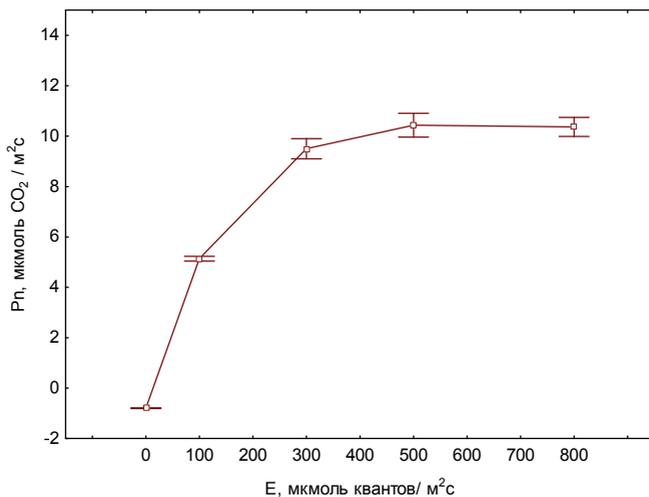


Рис. 19. Световые кривые нетто-фотосинтеза (интенсивность поглощения CO_2) у растений *Festuca pratensis* при медленной репопуляции при ресупрессии

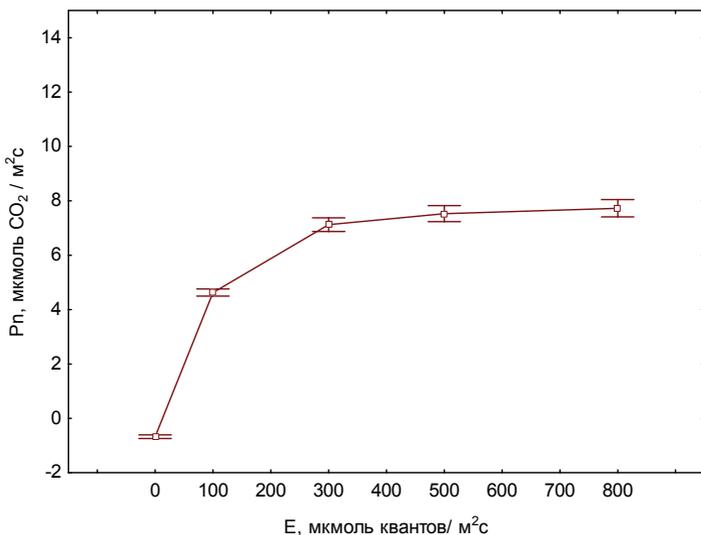


Рис. 20. Световые кривые нетто-фотосинтеза (интенсивность поглощения CO_2) у растений *Festuca pratensis* при медленной реверсии при ресупрессии

Таким образом, скорость нетто-фотосинтеза листьев растений с супрессированной хлорофиллдефектностью исследованных групп растений, различающихся механизмами восстановления пигментации, оказалась зависимой от механизма восстановления пигментации проростков при ресупрессии. Результаты, полученные в двух независимых экспериментах на одних и тех же растениях и характеризующие эффективность фотосинтеза по интенсивности поглощения CO_2 , полностью соответствуют показателям эффективного выхода фотохимического превращения энергии и фотохимического тушения хлорофилла *a*. Оценка эффективности работы фотосинтетического аппарата в полевом эксперименте (высокий уровень инсоляции) показала иные результаты (табл. 37).

Таблица 37. Эффективность работы фотосинтетического аппарата растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофилл-дефектностью, различающихся механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Показатели эффективности работы фотосинтетического аппарата				
	<i>Fv/Fm</i>	<i>Yield</i>	<i>qP</i>	<i>qN</i>	<i>NPQ</i>
<i>w-type</i>	0,732±0,030	0,418±0,050	1,21±0,12	0,79±0,08	1,43±0,23
Медленное восстановление (репопуляция) при 25 °С					
X>XN	0,775±0,030*	0,226±0,020*	1,39±0,09	0,91±0,02*	1,82±0,05*
A>AN	0,741±0,030*	0,303±0,050*	1,09±0,03	0,81±0,07	1,60±0,18
X>AV	0,710±0,030*	0,321±0,520*	1,65±0,17*	0,92±0,06	1,71±0,08
A>AV	0,679±0,040*	0,297±0,020*	1,86±0,14*	0,93±0,05	1,75±0,20
Среднее по группе	0,726±0,030	0,287±0,040*	1,50±0,08*	0,89±0,05	1,72±0,14
Быстрое восстановление (реверсия) при 25 °С					
X>N	0,776±0,020*	0,312±0,020*	0,88±0,07*	0,71±0,05	1,32±0,04
X>VN	0,755±0,040*	0,391±0,050	1,13±0,11	0,79±0,04	1,48±0,04
A>VN	0,727±0,020	0,328±0,010*	1,75±0,09*	0,85±0,05	1,78±0,21
Среднее по группе	0,753±0,030*	0,344±0,027	1,25±0,09	0,78±0,05	1,53±0,09
Медленное восстановление (реверсия) при 25 °С					
X>X	0,748±0,040*	0,397±0,052	1,24±0,12	0,81±0,07	1,59±0,15
X>VX	0,742±0,020*	0,369±0,050	1,29±0,09	0,84±0,09	2,00±0,04*
Среднее по группе	0,745±0,030*	0,383±0,051	1,27±0,11	0,83±0,08	1,80±0,09*

При реверсии (быстрой и медленной) незначительно увеличен показатель, характеризующий потенциал фотохимической эффективности открытых центров фотосистемы II (*Fv/Fm*), так же, как и у хлорофиллдефектных фенотипов, восстановление которых при ресупрессии проходило путем медленной репопуляции до фенотипической нормы (X>XN, A>AN). Показатель эффективного выхода фотохимического превращения энергии (*Yield*) (среднее значение по группе фенотипов) при медленной репопуляции понижен на 30%, а для отдельных фенотипов до 46%, причем снижение отмечено и для растений с быстрой реверсией (X>N, A>VN). При медленной репопуляции показатель фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a* (*qP*), напротив, увеличен на 25–53% как у отдельных фенотипов, так и у среднего значения по группе фенотипов. Показатели нефотохимического тушения флуоресцен-

ции хлорофилла *a* (qN) и нефотохимического тушения в виде тепловой диссипации (NPQ), которая на 75% осуществляется пигментами виолоксантинового цикла, для большинства растений с супрессированной хлорофиллдефектностью не отличаются от *w-type* или превышают его уровень ($X > XN$, $X > VX$). Эти процессы не связаны с определенными механизмами восстановления пигментации при ресупрессии. По ряду показателей электронного транспорта проявляется эффект хлорофиллдефектного фенотипа, выраженный в повышении (y $X > XN$, $X > VX$, $A > VN$) или снижении (y $A > VN$, $X > N$) значений относительно *w-type* (табл. 37). Результаты, полученные при высокой инсоляции (полевой эксперимент) и характеризующие эффективность работы фотосинтетического аппарата, не коррелируют с показателями, полученными при умеренной инсоляции (лабораторный эксперимент).

Полученные нами результаты и имеющиеся в литературе данные по генетическому контролю синтеза зеленых (Suzuki, Bauer, 1995; Reinbothe S., Reinbothe C., 1996; Suzuki et al., 1997, 2002; Beale, 1999; Suzuki, Shioi, 1999; Eckhardt et al., 2004) и желтых пигментов (Yamamoto et al., 1962; Demmig-Adams et al., 1990; Bouvier et al., 1996, 2000; Pogson et al., 1996; Bugos et al., 1998; Li et al., 2000; Lindgren, 2003; Kato et al., 2004) позволяют сформировать рабочую модель, отражающую особенности синтеза пигментов у растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью.

У части растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при ресупрессии включается репопуляционное восстановление пигментации проростков (при температуре 35 °C и 25 °C) до *w-type*, которое проявляется в комплексном эпистатическом действии двух генов – мутантного и супрессора. При этом обеспечивается не только повышенный уровень хлорофилла *a* в реакционных центрах фотосистемы II, но и хлорофилла *b* как по сравнению с растениями *w-type*, так и по сравнению с растениями с супрессированной хлорофиллдефектностью, восстановление пигментации у которых проходило путем реверсии. Можно предположить, что при репопуляционном восстановлении повышена активность фермента *хлорофиллид а оксигеназы* (CAO), контролирующего поздние стадии синтеза хлорофиллов *a* и *b* (рис. 21, 22). Процесс может происходить как через усиление экспрессии гена, так

и/или через регуляторные механизмы, к числу которых относится и эпистатическое действие мутантного гена и гена-супрессора. При этом обеспечивается синтез зеленых пигментов на уровне «фенотипической нормы» (*w-type*), а повышенный уровень хлорофилла *a* свидетельствует о развитии защитной реакции (адаптивного ответа). Репопуляционное восстановление, проявляющееся при умеренной освещенности, оценивается прежде всего эффективностью работы фотосинтетического аппарата (интенсивность фотосинтеза, эффективный выход фотохимического превращения энергии и фотохимическое тушение хлорофилла *a*), а также показателями роста и развития растений (табл. 38).

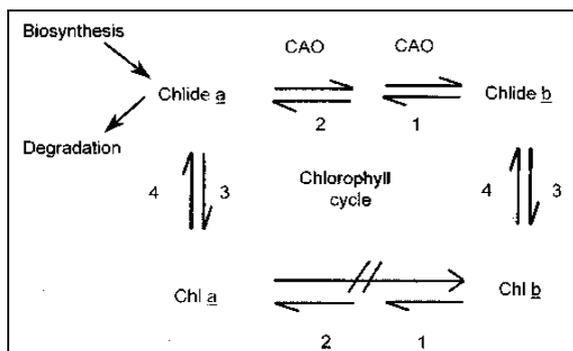


Рис. 21. Хлорофилловый цикл – пути взаимного превращения хлорофиллов *a* и *b* (Oster et al., 2000)

Такая картина свойственна не всем растениям с супрессированной хлорофиллдефектностью. У большей части растений при ресупрессии наблюдается реверсия (восстановление только при 25 °С) окраски проростков до фенотипической нормы (зеленая окраска проростка, внешне неотличимая от *w-type*) или до хлорофиллдефектного фенотипа с менее глубоким типом депигментации, например, X>V, A>V. У таких растений содержание хлорофилла *a* сохраняется на уровне «фенотипической нормы» (*w-type*), а хлорофилла *b*, выполняющего функции светособирающего и фотозащитного пигмента (Eggink et al., 2001), понижено, соответственно понижен и общий уровень зеленых пигментов в светособирающем антенном комплексе фотосистемы II. Можно предположить, что

низкий уровень хлорофилла *b* связан как со снижением экспрессии генов, контролирующих поздние стадии синтеза хлорофилла *b* (рис. 22), так и/или взаимным превращением хлорофиллов *a* и *b* в хлорофилловом цикле, в частности со снижением активности фермента *хлорофиллид а оксигеназы* (CAO) (рис. 21) (Folly, Engel, 1999; Masuda et al., 2002; Rudiger, 2002).

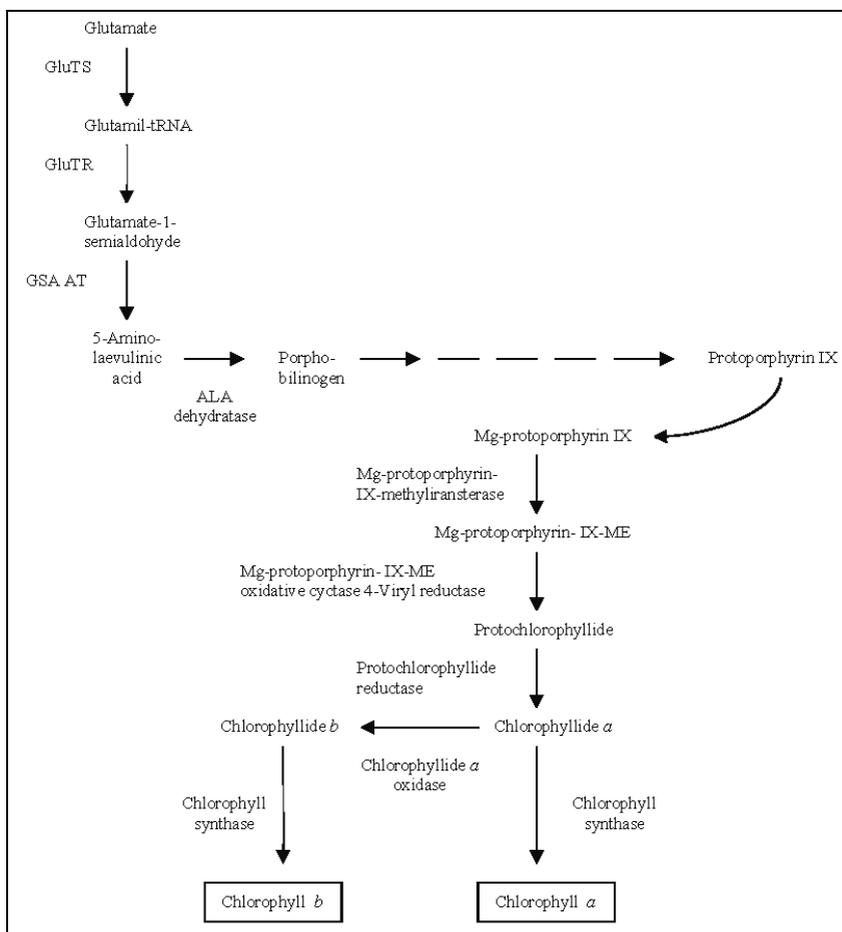


Рис. 22. Пути синтеза хлорофиллов *a* и *b* и ферментативный контроль (Cornah et al., 2003)

Таблица 38. Физиологические признаки у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью на разных этапах их онтогенеза

Признак	Пути фенотипических изменений окраски проростков при ресупрессии			
	быстрая репопуляция	медленная репопуляция	быстрая реверсия	медленная реверсия
Показатели физиологического состояния фотосинтетического аппарата в генеративную фазу развития растений				
<i>a</i>	>	>	=	=
<i>b</i>	=	=	<↓	<↓
<i>a/b</i>	>	>	>	>
ССК	=	=↓	<	<
РЦ	>	>	=↓	=↓
<i>c</i>	=↓	>↓	=↓	=↓
<i>c/a</i>	=↓	=	=	=↓
Каротин	=↓	<	<↓	<↓
Лютеин	=↓	<	=↓	<↓
Виолаксантин	=	=	=	=
Зеаксантин + Антраксантин	=↓	<	=↓	=↓
Неоксантин	=↓	=↓	=	=↓
Сумма ксантофиллов	>↓	<	=↓	=↓
КДЭ	=↓	=↓	=↓	<↓
<i>Fv/Fm</i>	-	=↓	>↓	>↓
<i>Yield</i>	-	<	=↓	=
<i>qP</i>	-	>↓	=↓	=
<i>qN</i>	-	=↓	=	=
<i>NPQ</i>	-	=↓	=	>↓
Показатели физиологического состояния фотосинтетического аппарата в вегетативную фазу развития растений				
Нетто-фотосинтез (по интенсивности поглощения CO ₂)	-	>	-	=
<i>Fv/Fm</i>	-	<	-	=
<i>Yield</i>	-	>	-	=
<i>qP</i>	-	>	-	=
<i>qN</i>	-	=	-	=
<i>NPQ</i>	-	<	-	=

Примечание. Значения признаков у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью:

= не отличаются, > превышают, < ниже, чем у растений *w-type*,

↓ – выражен эффект хлорофиллдефектного фенотипа.

Мутанты, характеризующиеся снижением уровня хлорофилла *b*, вызванного низким уровнем экспрессии CAO, обнаружены у некоторых видов высших растений (Greene et al., 1988; Knoetzel, Simpson, 1991; Król et al., 1995; Falbel, Staehelin, 1996; Montané et al., 1998; Tanaka et al., 1998; Espineda et al., 1999; Mochizuki et al., 2001; Larkin et al., 2003).

Мутантный ген, даже под прикрытием гена-супрессора, существенно затрагивает пути превращения каротиноидов. Пониженный уровень каротинов и лютеина почти при всех типах восстановления (при медленной репопуляции, медленной и быстрой реверсии) может свидетельствовать, что у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью понижена экспрессия генов, контролирующих синтез отдельных или ряда ферментов *Lycopene β -Cyclase* (LCY-b), *Lycopene ϵ -Cyclase* (LCY-e), *β -Carotene Hydroxylase* (BCH), *ϵ -Carotene Hydroxylase* (ECH), которые закодированы ядерными генами, а трансляция их осуществляется в хлоропластах (Bartley, Scolnik, 1995). Упрощенная схема биосинтеза каротиноидов представлена на рис. 23.

Эти же ферменты участвуют и в синтезе пигментов ксантофиллового цикла: зеаксантина и антраксантина, уровень которых также понижен у отдельных фенотипических групп растений (медленная репопуляция). Действие мутантного гена у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, как представляется, не сказывается на активности *Zeaxanthin Epoxidase* (ZEP) – содержание виолоксантина на уровне растений дикого типа, и отсутствует зависимость от хлорофиллдефектного фенотипа. Незначительно влияние мутантного гена и на активность *Violaxanthin De-epoxidase* (VDE), при этом нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла *a* (NPQ) при высокой инсоляции находится на уровне растений дикого типа. Снижена активность и *Neoxanthin Synthase* (NXS) – средние значения содержания неоксантина по типам восстановления не отличаются от растений *w-type*, у отдельных фенотипов наблюдается снижение ($V > V$, $V > VN$) или повышение ($XN > N$, $X > VN$, $X > XV$, $X > AV$, $A > A$) уровня неоксантина (табл. 35). Отчетливо видно, что направление изменений обусловлено степенью хлорофиллдефектности растений.

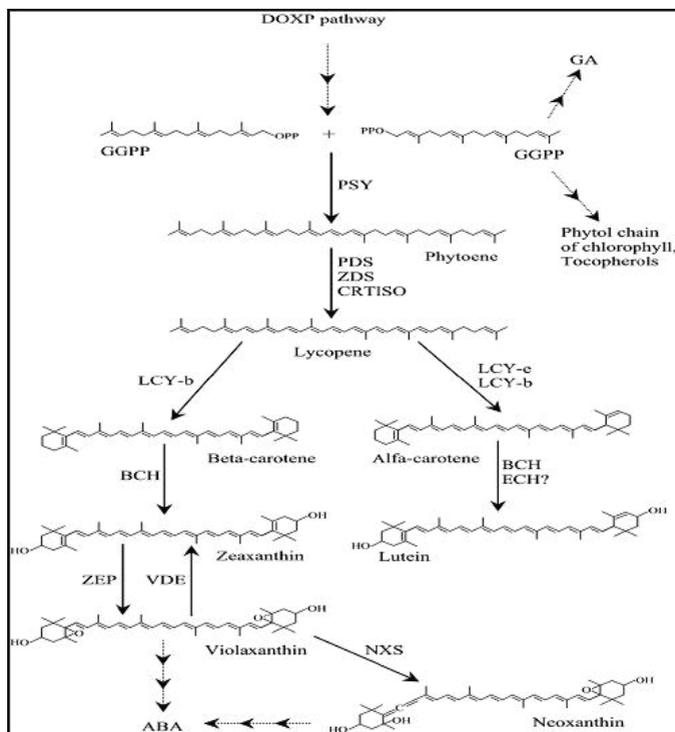


Рис. 23. Пути катаболизма каротиноидов. Ферменты, обслуживающие отдельные этапы синтеза: *1-deoxy-Dxylulose-5-phosphate pathway* (DOXP), *Geranylgeranyl Pyrophosphate* (GGPP), *Phytoene Synthase* (PSY), *Phytoene Desaturase* (PDS), *Zeta-Carotene Desaturase* (ZDS), *Carotene Isomerase* (CRTISO), *Lycopene β -Cyclase* (LCY-b), *Lycopene ϵ -Cyclase* (LCY-e), *β -Carotene Hydroxylase* (BCH), *ϵ -Carotene Hydroxylase* (ECH), *Zeaxanthin Epoxidase* (ZEP), *Violaxanthin De-epoxidase* (VDE), *Neoxanthin Synthase* (NXS), *Abscisic Acid* (ABA) (Bartley, Scolnik, 1995)

Таким образом, температурозависимая хлорофиллдефектность растений *F. pratensis* сопровождается структурными изменениями хлоропластов и митохондрий, затрагивает пути синтеза вспомогательных светособирающих и фотозащитных зеленых (хлорофилла *b*) и желтых (каротинов, лютеина и ксантофиллов) пигментов, снижая уровень их фенотипического выражения. При реверсии (быстрой и медленной) незначительно увеличен показатель, характери-

зующий потенциал фотохимической эффективности открытых центров фотосистемы II. При медленной репопуляции показатель фотохимического тушения (qP) флуоресценции хлорофилла a увеличен, а показатели нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла a (qN) и нефотохимического тушения в виде тепловой диссипации (NPQ) для большинства растений с супрессированной хлорофиллдефектностью не отличаются от w -type или превышают его уровень. С определенными механизмами восстановления при ресупрессии эти изменения не связаны. По ряду показателей электронного транспорта проявляется эффект хлорофиллдефектного фенотипа, выраженный в повышении или снижении значений относительно w -type. Ген-супрессор лишь частично подавляет действие мутантного гена, что отражается, как это будет показано в следующей главе, на уровне приспособленности и ее компонентах – выживаемости и репродуктивной способности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью. Механизмы восстановления пигментации при ресупрессии являются важным элементом феноменологии супрессированной хлорофиллдефектности.

2.3.4. Жизнеспособность, плодовитость и выживаемость растений с супрессированной хлорофиллдефектностью

У живых организмов мутационный процесс может охватывать различные признаки и свойства. К числу биологически существенных признаков относят, прежде всего, жизнеспособность мутантных особей, часто рассматриваемую как относительную жизнеспособность по сравнению с диким типом или исходной «нормальной» формой (Тимофеев-Ресовский и др., 1977). У растений к признакам, характеризующим жизнеспособность на разных этапах онтогенеза, можно отнести фертильность пыльцы, морфофизиологические признаки зерновки (всхожесть и энергия прорастания семян), активность роста проростков, частоту растений, достигших репродуктивного развития, продолжительность жизни, плодовитость или репродуктивную способность. На изменчивость этих признаков могут оказывать влияние как внутренние факторы: продолжительность отдельных стадий жизненного цикла (онтогенеза), разная скорость развития растений, так и условия их культивирования и др. (Хедрик, 2003).

В генетике популяций особое внимание уделяется также выживаемости особей на разных этапах онтогенетического развития, которые легко поддаются оценке и моделированию. Жизнеспособность, выживаемость и плодовитость являются важнейшими компонентами приспособленности популяций и действия отбора как в пределах поколения (на разных этапах онтогенеза), так и в ряду поколений.

Достаточно широкий набор используемых в настоящем исследовании признаков позволяет не только оценить различные компоненты приспособленности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью на разных этапах онтогенеза и действие отбора, но и дифференцировать растения с различными фенотипическими выражениями хлорофильного дефекта при ресупрессии.

Фертильность пыльцы как критерий оценки состояния и изменчивости растений, характеризующихся различной степенью выживаемости, используется в качестве теста на жизнеспособность в генетических и селекционных исследованиях с мутантными, гибридными и трансгенными растениями (Николаевская, 1997; Freeling, 1981; Georgiew, 1981; Nilan et al., 1981; Luna et al., 2001; Westgate et al., 2003; Wang et al., 2004). Жизнеспособность пыльцы (микрогаметофита) в настоящей работе использована с целью оценки состояния и уровня изменчивости жизнеспособности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся генетическими особенностями: степенью хлорофильного дефекта при десупрессии и характером восстановления пигментации при ресупрессии.

Фертильность пыльцы у растений, маркированных по характеру хлорофильного дефекта в ювенильной фазе развития и наблюдаемых в полевых условиях на протяжении одного поколения в течение 6 вегетационных сезонов, зависела как от фенотипических особенностей, так и условий роста и развития (рис. 24).

У большинства фенотипических групп растений, объединяющих варианты с тем или иным типом депигментации, фертильность пыльцы не отличалась от ее уровня у дикого типа (табл. 39). Пыльца, менее жизнеспособная, чем у растений *w-type*, отмечена у растений с фенотипами *albina* (A) и *virido-norma* (VN) на протяжении почти всех вегетационных сезонов, так же, как и у XN- и VX-фенотипов в первые два года жизни. Значения фертильности пыльцы у этих растений в последующие годы увеличились и достигли уров-

ня *w-type*, что говорит о возможностях растений с супрессированной хлорофиллдефектностью поддерживать высокий уровень фертильности пыльцы в изменяющихся средовых условиях ее формирования. Наибольшая стабильность признака на протяжении шести лет жизни присуща растениям *w-type* и растениям с фенотипами *viridis* (V), *virido-xantha* (VX), *xantha* (X) и *xantha-viridis* (XV).

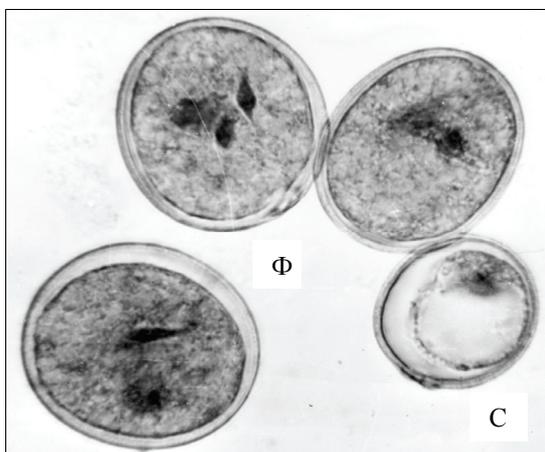


Рис. 24. Пыльцевые зерна *Festuca pratensis*:
Ф – фертильные, С – стерильные

Таблица 39. Фертильность пыльцы (%) у растений *Festuca pratensis*, различающихся характером хлорофильного дефекта, на протяжении шести лет культивирования

Фенотип	Длительность культивирования (годы)					
	первый	второй	третий	четвертый	пятый	шестой
<i>w-type</i> (N)	85,9±1,9	82,4±1,6	89,7±1,3	88,3±1,2	89,0±0,8	87,1±1,6
V	88,6±1,5	80,7±2,7	90,3±1,7	91,6±1,2	91,9±1,0	89,7±0,9
VN	88,3±1,4	59,4±5,7***	70,1±3,3***	82,0±1,5**	81,1±1,4***	77,3±2,1**
VX	79,8±2,4*	81,7±2,1	90,9±0,9	88,4±1,0	90,3±0,8	87,7±1,3
X	84,9±1,2	78,0±2,2	88,8±1,9	87,1±0,9	89,9±0,8	88,1±1,0
XN	71,4±3,7***	76,8±1,6*	86,8±0,8	88,4±1,3	90,5±0,7	90,7±0,9*
XV	90,5±1,7	88,4±1,6	91,2±1,5	86,2±1,6	90,6±1,7	8,4±2,5
A	85,1±1,9	66,3±1,6***	88,1±1,2	79,9±1,6**	77,0±2,1***	74,6±3,3**

Примечание. Здесь и далее в табл. 40–42, 44, 45, 49–52, 54–59 различия значений признаков между *w-type* и хлорофиллдефектными фенотипами значимы при * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

При анализе жизнеспособности пыльцы у растений с различными скоростью и типом восстановления пигментации при ресупрессии выявлены следующие особенности: среднее значение признака по группе фенотипов было ниже (на 5–12%) при быстром (репопуляция при 35 °С и реверсия при 25 °С) восстановлении пигментации проростков. В случае медленной реверсии показатель был незначительно выше (на 5%), а при медленной репопуляции не отличался от *w-type*. Эффект сохранялся только при репопуляции (быстрой и медленной) на протяжении двух генеративных циклов (табл. 40).

Таблица 40. **Фертильность пыльцы (%) у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии**

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i> (N)	88,19±1,22		89,71±1,25	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)				
VN>N	70,17±1,76*	79,5	57,00±4,79*	63,6
VN>VN	91,18±0,93*	103,4	83,20±1,68*	92,8
XN>N	87,90±1,42	99,7	82,12±1,21*	91,6
XV>V	91,20±1,56	103,4	87,29±1,17	97,3
XV>VN	79,26±2,22*	89,9	82,66±3,76*	92,2
Среднее по группе	83,94±1,58*	95,2	78,45±3,48*	87,5
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VN	81,69±1,75*	92,6	84,93±1,36*	94,7
V>XN	91,84±0,08*	104,1	92,61±1,93	103,2
V>AN	92,31±1,79*	104,7	92,78±1,84	103,4
X>XN	81,83±1,75*	92,8	78,64±1,50*	87,7
X>XV	92,98±0,52*	105,4	92,61±2,09	103,2
XV>AV	97,05±0,31*	110,0	95,24±1,87*	106,2
A>AV	90,81±0,64*	102,2	96,01±0,51*	107,0
A>VN	90,74±0,54*	102,9	95,32±0,31*	106,3
A>XN	88,37±0,87	100,2	88,40±0,51	98,56
Среднее по группе	89,74±1,03	101,7	90,73±1,32	101,1

Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	95,19±0,67*	107,9	92,28±1,21*	102,9
VX>V	85,09±0,94	96,5	90,15±0,87	100,5
VX>NV	95,81±0,25*	108,6	96,06±0,33*	107,1
X>N	82,57±0,87*	93,62	85,53±1,34*	96,2
VX>N	62,08±2,69*	70,4	90,15±0,87	100,5
X>V	84,68±0,76*	96,0	90,59±1,31	101,0
X>VN	84,47±1,39*	95,8	90,01±1,75	100,4
A>V	90,97±1,37	103,1	91,58±0,43	102,1
Среднее по группе	85,11±1,12*	96,5	90,79±1,01	101,3
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
NV>NV	94,46±0,83*	107,1	92,53±0,50*	103,2
V>V	93,57±0,88*	106,1	93,89±1,74*	104,7
VX>XV	92,18±0,26*	104,5	90,43±1,20	100,8
VX>VA	91,97±0,99*	104,3	88,12±1,10	98,2
V>VX	94,85±0,56*	107,5	93,54±1,80*	104,3
VX>VX	92,99±1,35*	105,4	91,93±1,70	102,5
X>X	90,37±0,97*	102,5	90,44±0,67	100,8
X>VX	91,49±0,78*	103,7	92,38±0,75*	103,0
A>A	70,35±2,09*	79,8	54,37±2,82*	60,6
A>XA	93,86±0,55*	106,4	93,97±0,71*	104,8
Среднее по группе	92,86±0,80*	105,3	88,16±1,37	98,3

Выявляются и некоторые особенности для отдельных групп фенотипов. Так, у растений с фенотипами *viridis* (V>N, VX>NV, NV>NV, V>V, V>VX) при реверсии (быстрой и медленной при 25 °С) уровень фертильности пыльцы оставался высоким и стабильным в течение двух лет наблюдений, а с фенотипами *viridis* (VN>N, V>VN) был низким при репопуляции до нормы (быстрой при 35 °С и медленной при 25 °С). Растения с фенотипами *xantha* (X>X, X>VX, X>XV, XV>AV) формировали более жизнеспособную пыльцу при медленном восстановлении (реверсия и репопуляция при 25 °С). *Albina*-фенотипы (A>V, A>XA, A>AV, A>VN) имели жизнеспособную пыльцу при разных механизмах и скорости восстановления окраски листа проростков и только при медленной реверсии наблюдали снижение показателя на 20%.

Таким образом, использованный экспериментальный подход позволил выявить у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью зависимость формирования признака от степени хлорофильного дефекта и особенностей восстановления пигментации при ресупрессии. Растения с супрессированной хлорофиллдефектностью используют различные стратегии (механизмы), направленные на поддержание жизнеспособности на данном этапе развития. У растений с фенотипами *virido-xantha*- и *albina* при всех типах восстановления выражен эффект депигментации, т. е. несмотря на супрессию прослеживается действие мутантного гена. Быстрое восстановление (репопуляция, реверсия) ведет к снижению жизнеспособности пыльцы по сравнению с *w-type*, а медленная реверсия – к повышению ее по сравнению как с *w-type*, так и быстрым восстановлением.

Энергия прорастания семян у большинства фенотипических групп растений, различающихся хлорофильным дефектом, характеризовалась более низкими (на 10–15%) значениями признака по сравнению с диким типом на протяжении двух лет наблюдений, тогда как между отдельными мутантными фенотипами различий не выявлено (табл. 41).

Таблица 41. Энергия прорастания семян (%) у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	90,8±1,7		72,5±5,9	
V	77,3±3,8*	85,1	81,5±2,2*	112,4
VX	79,4±2,7*	87,4	77,6±4,2	107,0
X	81,4±3,2*	89,7	77,8±2,2	107,3
A	77,0±4,9*	84,8	81,9±3,2*	113,0

У растений, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации, отличия по энергии прорастания семян оказались значимыми (табл. 42). При всех типах восстановления (среднее значение по группе фенотипов) энергия прорастания семян ниже на 10–23%, чем у *w-type* (3-й год жизни). При медленной реверсии значение признака выше, чем при быстрой реверсии (14%) и медлен-

ной репопуляции (на 6%). У растений с супрессированной хлорофиллдефектностью выявлены и фенотипические особенности формирования признака. Энергия прорастания семян у растений с фенотипом *viridis* при реверсии (быстрое и медленное восстановление пигментации при 25 °С) была ниже на 12–45%, а при репопуляции (медленное восстановление при 25 °С) не отличалась от *w-type* (3-й год жизни) или даже превышала его значение (4-й год жизни).

Таблица 42. Энергия прорастания семян (%) у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	90,8±1,7		72,5±5,9	
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VX	90,0±2,5	99,1	86,0±2,9*	118,62
X>AV	58,0±6,8*	63,9	69,8±1,4	96,3
A>AN	83,0±4,3*	91,4	83,3±3,0*	114,9
Среднее по группе	77,0±4,5*	84,8	79,7±2,4	109,9
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	50,0±7,3*	55,1	64,0±2,5*	88,3
X>N	81,3±3,8*	89,5	87,5± 2,2*	120,7
A>V	83,0±3,5*	91,4	80,5±1,9*	110,0
Среднее по группе	71,4±4,9*	78,7	77,3±2,2	106,3
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
VX>V	67,0±3,5*	73,8	50,8±6,9*	70,1
VX>VX	91,8±2,0	101,1	82,8±2,6*	114,2
X>V	92,3±0,6	101,7	82,0± 4,7	113,1
X>X	94,0±1,7	103,5	94,8±1,0*	130,8
A>A	65,0±7,1*	71,6	59,8±4,3*	82,5
Среднее по группе	82,0±3,0*	90,3	74,04±3,90	102,1

У растений с фенотипом *xantha* (X>N, VX>VX, X>V, X>X) при реверсии (быстрое и медленное восстановление при 25 °С) энергия прорастания семян не отличалась от *w-type* и значительно (на 25–

30%) превышала фенотип *viridis*. Растения с фенотипом *albina* (A>A) показали более низкое значение признака по сравнению с *w-type*, а при медленной реверсии на 20–30% ниже, чем при *xantha* и *viridis*. Существенное колебание значения признака «энергии прорастания семян» (до 18%) в течение двух лет наблюдений установлено только для растений *w-type*.

Двухфакторный дисперсионный анализ влияния хлорофиллдефектности (специфический генетический фактор) и условий роста и развития растений (неспецифический негенетический фактор) на характер формирования энергии прорастания семян показал, что оба фактора и эффект их взаимодействия являются значимыми.

Доля влияния неспецифического негенетического фактора и взаимодействия факторов составила 30% (табл. 43).

Таблица 43. Двухфакторный дисперсионный анализ энергии прорастания семян у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью

Источник изменчивости признака (фактор)	Сумма квадратов отклонений	Число степеней свободы	Дисперсия	Критерий Фишера		Доля влияния фактора (%)
				F (эмп.)	F (табл.)	
Хлорофиллдефектность	14425,67	12	1202,14	12,62	1,84	21,4
Условия роста и развития	21460,42	2	10730,2	112,63	3,07	31,93
Взаимодействие факторов	20178,91	24	840,8	8,82	1,61	30,02
Остаточное	11147,00	117	95,3			16,58
Общее	67212,00	155				

Таким образом, показатель «энергия прорастания семян» позволяет дифференцировать растения с супрессированной хлорофиллдефектностью по их жизнеспособности в зависимости от скорости восстановления пигментации. Большинство фенотипических групп растений в условиях ресупрессии характеризовалось снижением жизнеспособности (энергии прорастания семян) относительно *w-type*, а изменчивость признака определялась эффектом взаимодействия генетического и средовых факторов.

Всхожесть семян у всех фенотипических групп растений, различающихся хлорофильным дефектом, характеризовалась сходными значениями (табл. 44). Она была снижена относительно дикого типа только у растений с фенотипом *albina*. В течение двух лет наблюдений этот признак изменялся незначительно.

Таблица 44. **Всхожесть семян (%) у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом**

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	96,5±0,5		90,0±0,6	
V	96,5±0,8	100,0	92,4±1,9	102,7
VX	95,2±1,2	98,6	84,4±3,2*	93,8
X	95,8±0,9	99,3	90,5±1,3	100,6
A	93,5±0,6*	96,9	89,3±2,0	99,2

Анализ всхожести семян у растений, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии, выявил существенные фенотипические особенности экспрессии признака (табл. 45). Так, при быстрой репопуляции наблюдается снижение всхожести семян на 5–18% (как для каждого фенотипа, так и среднего значения по группе фенотипов). Повышенный уровень всхожести имели растения с фенотипами *viridis* (V>VX и VX>VX) при медленной репопуляции и реверсии, и растения с фенотипами *xantha* (X>N, X>X) при быстрой и медленной реверсии по сравнению с диким типом. У растений с фенотипами *viridis* (V>N, VX>V) и *albina* (A>, A>A) при быстрой и медленной реверсии этот показатель был ниже или не отличался от дикого типа при медленной репопуляции (A>AN).

Двухфакторный дисперсионный анализ влияния хлорофиллдефектности (специфический генетический фактор) и условий роста и развития растений (неспецифический негенетический фактор) на характер формирования всхожести семян показал, что оба фактора и эффект их взаимодействия являются значимыми. Влияние последнего фактора оказалось наиболее существенным и составило 33% (табл. 46).

Таблица 45. Всхожесть семян (%) у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	96,5±0,5		90,0±0,6	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)				
VN>N, VN>VN	90,5±4,7*	93,8	–	–
XN>N	91,9±3,4*	95,2	–	–
XV>VN	79,1±1,5*	82,0	–	–
Среднее по группе	87,2±3,2*	90,3	–	–
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VX	97,8±0,5*	101,4	93,8±2,2*	104,2
X>AV	89,8±1,5*	93,1	82,5±2,4*	91,7
A>AN	96,0±0,4	99,5	93,3±2,1*	103,8
Среднее по группе	94,5±0,8	98,0	89,87±2,20	99,8
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	94,0±1,5*	97,4	89,8±1,3	99,8
X>N	98,3±0,9*	101,9	94,3±1,1*	104,8
A>V	94,3±0,9*	97,7	83,8±1,7*	93,1
Среднее по группе	95,5±1,1	99,0	92,6±1,4	99,2
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
VX>V	91,8±1,7*	95,1	81,3±3,8*	90,3
VX>VX	98,5±0,6*	102,1	87,5±2,7	97,2
X>V	96,8±0,8	100,3	88,3±0,8	98,1
X>X	98,3±0,3*	101,9	97,0±0,9*	107,8
A>A	90,3±0,5*	93,6	90,8±2,4	100,9
Среднее по группе	95,1±0,8	98,6	89,0±2,1	98,9

Таким образом, всхожесть семян, являясь одним из важнейших компонентов выживаемости и приспособленности, у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью зависит как от генетических особенностей хлорофиллдефектных растений, так и от механизма восстановления пигментации при ресупрессии, и сохраняется на достаточно высоком уровне.

Активность прорастания (частота проростков различного размера) изучалась у растений *F. pratensis* третьего года жизни.

Таблица 46. Двухфакторный дисперсионный анализ всхожести семян у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью

Источник изменчивости признака (фактор)	Сумма квадратов отклонений	Число степеней свободы	Дисперсия	Критерий Фишера		Доля влияния фактора (%)
				F (эмп.)	F (табл.)	
Хлорофиллдефектность	1067,41	12	88,95	7,46	1,84	22,05
Условия роста и развития	750,81	2	375,40	31,47	3,07	15,51
Взаимодействие факторов	1626,36	24	67,76	5,68	1,61	33,60
Остаточное	1395,50	117	11,93			28,83
Общее	4840,08	155				

Частота потенциально летальных проростков (ПЛП), выживших проростков (размер > 2 см), проростков с задержкой прорастания (размер < 2 см) и активно растущих проростков (размер > 4 см) у фенотипических групп растений, различающихся хлорофильным дефектом, сохраняется на уровне *w-type* (табл. 47, 48).

Таблица 47. Частота потенциально летальных и выживших проростков у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом

Фенотип	Частота проростков (в долях)			
	ПЛП		размер > 2 см	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	0,08±0,01		0,86±0,06	
V	0,06±0,01	100,0	0,89±0,02	102,7
VX	0,07±0,01	98,6	0,88±0,04	93,8
X	0,06±0,01	99,3	0,90±0,01	100,6
A	0,07±0,02	96,9	0,88±0,03	99,2

Примечание. Здесь и в табл. 48–50 частота проростков выражена в долях.

Выявлены различия между растениями с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии, и диким типом. Оказалось, что снижены (на 50–60%) два показателя активно-

сти роста проростков: частота потенциально летальных и частота проростков с задержкой прорастания (размер < 2 см) при быстрой реверсии. Частота выживших проростков (размер > 2 см) сохранялась на уровне *w-type* (табл. 49, 50).

Таблица 48. **Частота проростков с задержкой прорастания и активно растущих проростков у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом**

Фенотип	Частота проростков			
	размер < 2 см		размер > 4 см	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	0,06±0,01		0,37±0,03	
V	0,06±0,01	100,0	0,42±0,04	102,7
VX	0,05±0,01	98,6	0,32±0,04	93,8
X	0,07±0,01	99,3	0,42±0,03	100,6
A	0,07±0,02	96,9	0,34±0,03	99,2

При быстрой репопуляции у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью снижена и частота проростков размером < 2 см, но увеличена (на 30%) частота активно растущих проростков (размер > 4 см) относительно *w-type*. Выявленные изменения в частотах фракций проростков могут быть связаны с действием гена-супрессора, вызывающего развитие процессов, направленных на пролиферативную активность при этом типе восстановления пигментации.

Полученные результаты позволяют предположить, что элиминация из популяции проростков с потенциальными повреждениями и повышение уровня пролиферации клеток ведут к увеличению частот выживших и активно растущих проростков. Этот процесс связан с реализацией определенного пути восстановления пигментации проростков при ресупрессии.

Масса 1000 семян – один из признаков, характеризующий адаптивные свойства растений. Они выражаются в различной скорости прорастания семян, отличающихся по массе (накопленных пластических веществ и энергоносителей), при тех или иных условиях внешней среды (температура, влажность, освещенность и др.) (Купцов, 1971).

Таблица 49. Частота потенциально летальных и выживших проростков у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Частота проростков			
	ПЛП		размер > 2 см	
	X±s _x	Относительно w-type	X±s _x	Относительно w-type
w-type	0,08±0,01		0,86±0,06	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)				
VN>N, VN>VN	0,08±0,02	100,0	0,89±0,05	103,5
XN>N	0,05±0,01*	62,5	0,92±0,04	107,0
XV>VN	0,17±0,03*	212,5	0,82±0,07	95,3
Среднее по группе	0,10±0,01	125,0	0,88±0,05	101,9
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VX	0,05±0,01*	62,5	0,88±0,06	102,3
X>XV	0,07±0,02	87,5	0,87±0,03	101,1
X>AV	0,10±0,02	125,0	0,83±0,05	96,5
Среднее по группе	0,07±0,02	91,7	0,86±0,05	100,0
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	0,05±0,01*	62,5	0,91±0,03	105,8
X>N	0,05±0,01*	62,5	0,93±0,02	108,1
A>V	0,04±0,01*	50,0	0,95±0,02*	110,5
Среднее по группе	0,05±0,01*	58,3	0,93±0,02	108,1
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>V	0,06±0,01	75,0	0,88±0,04	102,3
VX>VX	0,07±0,02	87,5	0,88±0,03	102,3
X>V	0,07±0,03	87,5	0,84±0,04	97,7
X>X	0,06±0,02	75,0	0,89±0,03	103,5
X>VN	0,04±0,01*	50,0	0,94±0,04	109,3
A>A	0,12±0,04	150,0	0,78±0,05	90,7
Среднее по группе	0,07±0,02	87,5	0,87±0,04	101,0

Растения с хлорофиллдефектными фенотипами (V, VX, X, A) формировали более тяжелые семена, чем растения дикого типа, и между собой не отличались (табл. 51). Изучение формирования признака в течение двух лет наблюдений, отличающихся возрастом растений и погодными условиями, влияющими на формирование семян, показало снижение массы 1000 семян во всех феноти-

пических группах. Относительно дикого типа значение признака тем не менее не изменилось: размах значений составил от 1 до 10% (V, X), как и в предыдущий год наблюдений.

Таблица 50. Частота проростков с задержкой прорастания и активно растущих проростков у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Частота проростков (в долях)			
	размер < 2 см		размер > 4 см	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w</i> -type	$X \pm s_x$	Относительно <i>w</i> -type
<i>w</i> -type	0,06±0,01		0,37±0,03	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)				
VN>N, VN>VN	0,03±0,01*	50,0	0,50±0,07*	135,1
XN>N	0,02±0,01*	33,3	0,51±0,04*	137,8
XV>VN	0,03±0,01*	50,0	0,39±0,04	105,4
Среднее по группе	0,03±0,01*	44,4	0,47±0,05*	126,1
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VN	0,05±0,01	83,3	0,42±0,06	113,5
X>XV	0,06±0,01	100,0	0,39±0,03	105,4
X>AV	0,07±0,01	116,7	0,33±0,06	89,2
A>AN, A>AV	0,04±0,01	66,7	0,31±0,06	83,8
Среднее по группе	0,05±0,01	91,7	0,36±0,05	98,0
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	0,03±0,01*	50,0	0,41±0,03	99,8
X>N	0,03±0,01*	50,0	0,43±0,05	104,8
A>V	0,03±0,01*	50,0	0,38±0,04	93,1
Среднее по группе	0,03±0,01*	50,0	0,41±0,04	99,2
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>V	0,06±0,01	100,0	0,32±0,04	86,5
VX>VX	0,05±0,01	83,3	0,32±0,07	86,5
X>V	0,07±0,01	116,7	0,37±0,06	100
X>X	0,06±0,01	100,0	0,39±0,07	105,4
X>VN	0,03±0,01*	50,0	0,59±0,07*	159,5
A>A	0,10±0,01*	166,7	0,28±0,03*	75,7
Среднее по группе	0,06±0,01	102,8	0,37±0,06	102,3

Таблица 51. Масса 1000 семян (г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	1,94±0,03		1,77±0,03	
V	2,04±0,02*	105,2	1,95±0,02*	110,2
VX	2,04±0,04*	105,2	1,79±0,03	101,1
X	2,07±0,04*	106,7	1,84±0,03*	104,0
A	2,02±0,03*	104,1	1,81±0,04	102,3

Масса 1000 семян у большинства растений, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии, либо соответствовала значению признака у *w-type*, либо превышала его. Среднее значение признака по группе фенотипов в течение двух лет наблюдений было выше при репопуляции (быстрой и медленной) и при реверсии (быстрой и медленной) у растений четвертого года жизни. Растения-ревертанты формировали более крупные семена с фенотипом *viridis* (VN>N, V>VN) при быстрой и медленной репопуляции, *xantha* (XN>N, XV>V, XV>VN, X>N) – при быстром восстановлении (репопуляции и реверсии), *albina* – (A>AN, A>AV) при медленной репопуляции. Выявляется сходство фенотипов *viridis* и *albina* по массе семян (табл. 52).

Двухфакторный дисперсионный анализ влияния хлорофилл-дефектного фенотипа (специфический генетический фактор) и условий роста и развития растений (неспецифический негенетический фактор) на массу 1000 семян показал, что статистически значима лишь доля влияния неспецифического негенетического фактора, которая составила 63,7% от общей фенотипической дисперсии. Влияние специфического генетического фактора (хлорофиллдефектность) при данных условиях эксперимента недостоверно. Для растений с разной скоростью восстановления хлорофильного дефекта статистически значимым оказался специфический генетический фактор: доля влияния фактора составила 31,4 и 24,0% при быстром и медленном восстановлении

соответственно. В последнем случае значим и неспецифический негенетический фактор, хотя величина его незначительна: 9,3% (табл. 53).

Таблица 52. Масса 1000 семян (г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	1,94±0,03		1,77±0,03	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)				
VN>N	2,07±0,02*	106,7	1,75±0,02	98,9
VN>VN	1,88±0,04	96,9	1,84±0,03*	104,0
XN>N	2,06±0,08*	106,2	1,99±0,05*	112,4
XV>V	2,08±0,05*	107,2	1,79±0,03	101,1
XV>VN	2,35±0,05*	121,1	2,20±0,03*	124,3
Среднее по группе	2,09±0,04*	107,6	1,91±0,03*	108,1
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VN	2,04±0,06*	105,2	1,87±0,06*	105,7
X>AV	2,12±0,07*	109,3	1,89±0,06*	106,8
A>AN	2,18±0,02*	112,4	1,73±0,03	97,7
A>AV	2,00±0,01*	103,1	2,04±0,02*	115,3
Среднее по группе	2,09±0,04*	107,5	1,88±0,06*	106,4
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	1,82±0,03*	93,8	1,74±0,03	98,3
X>N	2,20±0,05*	113,4	2,26±0,03*	127,7
A>V	1,90±0,03	97,9	1,78±0,02	100,6
Среднее по группе	1,97±0,03	97,5	1,93±0,02*	108,9
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
NV>NV	1,85±0,01*	95,4	1,76±0,02	99,4
V>V	2,14±0,02*	110,3	1,78±0,04	100,6
VX>VX	1,89±0,04	97,4	1,78±0,04	100,6
X>V	1,96±0,04	101,0	2,06±0,05*	116,4
X>X	2,04±0,04*	105,2	2,23±0,01*	126,0
A>A	1,97±0,09	101,6	1,91±0,07*	107,9
Среднее по группе	1,98±0,04	101,8	1,92±0,03*	108,5

Таблица 53. Двухфакторный дисперсионный анализ массы 1000 семян у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью

Источник изменчивости признака (фактор)	Сумма квадратов отклонений	Число степеней свободы	Дисперсия	Критерий Фишера		Доля влияния фактора (%)
				F (эмпл.)	F (табл.)	
Растения, различающиеся степенью хлорофиллового дефекта						
Хлорофилл-дефектность	0,0207	3	0,0069	0,58	4,76	20,45
Условия роста и развития	0,0645	2	0,0323	12,06	5,14	63,71
Остаточное	0,0160	6	0,0027			15,84
Общее	0,1012	11				
Растения с медленным восстановлением						
Хлорофилл-дефектность	0,0130	3	0,0043	11,24	2,71	24,04
Условия роста и развития	0,0050	2	0,0025	6,50	3,11	9,27
Взаимодействие факторов	0,0037	6	0,0006	1,58	2,21	6,77
Остаточное	0,0324	84	0,0004			59,90
Общее	0,0541	95				
Растения с быстрым восстановлением						
Хлорофилл-дефектность	0,0071	3	0,0024	6,88	2,86	31,36
Условия роста и развития	0,0015	2	0,0008	2,23	3,25	6,79
Взаимодействие факторов	0,0016	6	0,0003	0,78	2,36	7,15
Остаточное	0,0123	36	0,0003			54,70
Общее	0,0225	47				

Таким образом, генетические особенности растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью оказывают существенное влияние на формирование признака «масса 1000 семян», т. е. и в условиях супрессии проявляется действие мутантного гена.

Масса семян на одно растение и на соцветие (репродуктивный потенциал) является наиболее существенным показателем жизнеспособности и характеризует возможность растения проду-

цировать достаточное количество семян для воспроизведения популяции и поддержания вида в целом.

Различия между растениями с супрессированной хлорофиллдефектностью и диким типом по массе семян на растение были существенны для всех групп фенотипов, и по мере усиления хлорофиллдефектности (*viridis*– *xantha*– *albina*) масса семян на растение снижалась от 30 до 48% (табл. 54). Растения с фенотипом *albina* продуцировали семян меньше не только по отношению к *w-type*, но и к хлорофиллдефектным фенотипам *viridis* и *xantha*. К четвертому году жизни у всех растений, включая дикий тип, репродуктивная способность снизилась в 2–5 раза, что может быть обусловлено возрастными особенностями, хотя, как было показано выше, фертильность пыльцы, а также энергия прорастания и всхожесть семян у таких растений не снижаются.

Таблица 54. Масса семян (г/растений) у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	X \pm s _x	Относительно <i>w-type</i>	X \pm s _x	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	11,8 \pm 1,6		2,3 \pm 0,5	
V	8,3\pm1,2*	69,9	2,8 \pm 0,6	123,9
X	7,7\pm1,6*	65,5	4,20\pm0,04*	182,6
A	6,1\pm0,7**	51,7	1,8 \pm 0,4	78,3

Как отмечено выше, масса семян на соцветие – это один из наиболее важных признаков, характеризующих репродуктивную способность растений. Показатель рассчитывался путем деления массы семян с одного растения на число репродуктивных побегов, несущих соцветие, и для большинства фенотипов он не отличался от *w-type*, что связано прежде всего со значительным (1,2–2 раза) снижением количества генеративных побегов. Характерно, что и масса семян на побег, как и на растение, у всех фенотипов снижается к 4-му году жизни почти в 2 раза (табл. 55, 56).

Анализ различий по плодовитости (масса семян/растения) в группах с разными типами восстановления показал, что расте-

ния с фенотипом *viridis* обладают высокой репродуктивной способностью.

Таблица 55. Масса семян на соцветие (г) у растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом

Фенотип	Длительность вегетации (годы)			
	третий		четвертый	
	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>	X±s _x	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	0,13±0,01		0,07±0,01	
V	0,15±0,01	115,4	0,08±0,01	114,3
X	0,10±0,01*	115,4	0,07±0,01	100,0
A	0,14±0,02	107,7	0,08±0,01	114,3

При репопуляции (медленной) плодовитость растений ($V>V$, $V>VN$) не отличалась от *w-type*. При реверсии (медленной и быстрой), ведущей к восстановлению до нормального фенотипа, плодовитость растений ($V>N$, $NV>NV$) даже превышала его уровень более чем на 40% (табл. 56). Большинство групп растений с фенотипом *xantha* характеризовалось снижением репродуктивной способности. Лишь у двух фенотипов $X>N$ (быстрая реверсия) и $X>XN$ (медленная репопуляция), восстанавливающихся до нормы, она сохранялась на уровне *w-type*. Растения с фенотипом *xantha* при разной скорости и механизмах восстановления, как правило, характеризовались повышенным (на 20–40%) уровнем показателя масса семян/соцветие. У *albina*-фенотипов плодовитость (масса семян на растение) снижена в 1,5–3 раза (репопуляция и реверсия соответственно). Масса семян на соцветие ниже, чем у растений *w-type*, только при медленной реверсии (на 25–40%).

Необходимо отметить, что значения показателей репродуктивной способности в пределах групп фенотипов при различных путях и скорости восстановления хлорофильного дефекта значительно колеблются в обе стороны относительно *w-type* (снижение или увеличение плодовитости). Можно отметить лишь существенное снижение плодовитости (на 47%) у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при быстрой репопуляции с одновременным увеличением продуктивности соцветия (на 22%).

Таблица 56. Масса семян на растение и на соцветие у растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Фенотип	Масса семян (г)			
	на растение		на соцветие	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	11,76±1,56		0,127±0,013	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)				
VN>N	4,17±1,96*	35,5	0,101±0,031	86,6
VN>VN	8,14±0,87*	69,2	0,175±0,029*	137,8
XN>N	4,95±1,32*	42,1	0,153±0,023	120,5
XV>VN	7,29±2,03*	62,0	0,159±0,017*	125,2
XV>V	6,60±3,25*	56,1	0,180±0,002*	141,7
Среднее по группе	6,23±1,53*	53,0	0,154±0,020*	122,4
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)				
V>VN	9,59±2,86	81,6	0,134±0,031	105,5
X>XN	11,65±2,33	99,1	0,161±0,018*	126,8
A>AN	4,58±0,08*	39,0	0,139±0,007	109,5
A>AV	9,00±0,74*	76,5	0,215±0,012*	169,3
Среднее по группе	8,71±1,50	74,0	0,162±0,017*	127,8
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)				
V>N	16,87±2,95*	143,5	0,079±0,009*	62,2
X>N	13,25±2,17	112,7	0,150±0,019	118,1
A>V	5,82±0,76*	49,5	0,129±0,011	101,6
Среднее по группе	11,98±1,96		0,119±0,013	93,4
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)				
NV>NV	16,17±2,15*	137,5	0,126±0,011	99,2
V>V	12,44±3,20	105,8	0,183±0,010*	144,1
X>VX	9,14±0,64*	77,7	0,138±0,006	108,7
X>V	6,46±0,72*	54,9	0,169±0,024*	133,1
X>X	6,60±2,71*	56,1	0,159±0,013*	125,2
VX>VX	5,07±0,31*	43,1	0,128±0,012	100,8
A>XA	4,96±1,06*	42,2	0,079±0,009*	62,2
A>A	4,57±0,80*	38,9	0,096±0,011*	75,6
Среднее по группе	8,18±1,45*	69,5	0,134±0,012	106,1

Выживаемость растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в репродуктивную фазу развития оценивали дважды: на третий и седьмой годы жизни. На третий год жизни выживаемость растений, различающихся хлорофильным дефектом, оставалась на уровне выживаемости растений *w-type*. К седьмому году жизни она снизилась на 14–20%. У растений с супрессированной хлорофиллдефектностью с глубокими типами депигментации к седьмому году жизни выживаемость понизилась на 10 и 21% (для растений с фенотипами *xantha* и *albina* соответственно) относительно растений третьего года жизни в отличие *w-type* (табл. 57).

Таблица 57. **Выживаемость растений *Festuca pratensis*, различающихся хлорофильным дефектом**

Фенотип	Выживаемость (%)	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
Третий год жизни		
<i>w-type</i>	84,4	–
V	78,2	92,7
X	82,8	98,1
A	86,8	102,8
Седьмой год жизни		
<i>w-type</i>	84,3	–
V	72,1*	85,5
X	74,2*	87,9
A	68,3*	80,9

На третий год жизни в фенотипических группах растений, различающихся по скорости и механизмам восстановления, наблюдается снижение выживаемости относительно *w-type* при быстром восстановлении (репопуляция и реверсия) пигментации при ресупрессии на 12–20%. При медленном восстановлении (репопуляция и реверсия) выживаемость сохраняется на уровне дикого типа или у отдельных фенотипов ($X > XV$, $A > AN$, $A > AV$, $V > V$, $X > X$, $X > VN$) даже превосходит его (на 10–18%) (табл. 58). К седьмому году жизни по уровню выживаемости растения с супрессированной хлорофиллдефектностью в фенотипических группах, различающихся по скорости и механизмам восстановления, не отличались друг от друга.

Таблица 58. **Выживаемость растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии (3-й год жизни)**

Фенотип	Выживаемость (%)	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	84,4	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)		
VN>VN	68,8*	81,6
XN>N	65,5*	77,6
XV>V, XV>VN	70,0*	82,9
Среднее по группе	68,1*	80,7
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)		
V>VX	62,5*	74,1
X>XV	95,0*	112,6
X>AV	92,5	109,6
A>AN, A>AV	93,8*	111,2
Среднее по группе	85,9	101,9
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)		
X>N	71,4*	84,6
X>V	75,0*	88,9
A>V	75,0*	88,9
Среднее по группе	73,8*	87,5
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)		
V>V	100,0*	118,5
VX>VX	81,3	96,4
X>X	93,1*	110,3
X>VN	100,0*	118,5
A>A	91,7	108,7
Среднее по группе	93,2	110,5

Минимальным снижением выживаемости (менее 10%) характеризовались растения с фенотипами *xantha* при медленном восстановлении (репопуляция и реверсия) и *albina* при быстрой реверсии. Растения с быстрым типом восстановления пигментации при ресупрессии (репопуляция и реверсия) сохранили выживаемость на уровне третьего года жизни (табл. 59).

Таким образом, изучение экспрессии морфологических признаков – компонентов приспособленности (жизнеспособность, выживаемость и плодовитость) у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью на разных этапах онтогенеза показало, что их

уровень и варьирование определяются как характером депигментации проростков (действием мутантного гена), так и/или специфичностью путей фенотипических превращений при ресупрессии (табл. 60). Этот результат указывает на то, что пигментная мутация данного типа сопровождается комплексом нарушений развития растений, выражающихся в снижении экспрессии количественных признаков – компонентов приспособленности, а ген-супрессор лишь частично подавляет негативное влияние мутации, обеспечивая экспрессию отдельных признаков на уровне растений дикого типа.

Таблица 59. **Выживаемость растений *Festuca pratensis*, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии (7-й год жизни)**

Фенотип	Выживаемость (%)	
	$X \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>
<i>w-type</i>	84,37	
Быстрое восстановление (репопуляция при 35 °С)		
VN>N, VN>VN	68,8	81,6
XN>N	65,5	77,6
XV>V, XV>VN	70,0	83,0
Среднее по группе	68,1*	80,7
Медленное восстановление (репопуляция при 25 °С)		
V>VN, V>XN	66,67	79,0
X>XN, X>VN	77,50	91,9
A>AN, A>AV	67,50	80,0
Среднее по группе	70,57*	83,6
Быстрое восстановление (реверсия при 25 °С)		
VX>V, VX>NV	66,7	79,1
X>N	71,4	84,6
X>V	75,0	88,9
A>V	75,0	88,9
Среднее по группе	72,0*	85,4
Медленное восстановление (реверсия при 25 °С)		
NV>NV, V>V, V>VX, X>XV, VX>VA	71,43	84,7
X>X	69,40	82,3
X>VX	77,08	91,4
A>A, A>XA	68,75	81,5
Среднее по группе	71,67*	84,9

Таблица 60. Сравнение экспрессии морфологических признаков растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью с растениями дикого типа на разных этапах онтогенеза

Признак	Пути фенотипических изменений окраски проростков при ресупрессии			
	Быстрая репопуляция	Медленная репопуляция	Быстрая реверсия	Медленная реверсия
Энергия прорастания семян	<↓	<↓	<	<
Всхожесть семян	<	=	=	=
Частота потенциально летальных проростков	=↓	=	<	=
Частота проростков с задержкой прорастания (< 2 см)	<	=	<	=↓
Частота выживших проростков (> 2 см)	=	=	=	=
Частота активно растущих проростков (> 4 см)	>	=	=	=↓
Количество генеративных побегов	<	<	<	<
Длина соцветия	>	>↓	>↓	>
Высота генеративных побегов	=	=↓	=	=↓
Площадь листа генеративного побега	>	=↓	=↓	=↓
Площадь листа вегетативного побега	=	<↓	<↓	<↓
Фертильность пыльцы	<↓	=↓	<	>
Размер зерновки		>↓	=	=↓
Масса 1000 семян	>	>	=↓	=↓
Масса семян на соцветие	>	>↓	=	=↓
Масса семян на растение	<	=↓	=↓	<↓
Выживаемость (3-й год жизни)	<	=	<	>
Выживаемость (7-й год жизни)	<	<	<	<

Примечание. Значение признаков у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью:

= не отличается, > превышает, < ниже, чем у растений *w*-type,

↓ – выражен эффект хлорофиллдефектного фенотипа.

2.3.5. Приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью и действие стабилизирующего отбора

2.3.5.1. Приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся степенью хлорофильного дефекта, и действие стабилизирующего отбора

Исследованы основные компоненты приспособленности (выживаемость и репродуктивная способность) у групп растений с супрессированной хлорофиллдефектностью в экспериментальной популяции *F. pratensis*, различающихся степенью хлорофильного дефекта. Выживаемость оценивали на разных этапах онтогенетического развития растений (фертильность пыльцы, фертильность соцветия, всхожесть семян, доля выживших проростков, доля растений, достигших репродуктивного развития). Выявлено снижение (18–20%) компонентов выживаемости относительно *w-type* у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью на стадии всхожести семян и на стадиях раннего онтогенеза (14-дневные проростки – кущение растений). Плодовитость растений также снижена в 1,5–2 раза, эффект возрастает по мере усиления хлорофиллдефектности. Растения с супрессированной хлорофиллдефектностью формировали более крупные семена по сравнению с *w-type*, что в природных условиях способствует быстрому их прорастанию. Максимальным снижением компонентов выживаемости и плодовитости характеризуются растения с фенотипом *albina* (табл. 61).

Относительная в сравнении с *w-type* приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью существенно снижена (в 2,5–5 раз). Величина отбора составила 60–80% соответственно. Растения с фенотипом *albina* отличаются по относительной приспособленности не только от *w-type*, но и от растений с фенотипами *viridis* и *xantha* (табл. 62).

Таким образом, несмотря на структурно-функциональную супрессию хлорофиллдефектности, проявляющуюся в особенностях экспрессии морфофизиологических признаков и позволяющую поддерживать жизнеспособность в ходе онтогенеза, приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью низка. Элиминирующее действие отбора против особей с мутациями

проявилось в полной мере. Генетическая супрессия и стабилизирующий отбор сохраняют от элиминации, как правило, особи с фотопротекторными свойствами (Лебедева и др., 2007).

Таблица 61. **Выживаемость (частота) и плодовитость растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся степенью хлорофильного дефекта**

Признак	Фенотип растений			
	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Фертильность пыльцы	0,90±0,01	0,88±0,02	0,89±0,01	0,88±0,01
Фертильность соцветия	0,65±0,03	0,61±0,02	0,69±0,03	0,61±0,03
Всхожесть	0,62±0,05	0,45±0,04	0,47±0,03	0,44±0,05
Доля выживших проростков	0,91±0,04	0,76±0,03	0,72±0,03	0,61±0,06
Доля растений, достигших репродуктивного развития	0,97	0,93	0,94	0,88
Общая выживаемость, <i>v</i>	0,321	0,171	0,196	0,126
Масса семян на растение (г)	11,76±1,56	9,72±1,44	9,18±0,78	6,12±0,66
Масса 1000 семян (г)	1,94±0,03	2,03±0,03	2,03±0,02	2,04±0,04
Плодовитость (количество семян на растение), <i>κ</i>	6073,68	4786,80	4520,52	2996,04

Примечание. Здесь и далее в табл. 62, 64–67: *v* – общая выживаемость, *κ* – плодовитость.

Таблица 62. **Относительная приспособленность растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся степенью хлорофильного дефекта**

Фенотип растений	Компоненты приспособленности			
	<i>v</i>	<i>κ</i>	W	S
<i>w-type</i>	1	1	1	0
<i>viridis</i>	0,533	0,788	0,421	0,58
<i>xantha</i>	0,612	0,744	0,455	0,55
<i>albina</i>	0,393	0,493	0,194	0,81

Примечание. Здесь и далее в табл. 64–67: приспособленность – $W = v \cdot \kappa$; где стандартизированные величины *v* и *κ* выражены в долях относительно *w-type*; $S = 1 - W$ – интенсивность элиминирующего отбора.

Наряду с оценкой приспособленности у растений *F. pratensis* исследован эффект действия естественного отбора (стабилизирующей его формы) в отношении признаков, формирующих

выживаемость и репродуктивную способность. Установлено, что стабилизирующий отбор наиболее интенсивен для фенотипов *viridis* и *xantha* в отношении большинства признаков, характеризующих общую выживаемость и плодовитость растений. Выявлены и особенности действия отбора у отдельных фенотипов. У растений с фенотипом *xantha* его действие снижено в отношении признаков как выживаемости (фертильность соцветия), так и репродуктивной сферы (масса 1000 семян), а с фенотипом *viridis* только для компонентов выживаемости (всхожесть, доля выживших и жизнеспособных проростков). У растений с фенотипом *albina* интенсивность стабилизирующего отбора в значительной степени определяется компонентом приспособленности. Низкое давление стабилизирующего отбора компонентов приспособленности установлено для *w-type* (табл. 63, рис. 25–27).

Таблица 63. Интенсивность стабилизирующего отбора в отношении компонентов приспособленности растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся степенью хлорофилльного дефекта

Признак	Интенсивность стабилизирующего отбора			
	1	2	3	4
Фертильность пыльцы	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>viridis</i>
Фертильность соцветия	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>	<i>viridis</i>
Всхожесть семян	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>xantha</i>
Доля выживших проростков	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>xantha</i>
Доля жизнеспособных проростков	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>xantha</i>
Масса семян на растение	<i>w-type</i>	<i>albina</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
Масса 1000 семян	<i>albina</i>	<i>xantha</i>	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>

Примечание. 1–4 – возрастание интенсивности стабилизирующего отбора.

Таким образом, представленные данные позволяют заключить, что стабилизация значений компонентов приспособленности под действием отбора в большей степени определяется хлорофиллдефектным фенотипом растений.

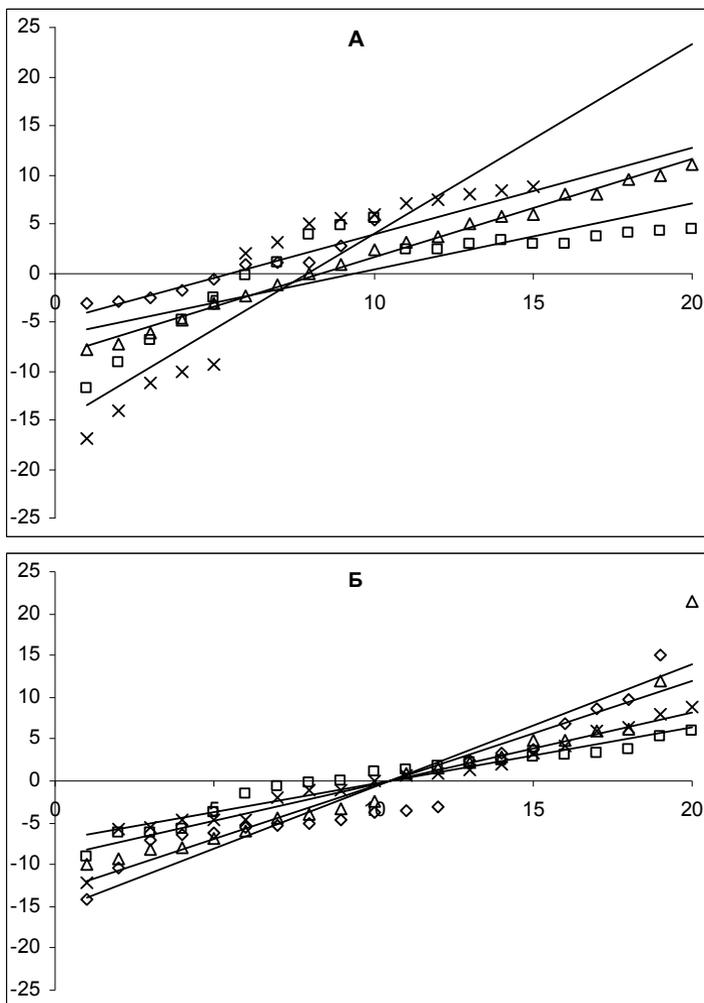


Рис. 25. Фертильность пыльцы (А) и соцветия (Б) у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической:

здесь и на рис. 26, 27: \diamond – *w*-type, \square – виридис-, Δ – ксанта-, \times – альбина-ревертанты.

По оси ординат – отклонения от средних значений признаков, по оси абсцисс – номер ранга и объем выборки

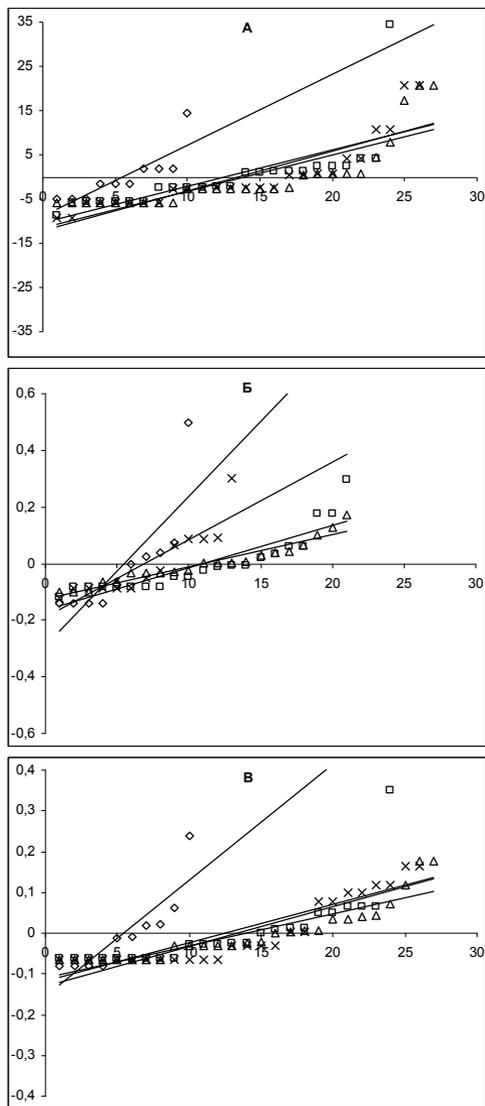


Рис. 26. Всхожесть (А), доля выживших (Б) и доля жизнеспособных (В) проростков у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической

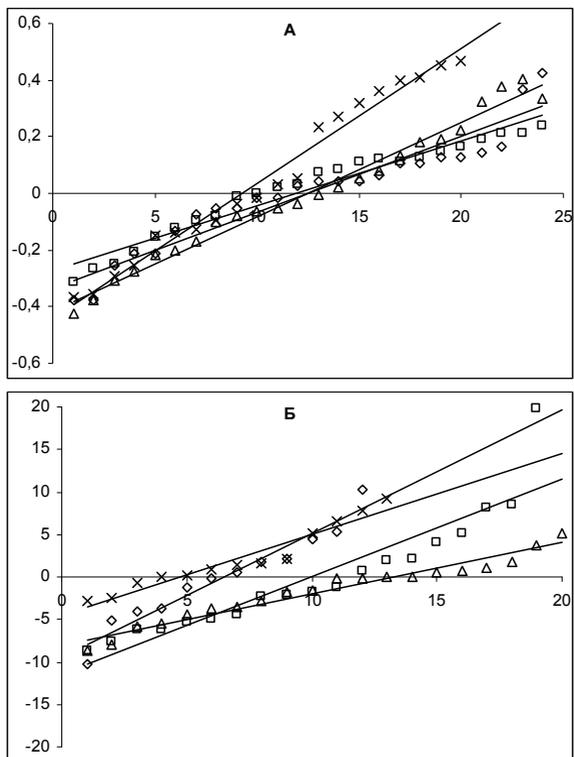


Рис. 27. Масса 1000 семян (А) и масса семян на 1 растение (Б) у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической

2.3.5.2. Приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации, и действие стабилизирующего отбора

Выявлены закономерности формирования компонентов приспособленности (выживаемости и плодовитости) растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью, которые связаны и с механизмами фенотипических изменений окраски проростков в ювенильной стадии развития при ресупрессии (репопуляция, реверсия) и их скорости (быстрая, медленная).

Общая выживаемость растений с фенотипами *viridis* и *xantha* в 2–2,5 раза выше при репопуляции (медленной и быстрой соответственно) по сравнению с реверсией. Плодовитость растений с этими фенотипами, напротив, выше в 1,5–2,5 раза при реверсии (медленной и быстрой соответственно). У растений с фенотипом *albina* и выживаемость (в 7,5 раза), и плодовитость выше при медленной репопуляции по сравнению с быстрой и особенно медленной реверсией. При этом выживаемость растений с фенотипом *albina* при медленной репопуляции в 1,5–2 раза выше, чем у растений *w-type* и с фенотипами *viridis* и *xantha* (табл. 64–67). Различия в скорости восстановления хлорофилльного дефекта выявлены только для растений с фенотипом *albina*: при медленной реверсии общая выживаемость снижена в 1,6 раза по сравнению с быстрой реверсией (табл. 66, 67).

Таблица 64. **Выживаемость, плодовитость и приспособленность растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при быстром восстановлении фенотипов проростков к *w-type* путем репопуляции**

Признак	<i>w-type</i>	VN>VN	XN>XN, XV>XV	AV>AV
Фертильность пыльцы	0,90±0,01	0,70±0,02	0,84±0,02	–
Доля проросших семян	0,62±0,05	0,91±0,02	0,86±0,07	–
Доля выживших проростков	0,91±0,03	0,88±0,04	0,99±0,04	–
Доля жизнеспособных проростков	0,49±0,05	0,39±0,08	0,35±0,06	–
Доля растений, достигших репродуктивного развития	0,96	0,97	1,00	–
Общая выживаемость, <i>v</i>	0,370	0,208	0,247	–
Масса семян на растение	11,76±1,56	6,82±1,12	6,16±1,28	–
Масса 1000 семян	1,94±0,03	1,93±0,07	2,07±0,1	–
Плодовитость растения, <i>k</i>	6074	3527	2967	–
Относительная выживаемость	1	0,562	0,669	–
Относительная плодовитость	1	0,581	0,488	–
Относительная приспособленность, <i>W</i>	1	0,326	0,327	–
Интенсивность элиминирующего отбора, <i>S</i>		0,674	0,673	–

Таблица 65. **Выживаемость, плодовитость и приспособленность растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при медленном восстановлении фенотипов проростков к *w*-type путем репопуляции**

Признак	<i>w</i> -type	V>VN	X>XN (XV)	A>AN (AV)
Фертильность пыльцы	0,90±0,01	0,82±0,02	0,86±0,02	0,93±0,01
Доля проросших семян	0,62±0,05	0,92±0,02	0,90±0,07	0,88±0,06
Доля выживших проростков	0,95±0,02	0,92±0,01	0,97±0,02	0,87±0,08
Доля жизнеспособных проростков	0,49±0,10	0,49±0,10	0,33±0,10	0,65±0,09
Доля растений, достигших репродуктивного развития	0,96	1,00	0,97	1,00
Общая выживаемость, <i>v</i>	0,370	0,351	0,251	0,526
Масса семян на растение	11,76±1,56	8,40±1,87	7,48±1,45	7,21±1,23
Масса 1000 семян	1,94±0,03	2,00±0,11	1,94±0,08	2,15±0,08
Плодовитость растения, <i>κ</i>	6074	4191	3862	3350
Относительная выживаемость	1	0,950	0,678	1,423
Относительная плодовитость	1	0,690	0,636	0,552
Относительная приспособленность, <i>W</i>	1	0,656	0,432	0,785
Интенсивность элиминирующего отбора, <i>S</i>		0,344	0,568	0,215

Таблица 66. **Выживаемость, плодовитость и приспособленность растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при быстром восстановлении фенотипов проростков к *w*-type путем реверсии**

Признак	<i>w</i> -type	V>N	X>N	A>N
Фертильность пыльцы	0,90±0,01	0,92±0,01	0,85±0,01	0,91±0,04
Доля проросших семян	0,62±0,05	0,40±0,01	0,45±0,06	0,59±0,07
Доля выживших проростков	0,91±0,04	0,91±0,02	0,71±0,03	0,79±0,02
Доля жизнеспособных проростков	0,49±0,05	0,55±0,10	0,40±0,07	0,49±0,02
Доля растений, достигших репродуктивного развития	0,96	0,94	0,97	1,00
Общая выживаемость, <i>v</i>	0,370	0,173	0,106	0,208
Масса семян на растение	11,76±1,56	16,87±0,00	13,25±2,17	5,83±0,76
Масса 1000 семян	1,94±0,03	1,82±0,03	2,20±0,05	1,90±0,03
Плодовитость растения, <i>κ</i>	6074	9293	6036	3066
Относительная выживаемость	1	0,469	0,286	0,562
Относительная плодовитость	1	1,530	0,994	0,505
Относительная приспособленность, <i>W</i>	1	0,717	0,284	0,284
Интенсивность элиминирующего отбора, <i>S</i>		0,283	0,716	0,716

Таблица 67. **Выживаемость, плодовитость и приспособленность растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при медленном восстановлении фенотипов проростков к *w-type* путем реверсии**

Признак	<i>w-type</i>	V>V	X>X	A>A
Фертильность пыльцы	0,90±0,01	0,94±0,01	0,90±0,01	0,54±0,02
Доля проросших семян	0,62±0,05	0,48±0,01	0,53±0,09	0,26±0,05
Доля выживших проростков	0,91±0,04	0,74±0,05	0,67±0,06	1,00±0,02
Доля жизнеспособных проростков	0,49±0,05	0,42±0,15	0,45±0,07	0,62±0,03
Доля растений, достигших репродуктивного развития	0,96	0,84	0,92	0,82
Общая выживаемость, <i>v</i>	0,370	0,118	0,133	0,071
Масса семян на растение	11,76±1,56	12,44±3,21	8,81±1,77	4,57±0,81
Масса 1000 семян	1,94±0,03	2,14±0,02	2,06±0,04	1,97±0,09
Плодовитость растения, <i>k</i>	6074	5813	4277	2320
Относительная выживаемость	1	0,319	0,359	0,193
Относительная плодовитость	1	0,957	0,704	0,382
Относительная приспособленность, <i>W</i>	1	0,305	0,253	0,074
Интенсивность элиминирующего отбора, <i>S</i>		0,695	0,747	0,926

Показатели относительной (*w-type*) выживаемости и плодовитости растений с супрессированной хлорофиллдефектностью проявили фенотипическую зависимость экспрессии признака. Максимальные значения относительной выживаемости для растений всех фенотипических групп выявлены при медленной репопуляции, а минимальные – при медленной реверсии. Относительная плодовитость растений с фенотипом *viridis* характеризуется максимальными значениями при быстрой и медленной реверсии, с фенотипом *xantha* – при быстрой реверсии и с фенотипом *albina* – при медленной репопуляции. Максимальные значения относительной приспособленности растений с фенотипом *viridis* установлены при быстрой реверсии, с фенотипами *xantha* и *albina* – при медленной репопуляции.

Различия между механизмами восстановления пигментации проростков при ресупрессии по приспособленности растений с фенотипом *xantha* выражены в меньшей степени (в 1,7 раза), чем с фенотипами *viridis* (в 2,4 раза) и *albina* (в 10,6 раза). Этот эффект связан, как будет показано ниже, прежде всего с жестким давлением стабилизирующего отбора в отношении признаков растений, формирующих их приспособленность. Выявлен компенсаторный эффект (повышение компонентов приспособленности по сравнению с *w-type*) по относительной выживаемости у растений с фенотипом *albina* (в 1,4 раза) при медленной репопуляции и по относительной плодовитости у растений с фенотипами *viridis* (в 1,5 раза) при быстрой реверсии.

Таким образом, проведенное исследование позволило: установить дифференциальную приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, что связано как со степенью хлорофилльного дефекта растений, так и с механизмами фенотипических изменений окраски проростков при ресупрессии и их скорости; показать зависимость относительной приспособленности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью от клеточных механизмов восстановления пигментации при ресупрессии.

Оценка действия естественного отбора (стабилизирующей его формы) была проведена в отношении признаков, формирующих выживаемость и плодовитость, на основе анализа ранжированных отклонений от средних арифметических их значений. Установлено, что интенсивность действия стабилизирующего отбора определяется как исследуемым признаком (компонентом приспособленности), так и хлорофиллдефектным фенотипом растений, и, в меньшей степени, механизмами фенотипических превращений окраски проростков при ресупрессии. Сильное давление стабилизирующего отбора (пологие линии трендов) выявлены для фертильности пыльцы, выживших и жизнеспособных проростков, и значительно более низкое (крутые линии трендов) для массы семян на растение и массы 1000 семян (табл. 68; рис. 28–33).

Таблица 68. Интенсивность стабилизирующего отбора в отношении компонентов приспособленности растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью, различающихся скоростью и механизмом восстановления пигментации при ресупрессии

Признак	Интенсивность стабилизирующего отбора			
	1	2	3	4
Быстрая репопуляция				
Фертильность пыльцы		<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Всхожесть семян		<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
Доля выживших проростков		<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>w-type</i>
Доля жизнеспособных проростков		<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
Масса семян на растение		<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>w-type</i>
Масса 1000 семян		<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>viridis</i>
Медленная репопуляция				
Фертильность пыльцы	<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>albina</i>	<i>xantha</i>
Всхожесть семян	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
Доля выживших проростков	<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Доля жизнеспособных проростков	<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>albina</i>	<i>xantha</i>
Масса семян на растение	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Масса 1000 семян	<i>albina</i>	<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Быстрая реверсия				
Фертильность пыльцы	<i>xantha</i>	<i>w-type</i>	<i>albina</i>	<i>viridis</i>
Всхожесть семян	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
Доля выживших проростков	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Доля жизнеспособных проростков	<i>albina</i>	<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Масса семян на растение	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Масса 1000 семян	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>viridis</i>
Медленная реверсия				
Фертильность пыльцы	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>viridis</i>
Всхожесть семян	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>
Доля выживших проростков	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Доля жизнеспособных проростков	<i>albina</i>	<i>viridis</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Масса семян на растение	<i>viridis</i>	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>
Масса 1000 семян	<i>albina</i>	<i>w-type</i>	<i>xantha</i>	<i>viridis</i>

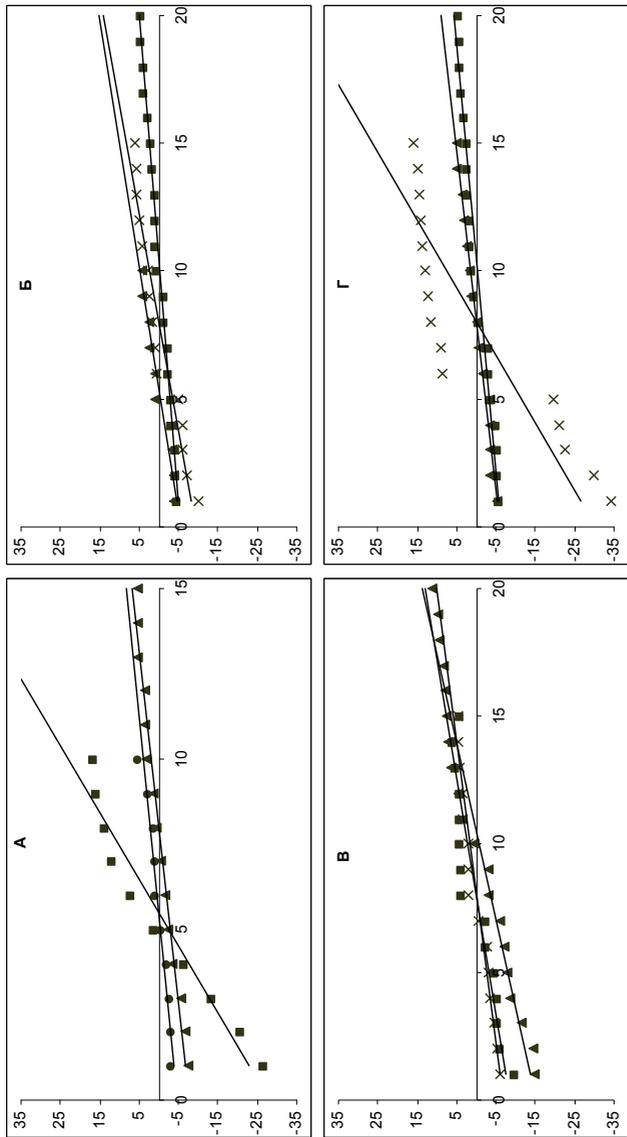


Рис. 28. Фертильность пыльцы *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической.

здесь и на рис. 29–33: \blacklozenge – *w-type*, \blacksquare – виридис-, \blacktriangle – канта-, \times – альбина-ревертанты; А, Б – быстрое восстановление при 35 °С (репопуляция) и 25 °С (реверсия); В, Г – медленное восстановление при 25 °С – репопуляция и реверсия.

По оси ординат – отклонения от средних значений признаков, по оси абсцисс – номер ранга и объем выборки

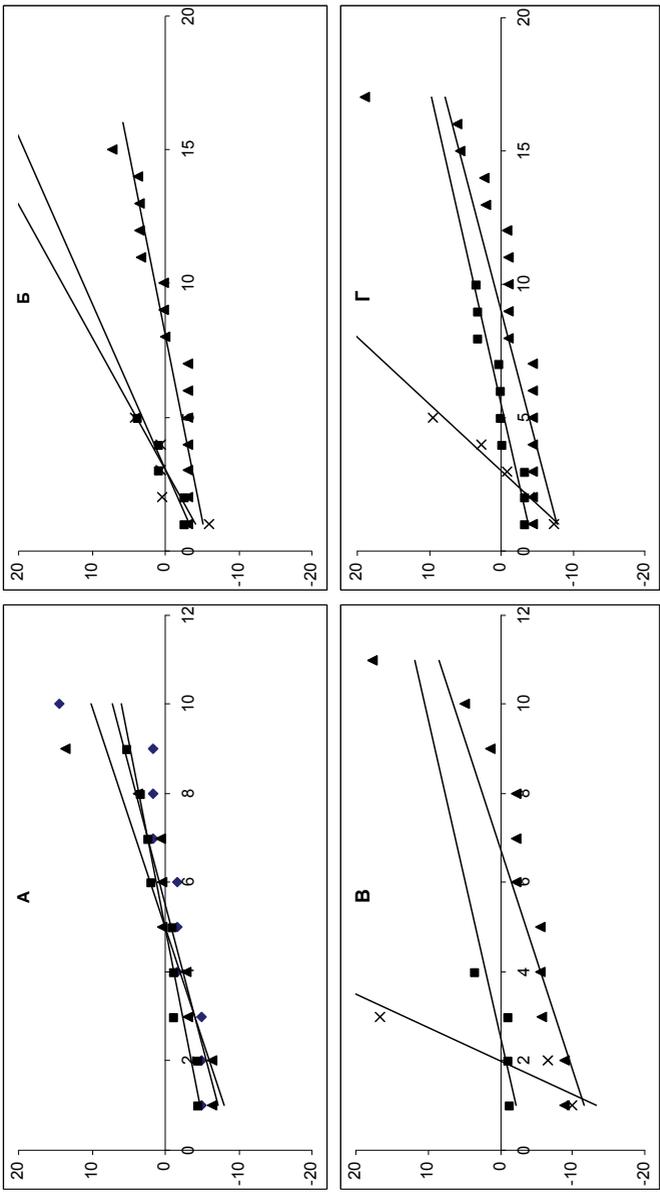


Рис. 29. Всхожесть семян у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической:

быстрое восстановление: А – при 35 °С (репопуляция), Б – при 25 °С (реверсия). Медленное восстановление: В – при 25 °С (репопуляция), Г – при 25 °С (реверсия)

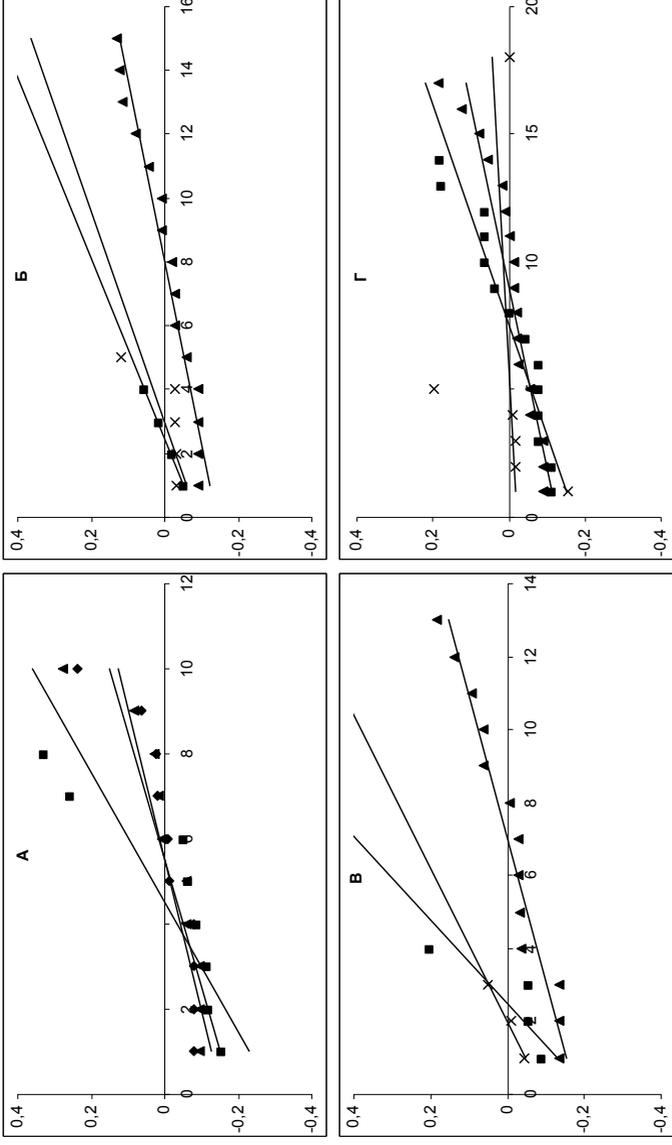


Рис. 30. Доля выживших проростков у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической: быстрое восстановление: А – при 35 °С (репопуляция), Б – при 25 °С (реверсия). Медленное восстановление: В – при 25 °С (репопуляция), Г – при 25 °С (реверсия)

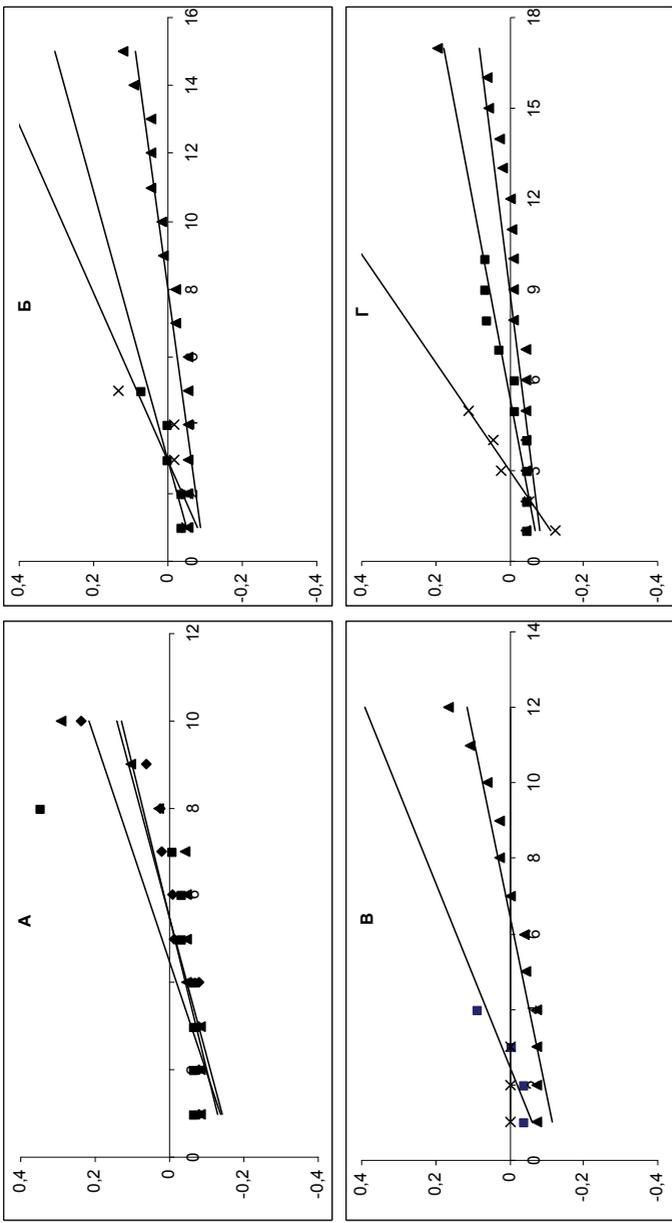


Рис. 31. Доля жизнеспособных проростков у растений *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической: быстрое восстановление: А – при 35 °С (репопуляция), Б – при 25 °С (реверсия), Медленное восстановление: В – при 25 °С (репопуляция), Г – при 25 °С (реверсия)

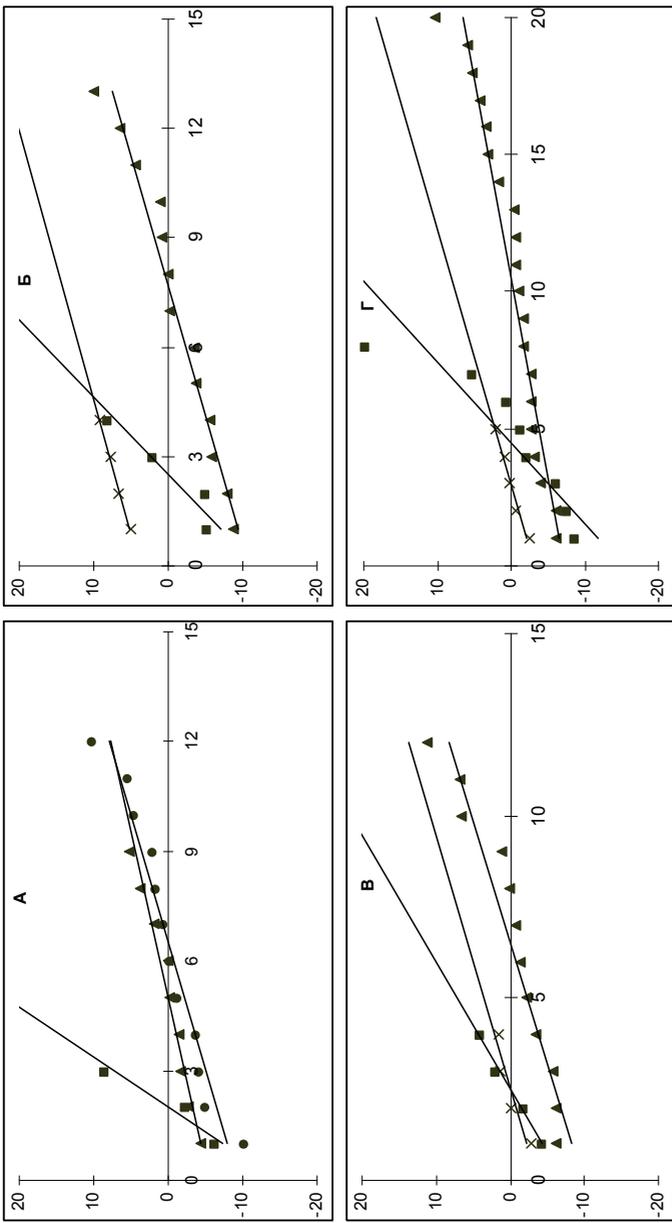


Рис. 32. Масса семян на растении *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической:

А, Б – быстрое восстановление при 35 °С (репопуляция) и 25 °С (реверсия); В, Г – медленное восстановление при 25 °С (репопуляция и реверсия)

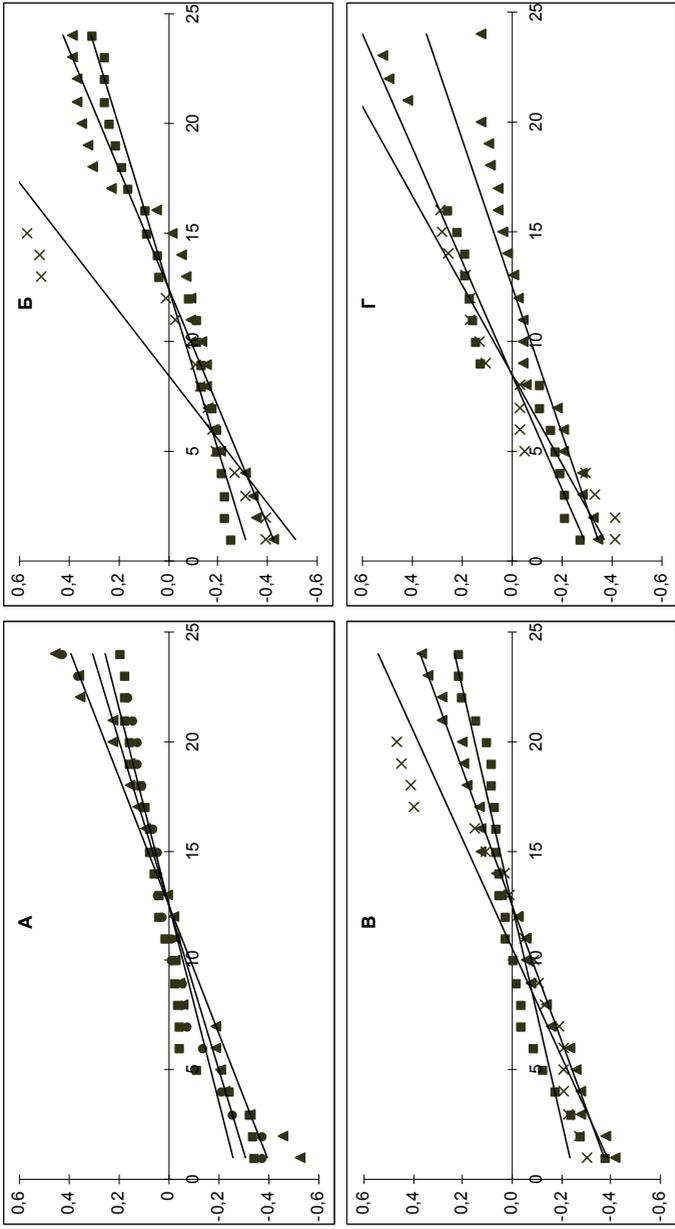


Рис. 33. Масса 1000 семян *Festuca pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической.

А, Б – быстрое восстановление при 35 °С (репопуляция) и 25 °С (реверсия); В, Г – медленное восстановление при 25 °С – репопуляция и реверсия

Сравнительный анализ интенсивности стабилизирующего отбора у растений трех фенотипических по хлорофиллдефектности групп показал, что его давление, как правило, наиболее сильно выражено у растений с фенотипом *xantha* и не зависит ни от скорости, ни от механизма восстановления хлорофильного дефекта. Тогда как механизм и скорость восстановления хлорофильного дефекта имеют значение в проявлении действия стабилизирующего отбора для растений с фенотипами *viridis* и *albina*. Так, например, действие стабилизирующего отбора в отношении фертильности пыльцы наименее выражено для растений с фенотипом *viridis* при быстрой репопуляции, а с фенотипом *albina* – при медленной реверсии. Таким образом, различия в относительной приспособленности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью зависят от действия стабилизирующего отбора в отношении формирующих ее компонентов (выживаемость и плодовитость).

Изучение распределения растений с супрессированной хлорофиллдефектностью с теми или иными механизмами фенотипических изменений окраски проростков при ресупрессии (репопуляция, реверсия) по фенотипическим группам, различающимся светостойчивостью, показало преобладание частот растений с фотостойчивыми фенотипами при восстановлении через реверсию. Однако у светочувствительных фенотипов соотношение реверсия/репопуляция на 70% ниже, чем у светостойчивых фенотипов. У светочувствительных растений преобладают особи с медленной скоростью восстановления окраски проростков при ресупрессии, а у светостойчивых растений особи с быстрым и медленным восстановлением представлены в равной степени (табл. 69). При быстрой репопуляции отсутствуют растения у фенотипических классов (*viridis*, *xantha*) с горизонтальным листом, при медленной репопуляции (*viridis*) – с вертикальным и повислым листом, при быстрой реверсии (*viridis*, *albina*) – с вертикальным листом. Частота светостойчивых растений с быстрой реверсией и с фенотипом *viridis* – 0,08, с фенотипом *xantha* – 0,26, с фенотипом *albina* – 0,27; с медленной реверсией и с фенотипом *viridis* – 0,52, с фенотипом *xantha* – 0,18, с фенотипом *albina* – 0,27.

Таким образом, у растений с супрессированной хлорофилл-дефектностью, восстанавливающихся при ресупрессии путем реверсии, преобладают фотоустойчивые морфологические типы.

Таблица 69. Распределение частот растений *Festuca pratensis* (в долях) с супрессированной хлорофиллдефектностью по морфологическим типам (ориентация в пространстве побегов и листьев)

Механизмы восстановления пигментации при ресупрессии	Морфологический тип растения								
	Вертикальный лист			Повислый лист			Горизонтальный лист		
	Компактный куст	Полукомпакт. куст	Раскидистый куст	Компактный куст	Полукомпакт. куст	Раскидистый куст	Компактный куст	Полукомпакт. куст	Раскидистый куст
<i>Viridis</i>									
Быстрая репопуляция	–	0,08	–	–	0,08	0,04	–	–	–
Медленная репопуляция	–	–	–	–	–	–	–	0,04	–
Быстрая реверсия	–	–	–	–	0,08	–	0,04	–	0,04
Медленная реверсия	0,08	0,12	0,04	0,20	0,12	–	–	0,04	–
<i>Xantha</i>									
Быстрая репопуляция	0,02	0,02	–	0,06	0,06	0,04	–	–	–
Медленная репопуляция	–	0,04	–	–	0,04	0,02	–	0,04	–
Быстрая реверсия	0,02	0,06	–	0,08	0,10	0,02	–	0,02	0,02
Медленная реверсия	0,04	0,06	0,04	0,04	0,04	0,06	–	0,02	–
<i>Albina</i>									
Быстрая репопуляция	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Медленная репопуляция	–	–	–	–	0,09	0,09	–	–	–
Быстрая реверсия	–	–	–	0,18	0,09	0,09	–	0,09	–
Медленная реверсия	0,09	0,09	–	–	0,09	–	–	0,09	–

Примечание. Здесь и далее в табл. 71–74, 79, 80, 82–84, 86: прочерк – отсутствие растений с данным морфотипом.

ГЛАВА 3

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ФЕНОМЕНОЛОГИЯ СУПРЕССИРОВАННОЙ ХЛОРОФИЛЛДЕФЕКТНОСТИ *FESTUCA PRATENSIS* ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ОРИЕНТАЦИИ ПОБЕГОВ И ЛИСТЬЕВ

3.1. Морфологические особенности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев

Морфологическая структура растения естественно формируется на генетически контролируемой основе под действием факторов внешней среды, одним из которых является свет (Горышина, 1979; Larcher, 1995). Габитус растений и ориентация в пространстве листьев обеспечивают один из уровней защиты фотосинтетического аппарата от поглощения избыточной световой энергии (Шульгин, 1963, 1967, 1973; Smith et al., 1998; Valladares, Pearcy, 1998). Открытые, верхние, горизонтальные и южно-ориентированные листья абсорбируют значительно больше фотонов, а поэтому могут подвергаться наибольшему риску фотоингибирования процесса фотосинтеза. К фотозащитным элементам структуры листа относят также способность складываться по средней жилке, функциональную инверсию абаксиальной и адаксиальной поверхностей, строение мезофилла листа, соотношение палисадной и губчатой тканей, распределение устьиц, трихом и кутикулы (Wilson, Cooper, 1970; Nobel, Walker, 1985; Terashima, 1986; Knapp et al., 1988; Korner et al., 1989; Vogelmann, 1993a, b; Clearwater, Gould, 1995; Pearcy, Yang, 1996; Smith et al., 1997; Muraoka et al., 1998; Valladares, Pearcy, 1998; Иванова, Пьянков, 2002). Показано, что структура листа максимально адаптирована как для абсорбции световой энергии, так и защиты от избыточного ее поглощения.

Известно, что естественные популяции овсяницы луговой характеризуются разнообразием по форме куста (Синская, 1948).

Морфологически габитус растений определяется направлением роста побегов, их размещением в пространстве. Направление роста может быть интравагинальным, когда побег, развиваясь из боковой почки, растет внутри листового влагалища, и экстравагинальным, если побег пробивает влагалище и растет вне его. По размещению в пространстве выделяют ортотропные, растущие перпендикулярно к поверхности почвы, и плагиотропные, расположенные горизонтально или под углом к поверхности почвы. У злаков в пределах одного растения развиваются как интра- и экстравагинальные, так и ортотропные и плагиотропные монокарпические побеги, причем каждый побег может в течение жизни менять направление роста, отчего соотношение плагиотропной и ортотропной частей его может быть различным. Соответственно растения с преобладанием интравагинальных, ортотропных побегов приобретают форму компактного куста, а с преобладанием экстравагинальных и плагиотропных – раскидистую. Возможные варианты между этими полярными состояниями будут зависеть от соотношения различных типов побегов и размеров их ортотропной и плагиотропной частей (Серебряков, 1952; Серебрякова, 1971).

Однако исследования архитектоники растений не были соотнесены с их фотостойчивостью и в целом фотозащитные механизмы морфологического уровня оказались наименее изученными. В частности, остаются неисследованными особенности ассоциаций таких признаков, как ориентация в пространстве побегов и листьев, их взаимосвязь с другими морфологическими признаками, особенности жизнеспособности и выживаемости растений с различной ориентацией в пространстве побегов и листьев, а также вклад в формирование стратегии фотозащиты растений с супрессированной хлорофиллдефектностью.

Оценка габитуса растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью показала, что во всех фенотипических группах обнаружены особи с различной формой куста: компактной (побеги расположены плотно и направлены вверх, рис. 34, А), раскидистой (побеги расположены рыхло и почти лежат на поверхности почвы, рис. 34, В) и полукомпактной (промежуточный куст, рис. 34, Б). В экспериментальной выборке растений доминировал полукомпактный куст (рис. 36, А). Частота его у отдельных

фенотипических классов хлорофиллдефектных растений варьировала в очень узком диапазоне (0,49–0,53) и от *w-type* не отличалась. Частоты растений с компактной и раскидистой формой куста характеризовались меньшими значениями (в 2–2,5 раза) по сравнению с полукомпактным кустом. У *viridis*-ревертантов отмечено высокое значение частот растений с компактной формой куста по сравнению с *w-type* и остальными хлорофиллдефектными фенотипами (в 1,7 раза).

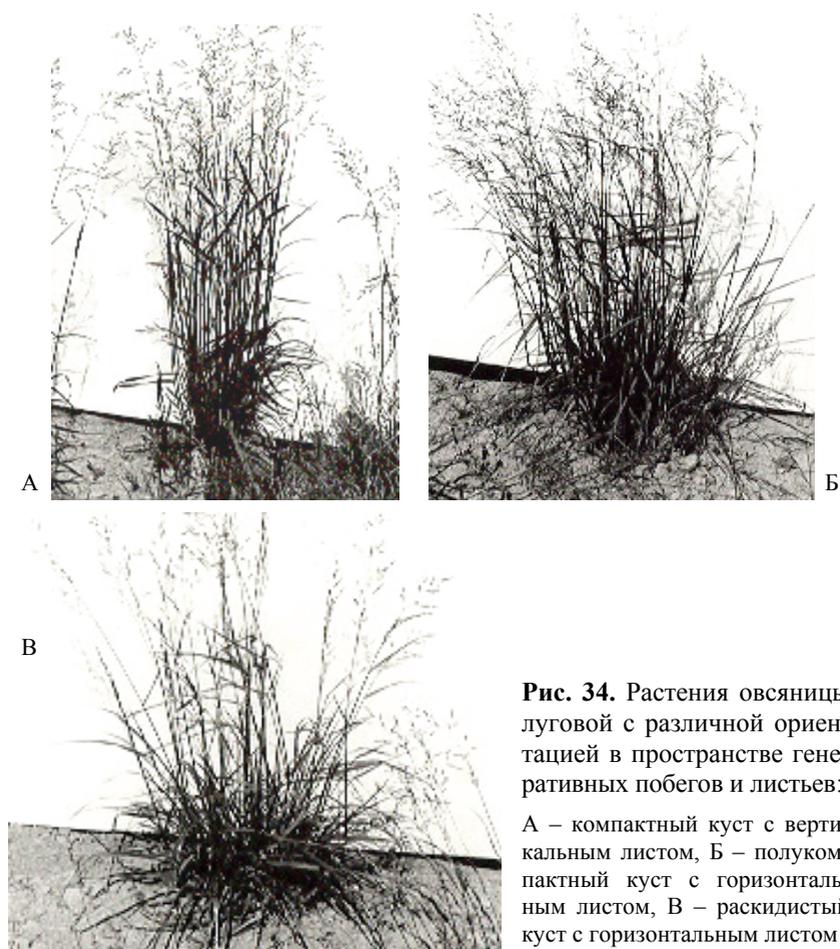


Рис. 34. Растения овсяницы луговой с различной ориентацией в пространстве генеративных побегов и листьев:

А – компактный куст с вертикальным листом, Б – полукомпактный куст с горизонтальным листом, В – раскидистый куст с горизонтальным листом

Отчетливо идентифицировались растения с «горизонтальной» (лист ориентирован по отношению к генеративному побегу перпендикулярно, угол между ним и побегом почти прямой), «повислой» (верхняя половина листа свисает вниз) и «вертикальной» (лист направлен вверх под острым углом к побегу) ориентацией листа генеративного побега в пространстве (рис. 35, А, Б, В). Частота растений с повислым листом доминировала и возрастала в ряду фенотипов по мере усиления хлорофиллдефектности (от 0,42 у *viridis*- до 0,73 у *albina*-ревертантов) (рис. 36, Б). В отношении вертикального листа наблюдается обратная картина (снижение частоты от 0,35 у *viridis*- до 0,12 у *albina*-ревертантов). Для горизонтального листа проявлялся менее отчетливый эффект.

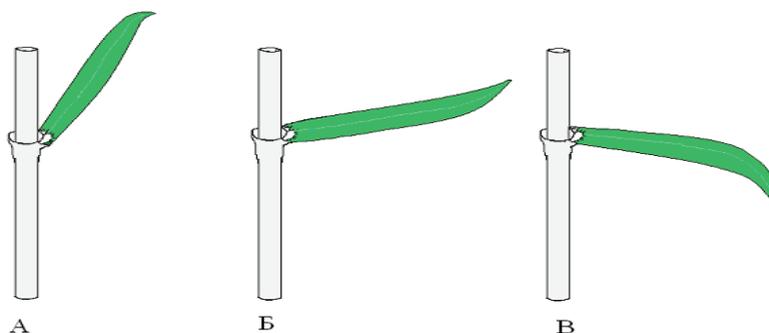


Рис. 35. Схема ориентации листа генеративного побега у растений овсяницы луговой:

А – часть побега с вертикальным, Б – горизонтальным, В – повислым листом

Таким образом, у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью, с одной стороны, увеличивается частота растений с повислым листом при неизменном значении полукompактной формы куста, а с другой, снижаются частоты с вертикальным листом и компактным кустом. Рассматривая эти результаты с позиции формирования хлорофиллдефектными растениями стратегии фотозащиты морфологического уровня, следует отметить, что она опирается на промежуточные значения признаков ориентации в пространстве побегов и листьев, но не на светоустойчивые, как может ожидатьс. «Среднепопуляционный» фенотип (полуком-

пактный куст и повислый лист) обеспечивает, по нашему мнению, функциональную сбалансированность процессов поглощения фотонов и фотоустойчивости растений. Хлорофиллдефектные фенотипы оказываются к этому балансу более чувствительными, чем *w-type*.

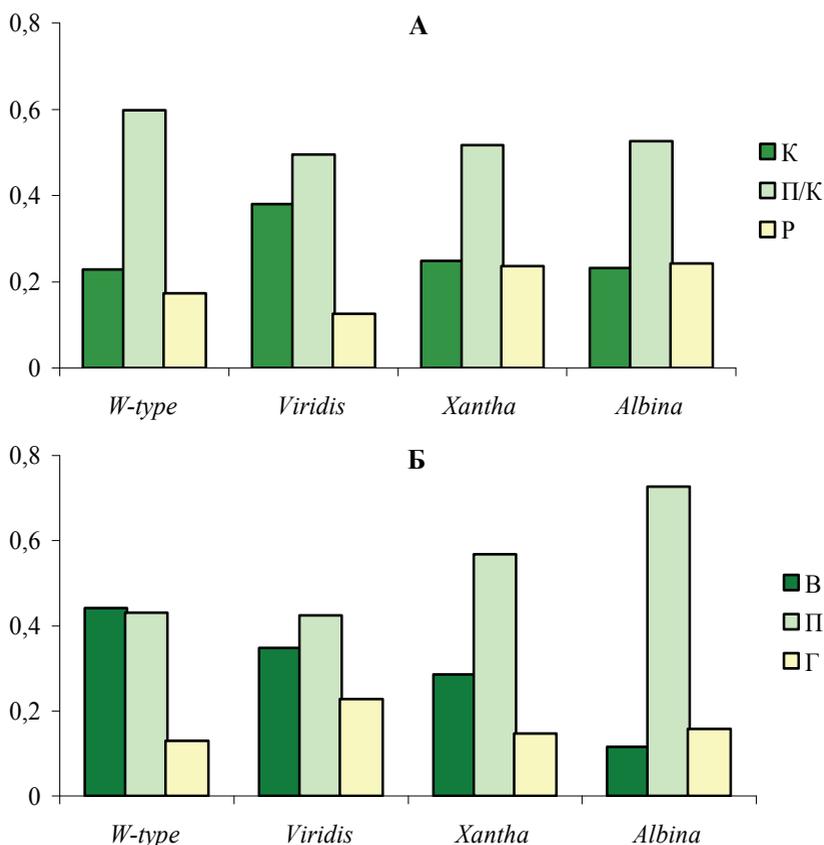


Рис. 36. Частота растений овсяницы луговой с различной ориентацией в пространстве побегов и листьев:

А – частота растений с различной формой куста, Б – с различной ориентацией листовой пластинки. К, П/К, Р – соответственно компактная, полукompактная и раскидистая формы куста; В, П, Г – соответственно вертикальная, повислая и горизонтальная ориентация листа.

По оси ординат – частота морфологических типов куста и листа в долях; по оси абсцисс – фенотипы растений

Для проверки высказанного предположения мы проанализировали у хлорофиллдефектных фенотипов частоты растений с различными ассоциациями ориентации в пространстве побегов и листьев. Так, у растений *w-type* все формы ориентации в пространстве побегов чаще сочетались с вертикальными листьями, а у хлорофиллдефектных отчетливо просматриваются тенденция роста частот с повислыми листьями и ее взаимосвязь со степенью хлорофильного дефекта (табл. 70). Частота растений с повислым листом и полукомпактной формой куста в экспериментальном пуле составила соответственно 0,52 и 0,56.

Таблица 70. Частота встречаемости растений с различными ассоциациями ориентации в пространстве побегов и листьев

Ориентация в пространстве		Фенотип растений			
побегов	листьев	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Компактная	Вертикальная	0,44	0,30	0,25	0,32
	Повислая	0,35	0,51	0,61	0,59
	Горизонтальная	0,21	0,19	0,14	0,09
Полу-компактная	Вертикальная	0,41	0,40	0,37	0,08
	Повислая	0,38	0,37	0,48	0,72
	Горизонтальная	0,22	0,23	0,15	0,20
Раскидистая	Вертикальная	0,50	0,30	0,15	0
	Повислая	0,34	0,35	0,71	0,87
	Горизонтальная	0,16	0,35	0,14	0,13

Примечание. Здесь и далее в табл. 77, 78, 81, 84 выделены наиболее высокие частоты для каждого из фенотипов.

Таким образом, морфологические признаки (ориентация в пространстве побегов и листьев) функционально связаны между собой по принципу максимальной надежности биологических систем фотосинтезирующего организма и, вероятнее всего, в отношении баланса абсорбции и сброса избыточно поглощенных фотонов, обеспечивая этим высокую экологическую устойчивость (фотоустойчивость) и жизнеспособность растений в целом.

Можно ожидать, что растения с различной ориентацией в пространстве побегов и листьев будут отличаться между собой и по развитию других морфологических признаков, участвующих в формировании их архитектоники. Действительно, при анализе морфологических признаков генеративного побега, размеров вегетативного и генеративного листьев и показателей репродуктивной способности (жизнеспособности) у всех хлорофиллдефектных фенотипов уровень их экспрессии, как правило, связан с вполне определенными типами ассоциаций ориентации в пространстве побегов и листьев (табл. 71–74).

Таблица 71. Характеристика листа вегетативного побега у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной форме куста и ориентации листа

Фенотип	Форма куста и ориентация листа									
	Компактная				Подуковатая				Раскидистая	
	Длина	Ширина	Площадь	Длина	Ширина	Площадь	Длина	Ширина	Площадь	
	Вертикальный лист									
w-type	33,1±2,2	0,48±0,04	10,58±0,06	34,1±2,6	0,57±0,03	12,96±0,06	42,1±2,8*	0,53±0,03	14,88±0,06*	
viridis	32,6±3,2	0,53±0,04	15,59±0,09*	31,9±2,8	0,59±0,04	12,55±0,07	26,7±3,1*	0,57±0,03	10,17±0,06*	
xantha	31,4±2,6	0,58±0,04*	12,22±0,06	31,6±3,0	0,58±0,03	12,21±0,06	35,2±2,8	0,57±0,04	13,36±0,06	
albina	26,8±2,3	0,48±0,05	8,58±0,08*	22,9±5,7*	0,62±0,06	9,45±0,22*	—	—	—	
Среднее значение	30,9±2,6	0,52±0,04	12,88±0,98	30,1±3,05	0,59±0,04	11,79±0,10	34,7±2,9	0,56±0,03	12,80±0,06	
	Повислый лист									
w-type	—	—	—	35,1±1,7	0,51±0,04	11,94±0,05	30,8±3,2	0,55±0,06	11,29±0,13	
viridis	28,3±3,6	0,53±0,03	9,99±0,07*	31,6±1,9	0,55±0,04	11,57±0,08	39,3±6,9	0,47±0,02	12,31±0,07	
xantha	30,9±2,8	0,59±0,04	12,17±0,07	31,9±2,5	0,56±0,05	11,91±0,08	36,4±3,0	0,58±0,04	14,07±0,08*	
albina	26,6±3,3	0,52±0,04	9,20±0,09*	34,2±3,6	0,57±0,03	12,98±0,07	31,9±2,9	0,51±0,02	10,85±0,04*	
Среднее значение	28,6±3,2	0,56±0,04	10,45±0,08	33,2±2,4	0,55±0,04	12,10±0,07	34,6±4,0	0,53±0,04	12,13±0,08	
	Горизонтальный лист									
w-type	—	—	—	39,3±3,9*	0,47±0,03*	12,31±0,08	32,8±2,1	0,57±0,05	12,45±2,11	
viridis	—	—	—	31,3±2,9	0,62±0,04	12,90±0,08	41,7±5,4*	0,50±0,07	13,91±2,04	
xantha	—	—	—	29,0±1,9	0,58±0,04	11,21±0,05	24,3±3,1*	0,52±0,04	8,42±0,08*	
albina	—	—	—	32,6±2,2	0,53±0,04	11,52±0,06	—	—	—	
Среднее значение	—	—	—	33,1±2,7	0,55±0,04	12,00±0,07	32,9±3,5	0,53±0,05	11,63±1,41	

Примечание. Здесь и далее в табл. 72–74, 79, 80, 82–84, 86 отклонение величины показателя от среднего значения (*) достоверно при $p < 0,05$.

Таблица 72. Характеристика листа генеративного побега у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной форме куста и ориентации листа

Фенотип	Форма куста и ориентация листа											
	Компактная					Подукокомпактная					Раскидистая	
	Длина	Ширина	Площадь	Длина	Ширина	Площадь	Длина	Ширина	Площадь	Длина	Ширина	Площадь
	Вертикальный лист											
<i>w-type</i>	22,4±0,9	0,65±0,04*	9,71±0,06*	21,9±1,1	0,68±0,03	9,93±0,10	21,9±1,2	0,81±0,07	11,85±0,05*			
<i>viridis</i>	21,3±0,7	0,73±0,02	9,61±0,27*	23,0±1,3	0,80±0,04*	12,27±0,03*	19,7±1,5	0,86±0,02	11,28±0,02*			
<i>xantha</i>	23,2±1,0	0,78±0,03	12,14±0,22*	21,6±1,1	0,71±0,04	10,22±0,03	24,7±1,1	0,84±0,04	13,84±0,03*			
<i>albina</i>	26,9±1,9*	0,80±0,04	14,35±0,05*	18,8±2,1	0,62±0,07	7,78±0,10*	—	—	—			
Среднее значение	23,4±1,2	0,74±0,03	11,54±0,15	21,4±1,4	0,70±0,04	10,05±0,06	22,1±1,3	0,84±0,04	12,32±0,03			
	Повислый лист											
<i>w-type</i>	—	—	—	35,1±1,7	0,63±0,04	14,74±0,04*	22,4±1,2	0,85±0,04*	12,69±0,03*			
<i>viridis</i>	22,4±1,4	0,68±0,05	10,19±0,05*	31,6±1,9	0,74±0,04	15,59±0,03*	18,0±0,6*	0,70±0,02*	8,40±0,01*			
<i>xantha</i>	26,6±1,4*	0,78±0,04	13,85±0,07*	31,9±2,5	0,72±0,05	15,31±0,04*	23,3±1,2	0,78±0,04	12,12±0,03*			
<i>albina</i>	22,7±1,5	0,71±0,04	10,74±0,04*	34,2±3,6	0,69±0,03	15,73±0,02*	24,2±0,8*	0,76±0,02	12,26±0,01*			
Среднее значение	23,9±1,4	0,72±0,04	11,59±0,05	33,2±2,4	0,70±0,04	15,49±0,03	22,0±0,8	0,76±0,03	11,37±0,02			
	Горизонтальный лист											
<i>w-type</i>	—	—	—	18,0±0,6*	0,70±0,02	8,40±0,01*	25,0±1,4	0,78±0,05*	13,01±0,05*			
<i>viridis</i>	—	—	—	22,0±0,8	0,80±0,04*	11,73±0,02	30,5±0,9*	0,64±0,02	13,03±0,67*			
<i>xantha</i>	—	—	—	20,8±1,2	0,71±0,04	9,85±0,03*	20,5±1,4*	0,50±0,03*	6,82±0,03*			
<i>albina</i>	—	—	—	20,4±1,1	0,60±0,03*	8,16±0,02*	—	—	—			
Среднее значение	—	—	—	20,3±0,9	0,70±0,03	11,64±0,03	25,3±1,2	0,64±0,03	10,81±0,87			

Таблица 73. Характеристика генеративного побега у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной форме куста и ориентации листа

Фенотип	Форма куста и ориентация листа										
	Компактная			Полукомпактная			Раскидистая				
	Высота	Число/растение	Длина соцветия	Высота	Число/растение	Длина соцветия	Высота	Число/растение	Высота	Число/растение	Длина соцветия
	Вертикальный лист										
<i>w-type</i>	106,8±2,6	128,2±15,7*	20,0±0,8*	108,4±5,8	94,5±16,1*	22,9±1,1	113,5±1,8	112,9±13,3*	113,5±1,8	112,9±13,3*	21,5±0,3*
<i>viridis</i>	106,1±2,1	61,9±10,1	29,9±2,0*	110,3±6,3	59,5±11,5	23,3±1,1	123,7±4,9	66,8±14,0	123,7±4,9	66,8±14,0	26,8±1,1*
<i>xantha</i>	112,0±2,8*	63,2±7,3	22,2±0,9	105,5±4,1	54,4±10,1	24,8±0,8*	115,1±3,6	71,4±10,9	115,1±3,6	71,4±10,9	20,8±1,0*
<i>albina</i>	86,2±9,7*	35,3±8,8*	21,8±2,0	94,0±2,1*	15,3±7,7*	20,5±1,6	—	—	—	—	—
Среднее значение	102,8±4,3	72,2±6,9	23,5±1,4	104,6±4,6	55,9±11,4	22,9±1,2	117,4±3,4	83,7±12,7	117,4±3,4	83,7±12,7	23,0±0,8
	Повислый лист										
<i>w-type</i>	—	—	—	107,3±1,8	103,7±3,0*	22,4±0,5	100,8±2,6	59,1±9,7	100,8±2,6	59,1±9,7	22,0±0,8
<i>viridis</i>	98,9±5,8	62,2±3,3	22,5±1,2	108,2±6,1	51,0±7,8*	26,3±1,4*	111,7±1,2	72,9±8,3	111,7±1,2	72,9±8,3	16,5±0,7*
<i>xantha</i>	98,8±5,6	48,0±6,8	22,9±1,3	110,8±5,8	70,2±8,2	22,8±0,9	112,3±3,4	70,9±9,7	112,3±3,4	70,9±9,7	22,4±1,0
<i>albina</i>	104,8±3,4	59,1±7,3	21,2±1,4	108,0±4,3	49,1±9,6*	21,8±0,7	112,7±3,5	66,8±10,0	112,7±3,5	66,8±10,0	23,3±1,6
Среднее значение	100,8±4,9	56,4±5,8	22,2±1,3	108,6±4,5	68,5±7,2	23,3±0,9	109,4±2,7	67,4±9,4	109,4±2,7	67,4±9,4	21,1±1,0
	Горизонтальный лист										
<i>w-type</i>	—	—	—	111,7±2,1	72,8±5,4	16,5±1,1*	111,0±5,1	103,3±15,7	111,0±5,1	103,3±15,7	19,4±1,0
<i>viridis</i>	—	—	—	120,5±3,5*	70,0±9,4	25,2±0,9*	100,8±14,6	165,3±19,6	100,8±14,6	165,3±19,6	22,6±0,4*
<i>xantha</i>	—	—	—	109,4±3,6	81,4±5,4	22,6±1,1	118,9±16,7	118,9±16,7	118,9±16,7	118,9±16,7	18,6±0,6*
<i>albina</i>	—	—	—	111,3±3,5	69,4±10,9	18,5±1,5	—	—	—	—	—
Среднее значение	—	—	—	113,2±3,2	73,4±7,8	20,7±1,2	110,2±12,1	129,2±17,3	110,2±12,1	129,2±17,3	20,2±0,6

Таблица 74. Репродуктивная способность растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной форме куста и ориентации листа

Фенотип	Форма куста и ориентация листа								
	Компактная			Полукомпактная					
	Раскидистая			Раскидистая					
	Масса семян, г								
на растение	на побег	1000 шт.	на растение	на побег	1000 шт.	на растение	на побег	1000 шт.	
Вертикальный лист									
<i>w-type</i>	11,55±2,31	0,09±0,02	2,10±0,01	11,25±2,25*	0,11±0,02	1,88±0,02	16,25±3,25*	0,16±0,03	1,89±0,01*
<i>viridis</i>	10,35±2,11	0,15±0,03	2,09±0,02	11,25±2,25	0,14±0,03	1,80±0,01*	8,40±1,66	0,16±0,03	1,99±0,02*
<i>xantha</i>	9,35±1,87	0,15±0,03	2,22±0,02*	7,90±1,58	0,16±0,02	1,96±0,01*	7,70±1,54	0,11±0,02	2,27±0,02*
<i>albina</i>	3,35±0,67*	0,10±0,02	2,03±0,02*	1,55±0,31*	0,10±0,02	1,96±0,01*	–	–	–
Среднее значение	8,65±1,74	0,12±0,03	2,11±0,02	7,05±1,41	0,13±0,02	1,90±0,01	10,78±2,01	0,13±0,02	2,05±0,02
Повислый лист									
<i>w-type</i>	–	–	–	14,55±2,90*	0,14±0,03	1,77±0,01*	9,45±1,89	0,17±0,03	2,05±0,01*
<i>viridis</i>	8,35±1,67	0,15±0,03	1,95±0,01*	6,20±1,23	0,13±0,03	1,94±0,02	18,40±3,68*	0,07±0,01*	2,07±0,03
<i>xantha</i>	5,05±1,01	0,14±0,03	1,93±0,02*	9,05±1,81	0,14±0,02	2,00±0,02*	12,50±2,50	0,16±0,03	2,14±0,02*
<i>albina</i>	6,40±1,28	0,13±0,03	2,30±0,02*	7,10±1,42	0,15±0,03	2,01±0,01*	7,50±1,50*	0,12±0,02	2,10±0,01*
Среднее значение	6,60±1,32	0,14±0,03	2,06±0,02	9,22±1,84	0,14±0,03	1,93±0,02	11,96±2,40	0,13±0,02	2,10±0,02
Горизонтальный лист									
<i>w-type</i>	–	–	–	6,15±1,32	0,07±0,01*	2,07±0,03	13,55±2,71	0,15±0,03*	1,95±0,04*
<i>viridis</i>	–	–	–	12,00±2,40*	0,17±0,03	2,04±0,02	17,00±3,40	0,08±0,02	1,82±0,02
<i>xantha</i>	–	–	–	9,15±1,30	0,13±0,02	2,03±0,01*	7,80±1,57*	0,07±0,02	1,80±0,02*
<i>albina</i>	–	–	–	5,50±0,70*	0,09±0,01	2,18±0,01*	–	–	–
Среднее значение	–	–	–	8,20±1,40	0,12±0,02	2,08±0,02	12,78±2,56	0,10±0,02	1,86±0,02

Среди морфологических признаков, наиболее четко отражающих различия между растениями-ревертантами и диким типом, выделяются площадь листовой пластинки генеративного побега, количество генеративных побегов на растение и масса семян на растение. Эти различия связаны с морфотипами растений и четко проявляются у растений с компактной и раскидистой формами куста и при вертикальной и горизонтальной ориентациях листа. Другие признаки, как, например, размеры листа вегетативного побега, показатели семенной продуктивности (масса 1000 семян и масса семян на побег) у всех хлорофилл-дефектных фенотипов близки по значениям. Особый интерес в сравнительном анализе представляют характеристики контрастных значений признаков: минимальных и максимальных (табл. 75).

Так, признаки с максимальными размерами чаще всего встречаются у растений с повислой и вертикальной ориентацией листа при полукompактном и раскидистом кусте. У растений с компактным кустом и вертикальным листом соотношение частот признаков с максимальными и минимальными величинами составляет 1 : 1, с повислым листом, ассоциированным с полукompактным кустом, – 2 : 1, а с горизонтальным листом и раскидистым кустом – 1 : 3. «Минимизацию» признаков у растений со светочувствительным морфологическим типом (ассоциация горизонтального листа с раскидистым кустом) можно рассматривать как адаптивный механизм фотозащиты, базирующийся на специфических корреляциях развития отдельных органов растительных организмов.

Для отдельных фенотипических групп растений выявляется своя специфика. У растений *w-type* и *viridis*- и *xantha*-ревертантов ассоциация вертикального листа с той или иной формой куста характеризовалась максимальными размерами морфологических признаков, а сочетание повислого листа в основном с раскидистой формой куста – минимальными. *Albina*-ревертанты обнаруживают совершенно противоположную картину: максимальные значения присущи растениям с повислым листом и раскидистым или полукompактным кустом, минимальные – с вертикальным листом и компактным или полукompактным кустом.

Таблица 75. **Контрастные значения морфологических признаков у хлорофиллдефектных фенотипов с различными ассоциациями формы куста и ориентации листа**

Морфологический признак	Качественная характеристика	Значение признака	Ассоциация признаков форма куста/ориентация листа	Фенотип
Лист вегетативного побега				
Длина	длинный	42,1±2,8	раскидистый/вертикальный	<i>w-type</i>
	короткий	22,9±5,7	полукомпактный/вертикальный	<i>albina</i>
Ширина	широкий	0,6±0,06	полукомпактный/вертикальный	<i>albina</i>
		0,6±0,04	полукомпактный/горизонтальный	<i>viridis</i>
	узкий	0,5±0,03	полукомпактный/горизонтальный	<i>w-type</i>
		0,5±0,02	раскидистый/повислый	<i>viridis</i>
Площадь	большая	15,6±0,09	компактный/вертикальный	<i>viridis</i>
	малая	8,4±0,08	раскидистый/горизонтальный	<i>xantha</i>
		8,6±0,08	компактный/вертикальный	<i>albina</i>
Лист генеративного побега				
Длина	длинный	35,1±1,7	полукомпактный/повислый	<i>w-type</i>
	короткий	18,0±0,6	полукомпактный/горизонтальный	<i>w-type</i>
Ширина	широкий	0,8±0,2	раскидистый/вертикальный	<i>viridis</i>
	узкий	0,5±0,03	раскидистый/горизонтальный	<i>xantha</i>
Площадь	большая	15,7±0,02	полукомпактный/повислый	<i>albina</i>
	малая	7,8±0,1	полукомпактный/вертикальный	<i>albina</i>
Генеративный побег				
Высота побега	высокие	123,7±4,9	раскидистый/вертикальный	<i>viridis</i>
	низкие	86,2±9,7	компактный/вертикальный	<i>albina</i>
Количество побегов	много	165±19	раскидистый/горизонтальный	<i>viridis</i>
	мало	15±8	полукомпактный/вертикальный	<i>albina</i>
Длина соцветия	длинные	29,9±2,0	компактный/вертикальный	<i>viridis</i>
		16,5±0,7	раскидистый/повислый	<i>viridis</i>
	короткие	16,5±1,1	полукомпактный/горизонтальный	<i>w-type</i>
Признаки репродуктивной способности				
Масса семян, г/растение	большая	18,4±3,7	раскидистый/повислый	<i>viridis</i>
	малая	1,55±0,3	полукомпактный/вертикальный	<i>albina</i>
Масса семян, г/побег	большая	0,17±0,03	раскидистый/повислый	<i>w-type</i>
		0,17±0,03	полукомпактный/горизонтальный	<i>viridis</i>
	малая	0,07±0,01	полукомпактный/горизонтальный	<i>w-type</i>
		0,07±0,02	раскидистый/горизонтальный	<i>xantha</i>
Масса 1000 семян	большая	2,3±0,02	компактный/повислый	<i>albina</i>
	малая	1,77±0,01	полукомпактный/повислый	<i>w-type</i>

Анализ взаимосвязи морфологических признаков показал, что с ориентацией листа коррелирует большее, а с ориентацией побегов – меньшее их число (в 1,5–2 раза). Однако соотношение общего числа значимых коэффициентов корреляций в этих группах для всех фенотипов оказалось специфичным: *w-type* и *xantha*-ревертанты составили одну группу (1 : 2,3 соответственно с ориентацией побегов и листьев), *viridis*-ревертанты (1 : 1,4) и *albina*-ревертанты (1 : 1,2) – другую. У *w-type* и *xantha*-ревертантов морфологические признаки оказались скоррелированными чаще с ориентацией листа, у *viridis*- и *albina*-ревертантов – как с ориентацией листа, так и побегов (табл. 76).

Таблица 76. Значение коэффициентов корреляций между морфологическими признаками растений с супрессированной хлорофиллдефектностью с различной ориентацией побегов (ОП) и листьев (ОЛ)

Морфологический признак	Фенотип растений							
	<i>w-type</i>		<i>viridis</i>		<i>xantha</i>		<i>albina</i>	
	ОП	ОЛ	ОП	ОЛ	ОП	ОЛ	ОП	ОЛ
Высота растений		-0,62	-0,82	-0,83		-0,65	-0,99	
Количество генеративных побегов	-0,98	0,82	-0,75	-0,99	-0,56	-0,98	-0,83	
Длина листа		-0,65	-0,53	0,79				-0,92
Ширина листа	0,61	-0,99	0,82	0,99	0,95	0,61	0,85	-0,52
Площадь листа		-0,89		0,92	0,66			-0,77
Масса семян на растении		-0,53	-0,99	-0,99		-0,99	-0,76	-0,99
Мощность куста				-0,99		-0,90		
Длина соцветия		-0,90	-0,96	-0,98		-0,51	-0,72	-0,93
Окраска узла			0,93	0,99		-0,89	-0,91	0,90
Ориентация побегов		-0,93		0,76				
Ориентация листа	-0,93		0,76					
Общее число коррелирующих пар признаков	4	9	8	11	3	7	6	7

Примечание. Значения коэффициентов корреляции (r) достоверны при $p < 0,05$. Недостоверные коэффициенты в ячейке отсутствуют.

Изучение изменчивости большого числа признаков, как правило, затруднено. В таких случаях в исследованиях используется метод главных компонент. Он позволяет заменить взаимосвязанные признаки на некоторую совокупность некоррелированных группи-

ровок (главных компонент) и проанализировать не отдельные показатели, а их группы, отражающие основные направления исследуемого процесса. Каждый признак вносит определенный вклад в главную компоненту, и количественно эта величина оценивается по так называемому «весовому коэффициенту» признака или нагрузке (Дубров, 1978). В зависимости от сочетания признаков с учетом величин нагрузок каждая компонента получает соответствующее название.

Анализ полученных данных показал, что количество главных компонент и величина их обобщенной дисперсии специфичны для различных форм куста и ориентации листа. Для растений с компактной и раскидистой форм куста выявлена одна главная компонента, на долю которой приходится соответственно 94 и 86% обобщенной дисперсии с одинаковыми величинами нагрузок на большинство изученных показателей.

При полукомпактной форме куста выделены три главные компоненты, на долю которых приходится 80% обобщенной дисперсии (соответственно 38, 27 и 15%). Наибольшую величину нагрузки в первой компоненте имеет показатель «масса семян на растение»; во второй – показатели «длина и ширина листа вегетативного побега», «длина соцветия»; в третьей – «длина и ширина листа генеративного побега» и «высота генеративных побегов» (табл. 77).

У растений с вертикальной и повислой формами листа выделены две главные компоненты, на долю которых приходится 91–92% обобщенной дисперсии (соответственно 10–11 и 80–82%). Наибольшую величину нагрузки в первой компоненте при обоих типах листа имеет показатель «масса семян на растение», а при вертикальной форме листа – и «число генеративных побегов на растение». Во второй компоненте величины нагрузок близки по значениям. При горизонтальной форме листа выявлена только одна главная компонента, на долю которой приходится 94% обобщенной дисперсии с одинаковыми величинами нагрузок на большинство изученных показателей (табл. 78).

Анализ расположения хлорофиллдефектных фенотипов овсяницы луговой с учетом формы куста в пространстве двух компонент (масса семян на растение и ширина листа вегетативного побега) выявил существенный разброс нагрузок по массе семян на

растение и только для полукомпактного куста. Наименьшей величиной нагрузки по первой компоненте обладают фенотип *albina* с вертикальным и горизонтальным типом листьев и *w-type* с горизонтальным листом. По второй компоненте разброс данных у всех фенотипов меньше и выделяется *w-type* с горизонтальным листом (рис. 37, А).

Таблица 77. Величины нагрузок морфологических признаков у растений *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации в пространстве генеративных побегов

Морфологический признак	Ориентация в пространстве генеративных побегов				
	Компактная	Полукомпактная			Раскидистая
	Компонента 1	Компонента 1	Компонента 2	Компонента 3	Компонента 1
Длина листа вегетативного побега	0,30	0,23	0,45	-0,03	0,30
Ширина листа вегетативного побега	0,30	-0,02	-0,48	0,27	0,30
Площадь листа вегетативного побега	0,29	0,37	0,18	0,22	0,30
Длина листа генеративного побега	0,29	0,29	-0,08	-0,50	0,30
Ширина листа генеративного побега	0,29	0,27	-0,18	0,43	0,30
Площадь листа генеративного побега	0,29	0,34	-0,15	-0,33	0,30
Высота генеративного побега	0,30	0,30	0,21	0,43	0,30
Число генеративных побегов	0,26	0,28	0,33	-0,04	0,23
Длина соцветия	0,29	0,28	-0,40	0,05	0,30
Масса семян на растении	0,27	0,39	0,10	-0,03	0,25
Масса семян на побег	0,29	0,33	-0,34	0,08	0,26
Масса 1000 семян	0,30	-0,20	0,18	0,36	0,30
Доля обобщенной дисперсии (%)	94	38	27	15	86

Оценка расположения исследованных фенотипов овсяницы луговой в пространстве выделенных компонент с учетом ориентации листа также выявила существенный разброс нагрузок по массе семян на растение при вертикальном и повислом листьях. Для

вертикального листа по первой компоненте наименьшими значениями величины нагрузки обладает *w-type* со всеми формами куста, наибольшей – *albina* с компактным и полукompактным кустом. По второй компоненте дифференциация фенотипов незначительна, за исключением фенотипа *albina* с раскидистым кустом и вертикальным листом (рис. 37, Б) и *w-type* с компактным кустом и повислым листом (рис. 37, В).

Таблица 78. Величины нагрузок морфологических признаков у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации в пространстве листа генеративного побега

Морфологический признак	Ориентация в пространстве листа генеративного побега				
	Вертикальная		Повислая		Горизонтальная
	Компонента 1	Компонента 2	Компонента 1	Компонента 2	Компонента 1
Длина листа вегетативного побега	-0,19	0,31	0,30	-0,22	0,29
Ширина листа вегетативного побега	0,24	0,30	0,31	0,13	0,29
Площадь листа вегетативного побега	-0,11	0,30	0,31	-0,07	0,30
Длина листа генеративного побега	0,18	0,30	0,28	0,21	0,30
Ширина листа генеративного побега	0,17	0,31	0,30	0,07	0,29
Площадь листа генеративного побега	0,20	0,29	0,29	0,28	0,29
Высота генеративного побега	0,03	0,32	0,31	-0,07	0,29
Число генеративных побегов	-0,61	0,21	0,26	-0,39	0,27
Длина соцветия	0,17	0,30	0,30	0,21	0,30
Масса семян на растение	-0,60	0,23	0,19	-0,71	0,28
Масса семян на побег	0,05	0,28	0,28	0,29	0,27
Масса 1000 семян	0,18	0,30	0,30	0	0,29
Доля обобщенной дисперсии (%)	11	80	81	10	94

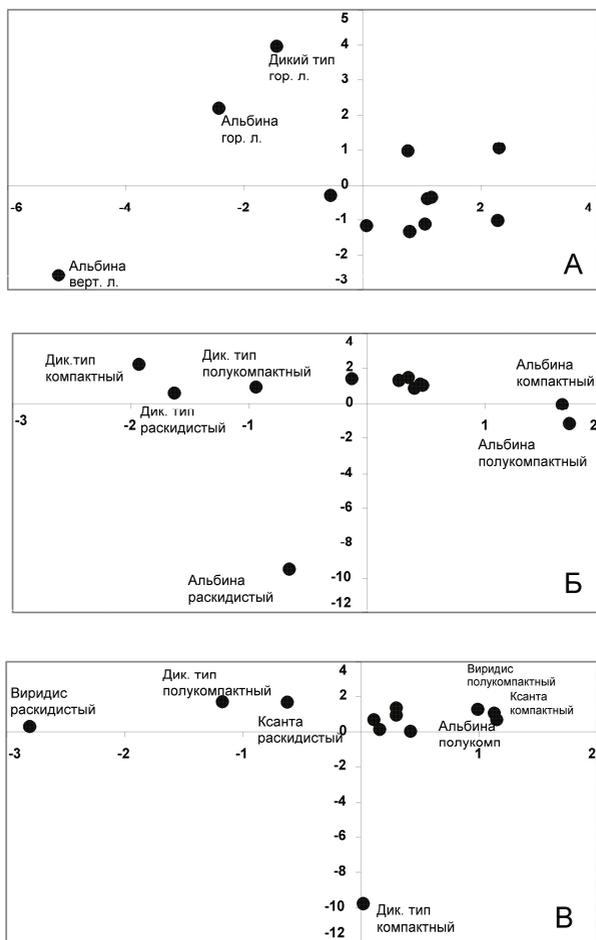


Рис. 37. Расположение хлорофиллдефектных фенотипов овсяницы луговой с различной ориентацией побегов и листьев в пространстве двух компонент:

по оси абсцисс – величина весового коэффициента (нагрузки) признака для каждой компоненты; А, Б, В – компонента «масса семян на растение». По оси ординат – величина весового коэффициента (нагрузки) признака для каждой компоненты; А – компонента «ширина листа вегетативного побега» для растений с полупактным кустом; Б – компонента «высота генеративного побега» для растений с вертикальным листом; В – компонента «площадь листа вегетативного побега» для растений с повислым листом

Таким образом, проведенное исследование показало, что морфологические признаки, характеризующие ориентацию в пространстве побегов и листьев, образуют между собой различные ассоциации. Архитектоника растений в целом определяется их генотипическими особенностями, и в нашем случае – супрессированной хлорофиллдефектностью.

Выявлены характерные взаимосвязи ориентации в пространстве побегов и листьев с другими морфологическими показателями растений. Специфичность их выражается в корреляциях развития отдельных органов растительного организма и «минимизации» признаков у растений со светочувствительным морфологическим типом (ассоциация горизонтального листа с раскидистым кустом). Эти морфологические особенности развития отдельных органов растений, по нашему мнению, можно рассматривать как морфологический уровень, обеспечивающий защиту от избыточного поглощения фотонов.

Морфологические признаки (ориентация в пространстве побегов и листьев) функционально связаны между собой по принципу максимальной надежности биологических систем фотосинтезирующего организма и, вероятнее всего, в отношении баланса абсорбции и сброса избыточно поглощенных фотонов, обеспечивая этим высокую экологическую устойчивость (фотоустойчивость) и жизнеспособность растений в целом.

Поскольку морфологический уровень фотопротекции естественно неразрывен с физиологическими процессами растений, он, как представляется, должен быть взаимосвязан с функциональными свойствами растений и, прежде всего, с ролью пигментов в этом процессе (в реализации механизмов фотозащиты).

3.2. Функциональная роль пигментов у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев

В предыдущем разделе проанализирован морфологический уровень фотозащиты и показан его вклад в формирование фотопротекторных свойств растений с супрессированной хлорофиллдефектностью. Поскольку морфологический уровень фотопротекции

естественно неразрывен с физиологическими процессами растений, он, как представляется, должен быть связан, прежде всего, с функциональной ролью пигментов в этом процессе – в реализации механизмов фотозащиты. В частности, остается неясным, как тот или иной морфологический тип связан с содержанием основных форм пигментов у хлорофиллдефектных растений, как действует естественный отбор в отношении этих признаков, какова стратегия их фотозащиты. Учитывая это, нами был изучен пигментный состав у растений-ревертантов, характеризующихся различной ориентацией в пространстве листьев и побегов.

Анализ полученных данных показал, что у овсяницы луговой содержание зеленых пигментов вполне определенно связано с морфологическим типом растений (табл. 79). Так, содержание хлорофиллов *a* в 1,3 раза и *b* в 1,5 раза меньше (среднее значение по группе фенотипов) у растений с компактным кустом и вертикальной ориентацией листа по сравнению с раскидистым кустом и горизонтальным листом (здесь и далее обсуждаются только статистически значимые различия). Анализ количественного содержания зеленых пигментов в морфологических группах, различающихся по форме куста и ориентации листа, показывает, что оно ниже у растений с вертикальным и повислым листом и выше с горизонтальным при всех морфологических типах куста. В целом представленные результаты отчетливо демонстрируют, что растения с фотопротекторным морфологическим типом, у которых защита от поглощения избыточной световой энергии обеспечена морфологическими особенностями, содержат меньше зеленых пигментов, чем с фоточувствительным.

Ведущую роль в формировании фотопротекторных свойств играет ориентация в пространстве листовой пластинки, а ориентация побегов дополняет ее светозащитную функцию. У *w-type* наибольшее содержание хлорофиллов *a* и *b* обнаруживалось при комбинации раскидистого куста и горизонтальной ориентации листа, а наименьшее – при комбинации компактного куста и вертикального листа. Содержание пигментов у растений-ревертантов зависит от степени хлорофиллдефектности, определяющей ту или иную фоточувствительность морфологического типа. У *viridis*-ревертантов отмечено повышение содержания только зеленых пигментов

Таблица 79. Содержание пигментов (мг/г сырой массы) у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев

Фенотип	Ориентация побегов и листьев											
	Компактная					Полукомпактная					Раскидистая	
	Хлорофилл		Кароти- ноиды	Хлорофилл		Кароти- ноиды	Хлорофилл		Кароти- ноиды	Хлорофилл		Кароти- ноиды
	a	b		a	b		a	b				
Вертикальный лист												
<i>w-type</i>	0,93±0,01*	0,39±0,01*	0,28±0,01*	1,30±0,11	0,56±0,05	0,40±0,08	1,10±0,18	0,44±0,03	0,36±0,08			
<i>viridis</i>	1,22±0,03*	0,48±0,01*	0,38±0,02	1,13±0,01	0,45±0,04	0,30±0,04	1,07±0,01	0,44±0,01	0,19±0,01*			
<i>xantha</i>	1,15±0,11	0,46±0,03	0,32±0,02	1,15±0,04	0,46±0,02	0,30±0,01	1,18±0,08	0,56±0,13	0,36±0,08			
<i>albina</i>	1,14±0,01	0,39±0,01*	0,41±0,01*	—	—	—	—	—	—			
Среднее значение	1,11±0,04	0,43±0,02	0,35±0,02	1,19±0,05	0,49±0,04	0,33±0,04	1,12±0,09	0,48±0,06	0,30±0,06			
Повислый лист												
<i>w-type</i>	1,04±0,02*	0,46±0,02	0,27±0,01*	1,10±0,06	0,48±0,02	0,29±0,02	0,92±0,01*	0,39±0,01*	0,27±0,01			
<i>viridis</i>	1,43±0,07*	0,60±0,03*	0,30±0,03	1,38±0,05*	0,59±0,04*	0,29±0,02	1,40±0,01*	0,60±0,01*	0,26±0,01*			
<i>xantha</i>	1,27±0,08	0,49±0,03	0,31±0,02	1,08±0,05	0,42±0,01*	0,27±0,02	1,11±0,11	0,44±0,04	0,30±0,05			
<i>albina</i>	1,11±0,11	0,43±0,05	0,36±0,01*	1,25±0,07	0,48±0,03	0,33±0,02	1,36±0,06*	0,50±0,03	0,38±0,01*			
Среднее значение	1,21±0,04	0,50±0,03	0,31±0,02	1,20±0,06	0,49±0,02	0,30±0,02	1,20±0,05	0,48±0,03	0,30±0,02			
Горизонтальный лист												
<i>w-type</i>	—	—	—	—	—	—	1,28±0,01*	0,52±0,01*	0,29±0,01*			
<i>viridis</i>	1,22±0,17	0,63±0,27	0,31±0,04	1,26±0,12	0,56±0,07	0,26±0,03	1,49±0,01*	0,66±0,01*	0,41±0,01*			
<i>xantha</i>	1,33±0,05	0,50±0,02	0,37±0,03	1,17±0,11	0,46±0,05	0,29±0,03	1,58±0,01*	0,60±0,01	0,41±0,01*			
<i>albina</i>	—	—	—	1,13±0,07	0,50±0,03	0,30±0,02	—	—	—			
Среднее значение	1,28±0,11	0,57±0,14	0,34±0,03	1,19±0,10	0,51±0,07	0,28±0,03	1,45±0,01	0,59±0,01	0,37±0,01			

при сочетании всех типов куста с повислой ориентацией листа. А у *albina*-ревертантов рост концентрации зеленых и/или желтых пигментов наблюдался не только при раскидистом кусте и повислом листе, но и компактном кусте в сочетании с вертикальным и повислым листом. У двух последних светоустойчивых морфологических типов увеличивается только количество каротиноидов. При этом содержание пигментов у *viridis*- и *albina*-ревертантов со светочувствительным морфологическим типом увеличилось на большую величину (25–27%) по сравнению с фотопротекторными морфологическими типами (10–17%). *Xantha*-ревертанты имели содержание зеленых и желтых пигментов на уровне среднего значения для данного морфологического типа растений. Наиболее важным из полученных результатов представляется тот факт, что у хлорофиллдефектных растений даже под прикрытием первичной мутации геном-супрессором расширяется спектр фоточувствительных морфологических типов с соответствующим увеличением концентрации зеленых и/или желтых пигментов. В качестве активных факторов фотозащиты вегетирующего растения участвуют не только каротиноиды, как это общеизвестно, но и хлорофиллы *a* и *b*. При глубоких дефектах фотосинтетического аппарата (*albina*-ревертанты) роль каротиноидов в осуществлении фотозащиты возрастает.

Полагая, что механизм фотопротекции представляет собой важную составляющую в адаптивном процессе фотосинтезирующих организмов, тесно связанную не только с фотоингибированием, но и с выживаемостью, использовали метод анализа содержания пигментов, основывающийся на использовании отклонений от среднего значения экспериментальной выборки. Отклонения от средней арифметической (+) или (–) графически представлены прямыми (линии рассеяния, тренды) с разными углами наклона к оси абсцисс, которые отчетливо характеризуют различия между хлорофиллдефектными фенотипами. Содержание зеленых пигментов и каротиноидов у *xantha*-ревертантов при всех формах куста и ориентации листа ближе к средней арифметической, и это отражается в меньшей крутизне принадлежащих им линейных трендов. Напротив, содержание пигментов отличается от средней у *viridis*- и особенно резко у *albina*-ревертантов и *w-type* с соответствующими им крутыми трендами (рис. 38, А–Е). Если рассматривать эти

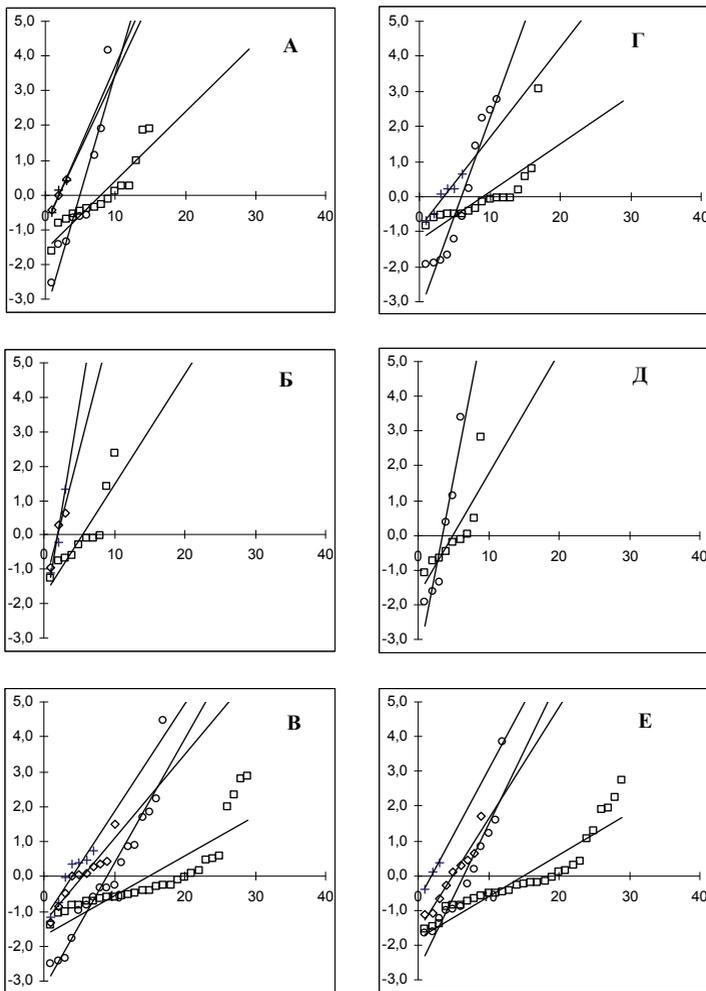


Рис. 38. Соотношение содержания пигментов $(a + b)/c$ (мг/г сырой массы) у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической: здесь и на рис. 39, 40: А, Б, В – соответственно компактный, полукомпактный и раскидистый куст; Г, Д, Е – соответственно вертикальная, повислая и горизонтальная ориентация листа; + – *w-type*, o – *viridis-*, □ – *xantha-*, ◇ – *albina-* ревертанты.

По оси абсцисс – количество растений

данные как отражение специфического светозащитного адаптивного состояния, находящегося под контролем естественного отбора (стабилизирующая форма), то *xantha*- и *viridis*-ревертантам стабилизирующий отбор благоприятствует в большей мере, чем *albina*-ревертантам и *w-type*. Хорошо известно, что стабилизирующий отбор благоприятствует особям, чьи количественные признаки близки к средней популяционной (Шмальгаузен, 1969). Действие стабилизирующего отбора проявляется и в частотах хлорофиллдефектных фенотипов: 0,49, 0,25 и 0,13 соответственно для *xantha*-, *viridis*- и *albina*-ревертантов. Для всех хлорофиллдефектных фенотипов стабилизирующий отбор благоприятствует растениям с повислым листом и полукомпактной формой куста, имеющим самые пологие линейные тренды (рис. 38, Б, Д), что отражается и в их частоте в экспериментальном пуле (0,52 и 0,56 соответственно).

Поскольку за фотозащиту ответственны не только физиологические системы, но и, как показывают представленные данные, морфологический тип растения, вполне возможно, что значительная часть естественных или индуцированных мутаций будет прямо или косвенно влиять на фотопротекторные механизмы клетки, растения, популяции. Более того, если хлоропласт и хлорофиллы – первичные мишени для поглощаемой энергии, то количество избыточно поглощенных квантов света будет в существенной степени определяться, прежде всего, морфологическими типами растений, функциональная адекватность которых содержанию пигментов очень велика.

Таким образом, представленные данные отчетливо демонстрируют, что все три признака – хлорофиллдефектность, морфологический тип растения и содержание пигментов – функционально связаны между собой, составляя единый фотопротекторный ансамбль растения, и находятся под контролем естественного отбора (его стабилизирующей формы).

Наряду с определением общего содержания пигментов у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, отличающихся ориентацией листа и побегов, нами проанализировано распределение их между светособирающими антенными комплексами (ССК) и реакционными центрами фотосистем I и II (РЦ). Данный подход

редко используется в исследованиях по изучению фотопротекторных свойств растений (Thornber, 1975; Kurita-Hotta et al., 1987; Lichtenthaler, 1987; Maslova, Popova, 1993), хотя достаточно прост и четко позволяет проследить стратегию их фотозащиты, обеспечивающую выживаемость и жизнеспособность. Определенный уровень светоустойчивости растений может сформироваться за счет изменения концентрации и перераспределения зеленых пигментов в ССК и/или в РЦ и функциональной активности различных каротиноидов (Demmig-Adams, 1990; Gilmore, 1997; Hong et al., 1999; Ritz et al., 1999; Xu et al., 2000; Behera, Choudhury, 2001; Müller et al., 2001; Tracewell et al., 2001).

Отметим, что в ССК содержатся вспомогательные пигменты (хлорофилл *b*, каротиноиды) и часть хлорофилла *a*, выполняющие функции поглощения и передачи энергии в РЦ, а также сброса избыточно поглощенной энергии, в РЦ хлорофилл *a* участвует в фотохимической фиксации энергии.

Анализ содержания зеленых пигментов (среднее значение по группе фенотипов) в ССК растений, различающихся по форме куста и ориентации листа, показывает, что оно зависит от морфологического типа листа и возрастает в ряду: вертикальный – повислый – горизонтальный лист при всех морфологических типах куста (табл. 80). Результаты отчетливо показывают, что растения с фотопротекторным морфологическим типом листа содержат в ССК меньше зеленых пигментов (в 1,3 раза), чем с фоточувствительным.

Содержание хлорофилла *a* в РЦ, как и общее количество каротиноидов в ССК, увеличено только у самого светочувствительного морфологического типа (горизонтальный лист и раскидистый куст): в ССК – в 1,3 раза и несколько меньше в РЦ – 1,2 раза. Отношение содержания пигментов РЦ к ССК является достаточно стабильной величиной у всех групп морфотипов и колеблется от 0,38 до 0,47.

Представленные результаты позволяют констатировать, что растения, как правило, активнее используют механизмы сброса избыточно поглощенной энергии, с соответствующим увеличением количества зеленых пигментов в ССК, но не передачи и последующей фиксации ее в РЦ. У растений с фоточувствительными

Таблица 80. Содержание пигментов (мг/г сырой массы) у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью в светособирающих комплексах (ССК) и реакционных центрах фотосистем I и II (РЦ ФС I, II) при различной ориентации побегов и листьев

Фенотип	Ориентация побегов и листьев											
	Компактная				Полукомпактная				Раскидистая			
	ССК	Хлорофилл <i>a + b</i>	РЦ ФС I, II	Хлорофилл <i>a</i>	ССК	Хлорофилл <i>a + b</i>	РЦ ФС I, II	Хлорофилл <i>a</i>	ССК	Хлорофилл <i>a + b</i>	РЦ ФС I, II	Хлорофилл <i>a</i>
	Вертикальный лист											
<i>w-type</i>	0,28±0,01*	0,86±0,01*	0,46±0,01*	0,40±0,08	1,24±0,13*	0,65±0,12	0,36±0,08	0,97±0,10	0,97±0,10	0,57±0,13		
<i>viridis</i>	0,38±0,02	1,06±0,02*	0,63±0,04	0,30±0,04	1,03±0,08	0,61±0,07	0,39±0,01	0,97±0,01	0,97±0,01	0,54±0,01		
<i>xantha</i>	0,32±0,02	1,09±0,07*	0,72±0,08	0,30±0,01	0,98±0,02	0,59±0,02	0,36±0,08	1,22±0,30	1,22±0,30	0,51±0,02		
<i>albina</i>	0,41±0,01*	0,86±0,01*	0,67±0,01	—	—	—	—	—	—	—		
Среднее значение	0,35±0,02	0,97±0,03	0,62±0,04	0,33±0,04	1,02±0,07	0,63±0,07	0,37±0,06	1,05±0,14	1,05±0,14	0,54±0,05		
	Повислый лист											
<i>w-type</i>	0,27±0,01*	1,02±0,05	0,49±0,05*	0,29±0,02	1,06±0,06	0,52±0,05	0,27±0,01	0,87±0,01*	0,87±0,01*	0,44±0,01*		
<i>viridis</i>	0,30±0,03	1,31±0,19	0,71±0,08	0,29±0,02	1,29±0,07*	0,68±0,06	0,26±0,01	1,31±0,10*	1,31±0,10*	0,68±0,01*		
<i>xantha</i>	0,31±0,02	1,08±0,08	0,68±0,05	0,27±0,02	0,92±0,04*	0,57±0,03	0,30±0,05	0,97±0,13	0,97±0,13	0,58±0,08		
<i>albina</i>	0,36±0,01*	0,94±0,11	0,60±0,06	0,33±0,02	1,05±0,07	0,68±0,06	0,38±0,01*	1,11±0,06	1,11±0,06	0,75±0,03*		
Среднее значение	0,31±0,02	1,09±0,11	0,62±0,06	0,30±0,02	1,08±0,06	0,61±0,05	0,30±0,02	1,07±0,05	1,07±0,05	0,61±0,03		
	Горизонтальный лист											
<i>w-type</i>	—	—	—	—	—	—	0,29±0,01*	1,14±0,01*	1,14±0,01*	0,66±0,01*		
<i>viridis</i>	0,31±0,04	1,38±0,09	0,46±0,04*	0,26±0,03	1,49±0,06*	0,58±0,06	0,41±0,01*	1,46±0,01*	1,46±0,01*	0,70±0,01*		
<i>xantha</i>	0,37±0,03	1,10±0,04*	0,73±0,07*	0,29±0,03	1,00±0,14*	0,63±0,07	0,41±0,01*	1,31±0,01	1,31±0,01	0,87±0,01*		
<i>albina</i>	—	—	—	0,30±0,02	1,16±0,01*	0,57±0,01*	—	—	—	—		
Среднее значение	0,34±0,03	1,24±0,06	0,60±0,05	0,28±0,03	1,27±0,06	0,66±0,04	0,37±0,01	1,30±0,01	1,30±0,01	0,74±0,01		

морфологическими типами задействованы оба пути. Специфическая функция зеленых пигментов (хлорофиллов *a* и *b*) в процессе тепловой диссипации избыточно поглощенной энергии, обеспечивающей защиту от фотоингибирования, показана в ряде исследований (Horton et al., 1991; Searle et al., 1991; Hartel et al., 1996; Chow et al., 2000; Gilmore, Ball, 2000).

Анализ содержания пигментов в ССК и РЦ на основе использования отклонений от среднего значения экспериментальной выборки показал, что у растений всех фенотипов и при всех формах ориентации побегов и листьев оно ближе к среднему в РЦ. У *xantha*-ревертантов при всех формах ориентации побегов и листьев оно ближе к средней арифметической, по сравнению как с *w-type*, так и другими хлорофиллдефектными фенотипами. Это отражается в меньшей крутизне принадлежащих им линейных трендов. Напротив, содержание пигментов особенно резко отличается от среднего значения у растений *w-type*, *albina*- и *viridis*-ревертантов с соответствующими им крутыми трендами (рис. 39, 40).

Если рассматривать эти данные как отражение специфического светозащитного адаптивного состояния, находящегося под контролем естественного отбора (стабилизирующей формы), то в отношении растений с различными хлорофиллдефектными фенотипами и определенной ориентацией побегов и листьев наблюдается специфичность. Стабилизирующий отбор действует более жестко у *xantha*-ревертантов с полукомпактным кустом и повислым листом (рис. 39, 40, Б, Д); у *viridis*-ревертантов – с компактным кустом и вертикальным листом (рис. 39, 40, А, Г). Содержание пигментов в РЦ характеризуется большей стабилизацией признака, чем в ССК. Во всех случаях они имеют более пологие линейные тренды.

Роль каротиноидов: лютеина, β -каротина и особенно пигментов виолосантинового цикла, обеспечивающих нефотохимическую диссипацию избытка поглощенной энергии в виде тепла, в процессах фотопротекции хорошо изучена (Demmig-Adams, 1990; Gilmore, 1997; Hong et al., 1999; Ritz et al., 1999; Bouvier et al., 2000; Xu et al., 2000; Behera, Choudhury, 2001; Müller et al., 2001; Tracwell et al., 2001).

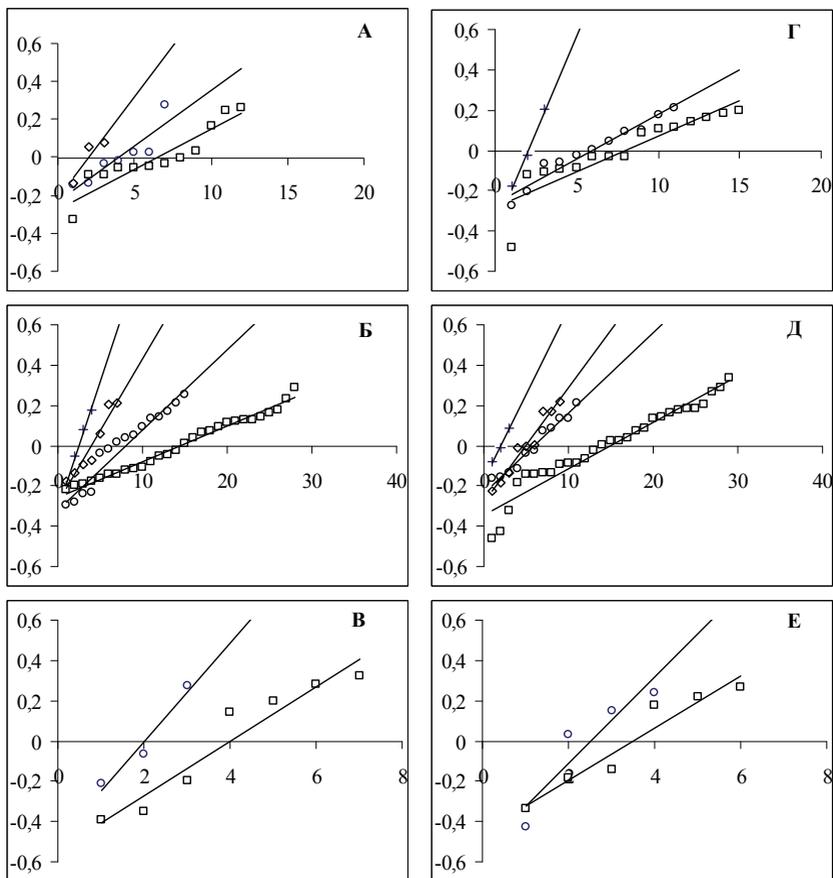


Рис. 39. Содержание пигментов ($a + b$) в ССК у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической

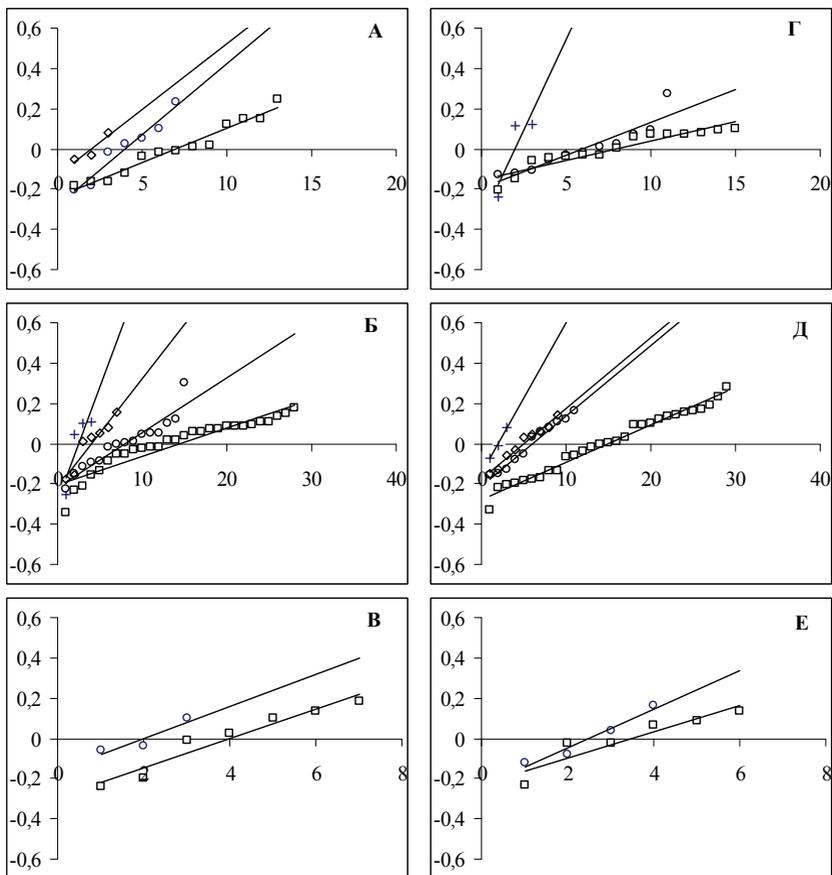


Рис. 40. Содержание хлорофилла *a* в РЦ у растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью в форме ранжированных отклонений от средней арифметической

В настоящей работе выполнен качественный и количественный анализ пула каротиноидов у отдельных морфологических типов растений, практически не представленный в литературе. С рассматриваемой нами позиции (особенности ориентации в пространстве побегов и листьев) наиболее информативными оказались данные, характеризующие общий пул ксантофиллов, количество неоксантина и значение коэффициента дезоксидации (КДЭ).

Количество ксантофиллов в отличие от зеленых пигментов оказалось зависимым не только от ориентации листа в пространстве, но и в большей степени от формы куста. По сравнению с компактным кустом оно увеличилось в 1,1–1,3 раза у растений с определенными ассоциациями ориентации в пространстве побегов и листьев: с раскидистым и полукомпактным кустом, при всех видах ориентации листа; с компактным и полукомпактным кустом и только с горизонтальным листом; раскидистым кустом и уже с повислым листом (табл. 81).

Таким образом, увеличение количества ксантофиллов происходит у растений с более светоустойчивыми морфологическими типами (вертикальный лист и полукомпактный куст) по сравнению с зелеными пигментами (горизонтальный лист и компактный куст).

На баланс между сбором фотонов и энергетическим их рассеиванием в условиях освещения различной интенсивности влияет не только изменение в составе и количестве ксантофиллов в ССК, а прежде всего – количество антераксантина и зеаксантина, отнесенное к общей сумме антераксантина, зеаксантина и виолаксантина, характеризующее уровень дезоксидации (КДЭ). Величина его зависела, так же, как и общего пула ксантофиллов, от формы куста и увеличивалась у растений с полукомпактным кустом (с вертикальными и повислыми листьями) по сравнению с компактным и сохранялась на том же уровне у особей с раскидистым кустом. У растений с горизонтальным листом КДЭ увеличен и при компактной форме куста. Следует также отметить у этого морфотипа высокий уровень (в 1,5–3 раза выше по сравнению с фотоустойчивыми морфологическими типами) содержания неоксантина. С одной стороны, он сам активный антиоксидант, а с другой, является субстратом для синтеза аскорбиновой кислоты, и увеличение его количества может свидетельствовать об активной работе антиоксидантных систем (Conklin et al., 1996, 2000; Havaux, Niyogi, 1999; Müller-Moulé et al., 2003, 2004; Schwartz et al., 2003).

Таблица 81. Содержание каротиноидов у растений овсяницы луговой с различной ориентацией побегов и листьев

Каротиноиды	Ориентация побегов и листьев		
	Компактная	Полукомпактная	Раскидистая
	Вертикальный лист		
Каротин	0,073±0,012	0,089±0,008	0,100±0,016
Лютеин	0,105±0,011	0,138±0,018	0,111±0,008
Антероксантин+зеаксантин	0,181±0,019	0,221±0,021	0,191±0,015
Виолуксантин	0,043±0,004	0,045±0,005	0,038±0,005
Сумма пигментов виолуксантинового цикла	0,224±0,015	0,266±0,013	0,229±0,010
КДЭ	0,801±0,011	0,831±0,012	0,834±0,017
Неоксантин	0,037±0,008	0,028±0,003	0,029±0,004
Сумма ксантофиллов	0,261±0,014	0,294±0,009	0,258±0,008
Сумма пигментов виолуксантинового цикла/Chl <i>a</i> в ССК	0,42	0,50	0,40
A+Z/Chl <i>a</i> в ССК	0,34	0,42	0,34
	Повислый лист		
Каротин	0,068±0,011	0,095±0,019	0,085±0,006
Лютеин	0,094±0,014	0,119±0,011	0,108±0,009
Антероксантин+зеаксантин	0,158±0,016	0,208±0,019	0,214±0,017
Виолуксантин	0,036±0,007	0,041±0,005	0,038±0,004
Сумма пигментов виолуксантинового цикла	0,194±0,011	0,249±0,012	0,252±0,010
КДЭ	0,814±0,012	0,835±0,013	0,849±0,012
Неоксантин	0,022±0,005	0,039±0,004	0,027±0,003
Сумма ксантофиллов	0,216±0,016	0,288±0,009	0,279±0,008
Сумма пигментов виолуксантинового цикла/Chl <i>a</i> в ССК	0,33	0,42	0,43
A+Z/Chl <i>a</i> в ССК	0,27	0,35	0,36
	Горизонтальный лист		
Каротин	0,101±0,016	0,081±0,023	–
Лютеин	0,100±0,001	0,115±0,016	–
Антероксантин+зеаксантин	0,197±0,012	0,205±0,016	–
Виолуксантин	0,040±0,009	0,044±0,009	–
Сумма пигментов виолуксантинового цикла	0,237±0,010	0,249±0,013	–
КДЭ	0,831±0,010	0,823±0,009	–
Неоксантин	0,052±0,011	0,089±0,005	–
Сумма ксантофиллов	0,289±0,011	0,338±0,010	–
Сумма пигментов виолуксантинового цикла/Chl <i>a</i> в ССК	0,35	0,33	
A+Z/Chl <i>a</i> в ССК	0,29	0,27	

Полученные результаты позволяют предположить, что у светочувствительных морфологических типов растений пул пигментов ксантофиллового цикла и зеленых пигментов не обеспечивает необходимую защиту фотосинтетического аппарата от избытка поглощенной энергии, что ведет к росту различных форм окислителей и инициирует работу антиоксидантов. Растения со светоустойчивыми морфологическими типами (с компактным и полукompактным кустом и вертикальными и повислыми листьями) имеют и больший пул компонентов ксантофиллового цикла на единицу хлорофилла *a* в ССК, и способны быстрее конвертировать этот пул в антераксантин и зеаксантин при высокой освещенности.

Анализ отклонений суммы ксантофиллов, КДЭ и неоксантина от средних значений экспериментальной выборки показал, что эти показатели ближе к среднему значению в ряду вертикальный, повислый и горизонтальный лист при всех формах куста (рис. 41–43). Содержание хлорофилла *a* в РЦ и неоксантина характеризуется большей стабилизацией признаков, чем суммы ксантофиллов и КДЭ (рис. 43). Создается впечатление, что естественный отбор контролирует более жестко специализированные механизмы (фотохимическую фиксацию энергии фотонов и действие антиоксидантной системы) по сравнению с менее специализированными механизмами (виолоксантиновый цикл, процесс поглощения, перераспределения и сброса световой энергии в ССК).

Представленные данные позволяют высказать предположение о существовании нескольких взаимосвязанных между собой уровней морфо-физиологической фотозащиты растений. Первый обеспечивается ориентацией в пространстве побегов и адекватным изменением содержания ксантофиллов, второй – ориентацией в пространстве листовой пластинки и адекватным изменением количества зеленых пигментов в светособирающем антенном комплексе, третий связан со светочувствительными морфологическими типами и характеризуется увеличением фотосинтетической емкости реакционных центров и активной работой антиоксидантов. При этом выявляется синергизм, множество и сложность различных фотозащитных механизмов, обеспечивающих адаптацию растений с различным уровнем светоустойчивости к изменяющимся условиям среды.

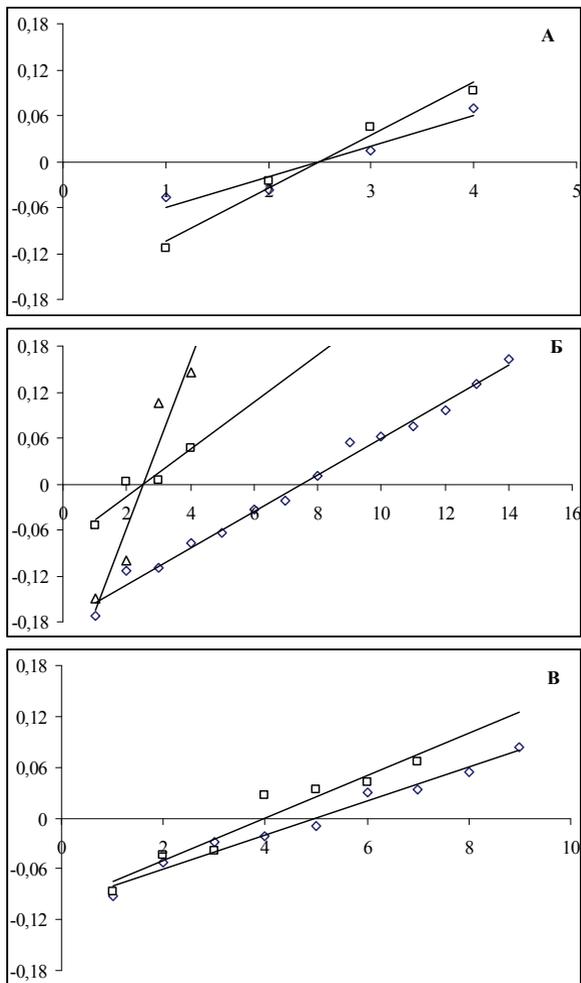


Рис. 41. Сумма ксантофиллов, выраженная в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев:

здесь и на рис. 42, 43: А, Б, В – соответственно компактная, полукompактная и раскидистая формы куста; ◇ – вертикальная, □ – повислая и △ – горизонтальная ориентации листа.

По оси ординат – значения (мг/г сырой массы) отклонений от средней арифметической; по оси абсцисс – количество растений

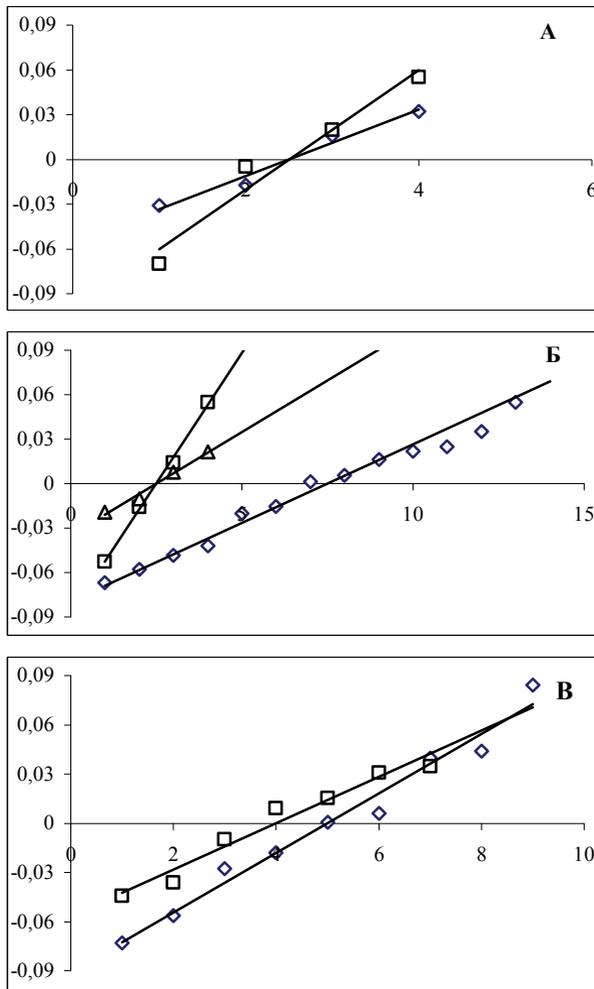


Рис. 42. Коэффициент дезоксидации, выраженный в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев

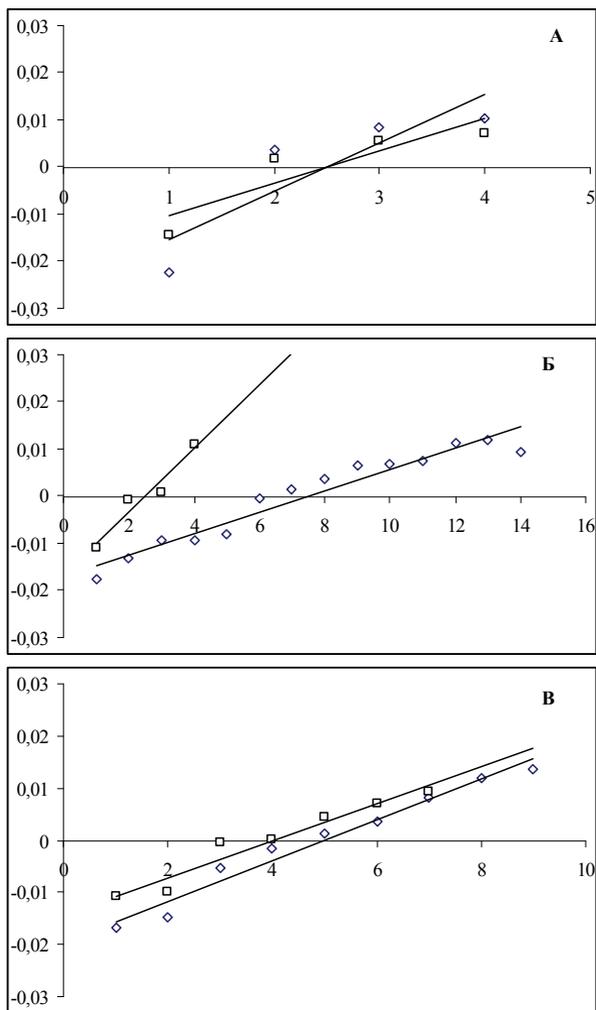


Рис. 43. Содержание неоксантина, выраженное в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев

Таким образом, общая стратегия растений, направленная на формирование их фотопротекторных свойств, реализуется за счет морфологического уровня (определенная ориентация в пространстве побегов и листьев) и связанных с ним процессов регулирования пула зеленых и желтых пигментов в светособирающем антенном комплексе и фотосинтетической емкости реакционных центров, находящихся под контролем стабилизирующего отбора.

Растения *w-type* реализуют общую стратегию фотозащиты. Наибольшее содержание зеленых пигментов в ССК и РЦ обнаруживалось в случае комбинации раскидистого куста и горизонтальной ориентации листа, а наименьшее – компактного куста и вертикального листа, и было оно существенно ниже средних значений по группе.

Растения с супрессированной хлорофиллдефектностью вносят определенные коррективы в общую стратегию фотозащиты, выражающиеся в специфическом изменении содержания пигментов. У *viridis*-ревертантов отмечено повышение пула зеленых пигментов в ССК при сочетании всех типов куста не только с горизонтальной, но и с повислой ориентацией листа. Содержание зеленых пигментов у *xantha*-ревертантов в ССК, как правило, соответствует среднему значению для данного морфологического типа растений. Особенностью *viridis*- и *xantha*-ревертантов является то, что у морфотипов с горизонтальным листом отмечается увеличение пула хлорофилла *a* в РЦ, при этом оно возросло от компактного к раскидистому кусту. У *albina*-ревертантов роста концентрации зеленых пигментов в ССК и РЦ не наблюдалось. В отдельных случаях оно было даже ниже среднего значения по группе, и определенных зависимостей от морфотипа не выявлено. В то же время увеличено количество каротиноидов в ССК как у светочувствительных, так и светоустойчивых морфологических типов. Подобная корректировка морфофизиологических процессов у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью приводит к относительно долговременной адаптации к интенсивному освещению и обеспечивает их жизнеспособность.

Среди полученных результатов важным представляется тот факт, что супрессорные мутации, обладая плейотропным действием, способны вызывать формирование частных стратегий фото-

защиты растений с хлорофиллдефектностью, активно расширяя общую или перестраивая ее на специализированные и более надежные механизмы. Исползованный в работе экспериментальный подход не только расширяет теоретические представления о фотопротекторных свойствах высших растений, обеспечивающих их экологическую устойчивость, но в силу доступности и простоты может быть включен в селекционные программы.

3.3. Характеристика жизнеспособности и выживаемости растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев

У живых организмов мутационный процесс может охватывать различные признаки и свойства. К числу биологически существенных признаков относят, прежде всего, жизнеспособность мутантных особей, часто рассматриваемую как относительную жизнеспособность по сравнению с диким типом или исходной «нормальной» формой (Тимофеев-Ресовский и др., 1977). У растений к признакам, характеризующим жизнеспособность на разных этапах онтогенеза, можно отнести фертильность пыльцы, морфофизиологические признаки зерновки (размер, масса и энергия прорастания семян), плодовитость или репродуктивную способность. На изменчивость этих признаков могут оказывать влияние как генотипические особенности растений (мутации, гены-модификаторы, разная скорость развития и др.), условия их культивирования, так и эффекты взаимодействия этих факторов.

В популяционной генетике особое внимание уделяется выживаемости особей на разных этапах онтогенетического развития. У растительных организмов выживаемость можно оценить на основе всхожести семян, активности роста проростков, частоты растений, достигших репродуктивного развития, продолжительности жизни, которые легче всего поддаются описанию и моделированию. Жизнеспособность, плодовитость и выживаемость являются важнейшими компонентами приспособленности популяций и действия отбора как в пределах поколения на разных этапах онтогенеза, так и в ряду поколений (Хедрик, 2003).

Для оценки различных компонентов приспособленности растений, различающихся ориентацией в пространстве побегов и листьев, был использован целый ряд признаков: фертильность пыльцы, масса 1000 семян, масса семян на растение и на соцветие.

Фертильность пыльцы как критерий оценки состояния и изменчивости растений, характеризующихся различной степенью выживаемости, используется в качестве теста на жизнеспособность в генетических и селекционных исследованиях с мутантными, гибридными и трансгенными растениями (Freeling, 1981; Georgiew, 1981; Nilan et al., 1981; Николаевская, 1997; Luna et al., 2001; Westgate et al., 2003; Wang et al., 2004). Фертильность пыльцы (микрогаметофита) в настоящей работе использована с целью оценки состояния и уровня изменчивости жизнеспособности растений-ревертантов, различающихся ориентацией в пространстве побегов и листьев и степенью хлорофильного дефекта.

У большинства фенотипических групп растений-ревертантов, объединяющих варианты с тем или иным типом депигментации, фертильность пыльцы отличалась от ее уровня у *w-type*. Более жизнеспособная пыльца, чем у растений *w-type*, отмечалась у всех хлорофиллдефектных фенотипов при светоустойчивом (компактном кусте с вертикальным листом) и светочувствительных (раскидистом кусте с повислым или горизонтальным листом) морфологических типах. У растений всех фенотипических групп при полукompактном кусте со всеми формами ориентации листа фертильность пыльцы снижена относительно *w-type* (табл. 82). Таким образом, жизнеспособность пыльцы у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью в большей мере зависит от морфологического типа (ориентации побегов и листьев), чем от степени хлорофильного дефекта.

Плодовитость растений-ревертантов с различными фенотипическими выражениями хлорофильного дефекта при ресупрессии оценивали на основе массы семян на растение и на соцветие.

Масса семян на одно растение (репродуктивная способность) является наиболее существенным показателем приспособленности и характеризует возможность продуцировать достаточное количе-

ство семян для воспроизведения популяции и поддержания вида в целом. В нашем исследовании различия между *w-type* и растениями-ревертантами (для всех фенотипов) существенно зависели от морфологического типа (ориентации в пространстве побегов и листьев). При вертикальной ориентации листа масса семян на растение снижалась по мере усиления хлорофиллдефектности при всех формах куста. У растений с фенотипом: *viridis* в 1,1–1,5–1,9 раза, *xantha* – в 1,2–1,4–2,1 раза, *albina* – в 3,4–7,1 раза соответственно для компактного, полукомпактного и раскидистого куста. Как показывают представленные результаты, репродуктивная способность растений-ревертантов снижается по мере усиления хлорофиллового дефекта (табл. 83). При повислой ориентации листовой пластинки масса семян на растение также снижается для всех фенотипических по хлорофиллдефектности групп по сравнению с растениями с вертикальной ориентацией листа, но для *viridis*- и *xantha*-ревертантов на большую, а для *albina*-ревертантов на меньшую величину. Снижение показателя отмечено только для *viridis*- и *xantha*-ревертантов с компактным и полукомпактным кустом (соответственно в 1,4–2,3; 2,3–1,6 раза). При раскидистом кусте для этих двух групп хлорофиллдефектных фенотипов выявлено увеличение значения признака по сравнению с *w-type*, которое сохраняется при горизонтальном листе и полукомпактном кусте, а для *viridis*-ревертантов и при горизонтальном листе и раскидистом кусте.

Таким образом, повышение относительно *w-type* репродуктивной способности (плодовитости) растений с супрессированной хлорофиллдефектностью (*viridis*- и *xantha*-ревертанты) характерно для особей со светочувствительными морфологическими типами: раскидистый куст с повислым листом и полукомпактный куст с горизонтальным листом. Плодовитость особей с фенотипом *albina* с этими же морфотипами ближе к *w-type* по сравнению со светостойчивыми.

Снижение плодовитости выявлено для растений всех фенотипических групп с фотозащитными морфологическими типами: компактный и полукомпактный кусты с вертикальными и повислыми листьями.

Таблица 82. Фертильность пыльцы растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации в пространстве побегов и листьев (%)

Ориентация в пространстве		Фенотип растений							
		<i>w-type</i>		<i>viridis</i>		<i>xantha</i>		<i>albina</i>	
побегов	листья		$\bar{X} \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$\bar{X} \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$\bar{X} \pm s_x$	Относительно <i>w-type</i>	$\bar{X} \pm s_x$
Компактная	Вертикальная	78,06±2,16	89,54±1,61*	114,71	92,15±0,87*	118,05	96,18±1,78*	123,21	—
	Повислая	—	94,83±0,31	—	92,11±0,67	—	86,88±1,52	—	—
	Горизонтальная	—	82,08±2,69	—	77,18±0,76	—	—	—	—
Полукомпактная	Вертикальная	91,42±1,33	86,74±1,18*	94,88	88,47±0,91*	96,77	84,99±0,67*	92,97	—
	Повислая	94,08±0,65	88,07±1,34*	93,61	84,90±0,28*	90,24	89,78±1,05*	95,43	—
	Горизонтальная	93,18±1,95	93,06±0,91	99,87	84,33±1,43*	90,50	79,02±1,85*	81,92	—
Раскидистая	Вертикальная	96,46±0,37	91,17±2,52*	94,52	81,10±1,12*	84,08	—	—	—
	Повислая	72,79±1,81	72,79±1,81	100,00	86,64±1,33*	119,02	78,14±1,06*	107,35	—
	Горизонтальная	88,19±1,18	95,19±0,67*	107,94	—	—	—	—	—

Таблица 83. Относительная плодovitость растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев

Фенотип	Ориентация побегов и листьев								
	Компактная		Полукомпактная		Раскидистая				
	на растение	на соцветие	1000 шт.	на растение	на соцветие	1000 шт.	на растение	на соцветие	1000 шт.
	Масса семян относительно w-type (%)								
	Вертикальный лист								
w-type	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
viridis	89,61*	<u>166,67*</u>	99,52	67,11*	<u>127,27*</u>	95,74	51,69*	100,00	105,29
xantha	80,95*	<u>166,67*</u>	105,71	70,22*	<u>145,45*</u>	104,25	47,38*	68,75*	<u>120,11*</u>
albina	29,00*	<u>111,11*</u>	96,67	13,78*	90,91*	104,25	—	—	—
	Повислый лист								
w-type	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
viridis	69,58*	<u>136,36*</u>	94,66	42,61*	92,86	109,60*	194,71*	41,18*	100,98
xantha	42,08*	<u>127,27*</u>	93,68	62,20*	100,00	<u>113,00*</u>	<u>132,28*</u>	94,12	104,39
albina	53,33*	<u>118,18*</u>	<u>111,65*</u>	48,80*	107,14	<u>113,56*</u>	79,37*	70,59*	102,44
	Горизонтальный лист								
w-type	—	—	—	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
viridis	—	—	—	195,12*	242,86*	98,55	125,46*	53,33*	93,33
xantha	—	—	—	<u>148,78*</u>	<u>185,71*</u>	98,07	57,56*	46,67*	92,31
albina	—	—	—	89,43*	<u>128,57*</u>	105,31	—	—	—

Примечание. Полукурный шрифт – снижение, подчеркивание – повышение относительной плодovitости по сравнению с w-type.

Масса семян на соцветие – один из важных признаков, характеризующих репродуктивную способность растений. Показатель рассчитан путем деления массы семян с одного растения на число репродуктивных побегов, несущих соцветие, и для большинства хлорофиллдефектных фенотипов отличается от дикого типа почти при всех ассоциациях ориентации в пространстве побегов и листьев (табл. 83). У растений с компактным кустом масса семян/соцветие существенно увеличена (в 1,2–1,7 раза), а с раскидистым кустом снижена (в 1,4–2,4 раза) по сравнению с *w-type* независимо от ориентации листа. При полукompактном кусте выявляется зависимость формирования признака от ориентации листовой пластинки: масса семян/соцветие значительно увеличена при вертикальном (в 1,3–1,5 раза) и особенно горизонтальном листе (в 1,3–2,4 раза); при повислом листе значение признака не отличается от *w-type*.

Таким образом, анализ различий по плодовитости (масса семян/соцветие) показал, что она, как и масса семян на растение, в большей степени зависит от морфотипа растения (ориентации в пространстве побегов) и однонаправленно изменяется у растений-ревертантов с разными хлорофиллдефектными фенотипами.

В отличие от показателя «масса семян на растение» увеличение значение признака относительно *w-type* отмечено для светоустойчивых морфологических типов.

Масса 1000 семян – один из признаков, который характеризует адаптивные свойства растений, и прежде всего способность прорасти при различных условиях внешней среды: температуре, влажности, освещенности и др. Растения-ревертанты формировали семена, практически не отличающиеся по массе как от растений *w-type*, так и между собой (табл. 83). Определенных зависимостей от морфотипа не выявлено. Лишь у растений с полукompактным кустом и повислым листом («среднепопуляционный» фенотип) масса 1000 семян увеличена на 10–14%.

Оценка действия естественного отбора (стабилизирующей формы) на основе отклонений от средних значений признаков в отношении показателей, характеризующих жизнеспособность, показала, что давление отбора более выражено для фертильности пыльцы и массы 1000 семян, по сравнению с показателями

репродуктивной способности (массы семян на растение и особенно массы семян на соцветие). Для всех изученных признаков, характеризующих жизнеспособность, отбор более жестко действует в отношении растений с повислыми листьями при всех формах куста и вертикальными листьями при полукомпактном кусте с характерными пологими трендами. У растений со светочувствительными морфологическими типами, и прежде всего с горизонтальными листьями при всех типах куста, действие стабилизирующего отбора менее выражено, что отражается в крутых линиях рассеивания отклонений от среднего значения признака (рис. 44–47).

Выживаемость растений с супрессированной хлорофиллдефектностью (четвертый год жизни) при различной ориентации в пространстве побегов и листьев, как правило, незначительно отличалась от растений *w-type* (табл. 84). Следует отметить более высокий уровень элиминации у *viridis*- и *xantha*-ревертантов со светоустойчивыми морфологическими типами: компактный и полукомпактный кусты с повислыми и вертикальными листьями. Этот результат отражает выявленное нами более жесткое действие стабилизирующего отбора в отношении особей со светоустойчивыми морфологическими типами. Выживаемость растений с супрессированной хлорофиллдефектностью к седьмому году жизни оказалась сниженной относительно *w-type* незначительно (на 15–20%) и составила 85, 88 и 81% соответственно для *viridis*-, *xantha*- и *albina*-ревертантов.

Таблица 84. **Выживаемость растений с супрессированной хлорофиллдефектностью (4-й год жизни) при различной ориентации в пространстве побегов и листьев (%)**

Ориентация в пространстве		Фенотип растений			
побегов	листьев	<i>w-type</i>	<i>viridis</i>	<i>xantha</i>	<i>albina</i>
Компактная	Вертикальная	100	95,2	100	–
	Повислая	100	86,1	89,3	100
	Горизонтальная	–	100	66,7	–
Полукомпактная	Вертикальная	89,5	86,1	94,4	–
	Повислая	100	79,4	97,3	97,2
	Горизонтальная	100	100	96,9	100
Раскидистая	Вертикальная	100	100	100	–
	Повислая	100	–	98,6	90
	Горизонтальная	–	100	93,8	–

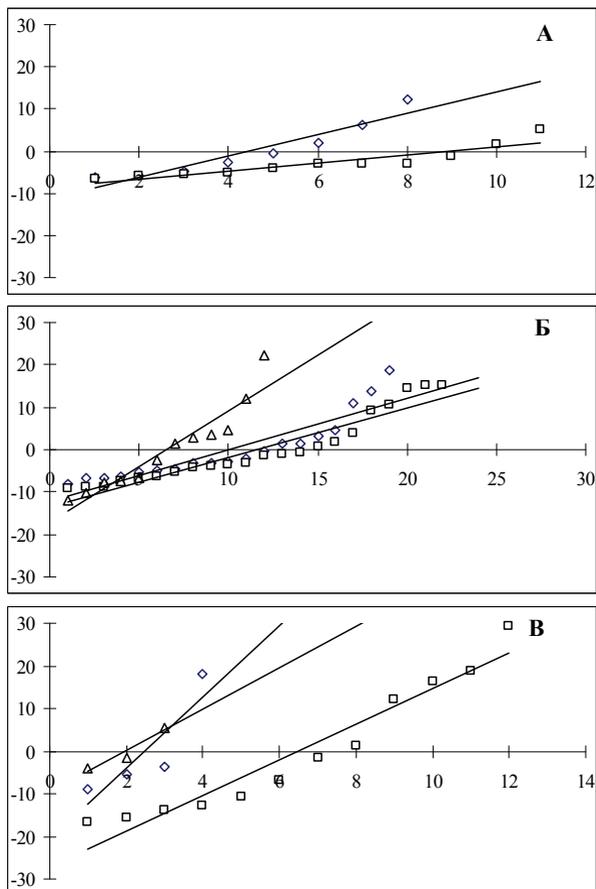


Рис. 44. Фертильность пыльцы, выраженная в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев:

здесь и на рис. 45–47: А, Б, В – соответственно компактная, полукompактная и раскидистая формы куста; \diamond – вертикальная, \square – повислая и Δ – горизонтальная ориентации листа.

По оси ординат – значения (%) отклонений от средней арифметической, по оси абсцисс – ранг растений

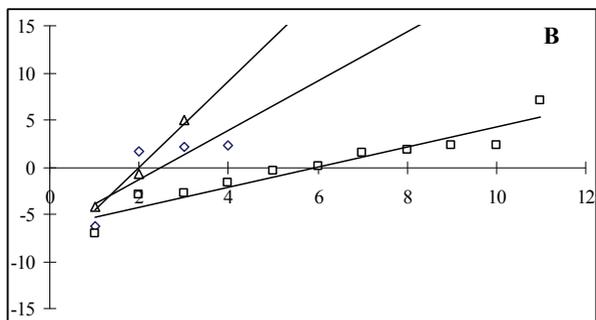
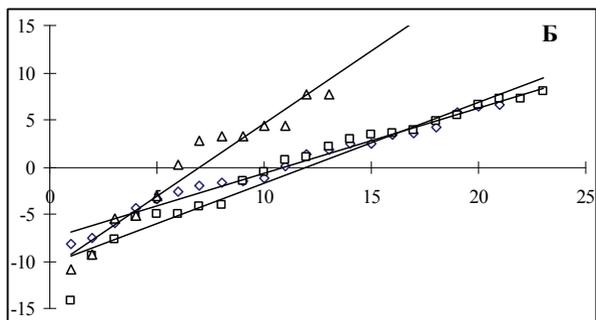
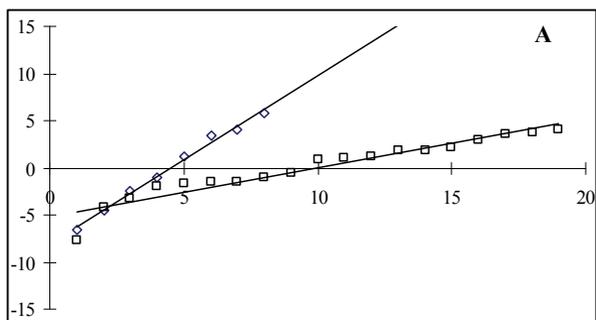


Рис. 45. Масса семян на растение, выраженная в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев

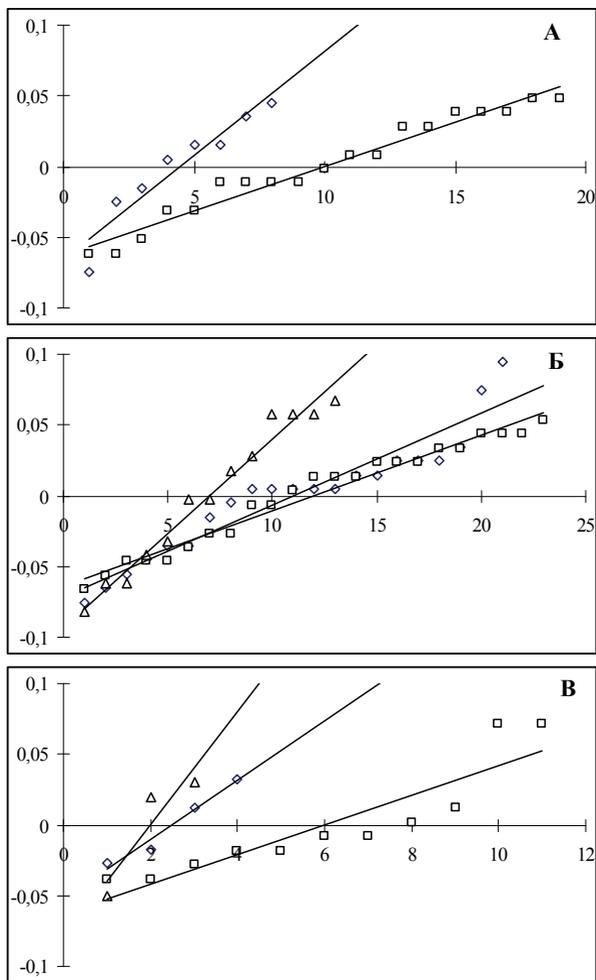


Рис. 46. Масса семян на соцветие, выраженная в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев

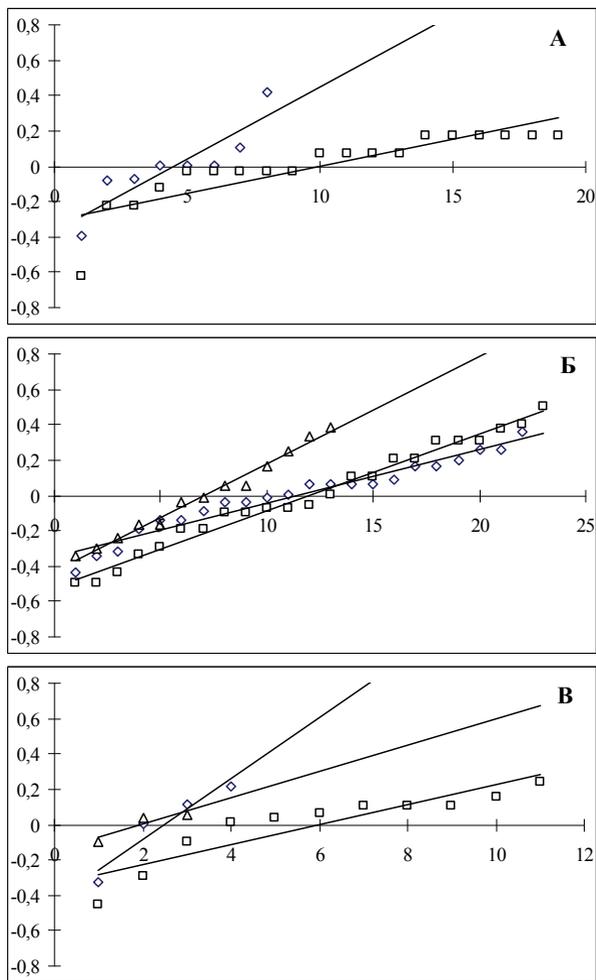


Рис. 47. Масса 1000 семян, выраженная в форме ранжированных отклонений от средней арифметической, при разных типах ассоциаций побегов и листьев

Таким образом, оценивая в целом жизнеспособность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, следует отметить, на первый взгляд, парадоксальную ситуацию: особи, характеризующиеся высокой светоустойчивостью (экологической устойчивостью) (Суходолец, 2000), имеют пониженную плодовитость. Для объяснения данного явления, называемого депрессией аутбридинга, было выдвинуто несколько представлений. Добжанский (Dobzhansky, 1970) привлекал выдвинутое им понятие коадаптивного генома, в котором объединены гармонично взаимодействующие друг с другом генные аллели. Шилдс (Shields, 1982) развивал представление о положительном эпистазе, когда один ген создает благоприятные условия для экспрессии другого гена или генов. Данное представление есть аналог гипотезы Фишера о генах-модификаторах доминантности, которые обеспечивают экспрессию только определенных генных аллелей (Fisher, 1931). Причиной снижения плодовитости (компонента приспособленности) во всех рассматриваемых случаях принято считать разрушение комплекса взаимосвязанных генов или коадаптивных генных ансамблей в результате рекомбинаций и инбридинга (Суходолец, 2000). Однако такая важная составляющая процесса, как действие отбора, в качестве возможной причины наблюдаемого снижения плодовитости особей, характеризующихся высокой экологической устойчивостью, не обсуждалась.

Действительно, стабилизирующий отбор благоприятствует сохранению в популяции фенотипов, признаки которых близки к среднему значению для данной популяции. В нашем исследовании к таким признакам относятся полукомпактный куст и повислый лист. При этом все изученные признаки у особей с данным морфотипом: морфология побегов и листьев, содержание пигментов, плодовитость, также подвергаются более жесткому действию отбора, приводящему к стабилизации значений признаков. Из популяции элиминируют особи с крайними выражениями признака, включая и максимальную плодовитость. Это не означает снижения уровня приспособленности к среде обитания, т. к. формирование фотопротекторных свойств является для растений настолько важным элементом жизнеспособности, что именно их стабилизирует отбор, даже в ущерб плодовитости. Высокая репродуктивная способность особей с фоточувствительными морфологическими

типами (раскидистым кустом и горизонтальным листом) не приводит к росту их частоты в популяции: доля растений в экспериментальном пуле с этими морфотипами не превышала 2,5% (табл. 85). По всей видимости, их потомство обладает низкой жизнеспособностью (гибелью на всех стадиях развития до репродукции), что требует дополнительного изучения.

Таблица 85. Частота встречаемости растений овсяницы луговой с различными ассоциациями ориентации побегов и листьев (%)

Ориентация побегов и листьев		
Компактная	Полукомпактная	Раскидистая
Вертикальный лист		
7,50	20,00	4,57
Повислый лист		
16,17	25,00	12,50
Горизонтальный лист		
3,37	11,82	2,50

Представления В. Суходольца (Суходолец, 2000), а также полученные нами данные позволяют предполагать, что повышение приспособленности и экологической устойчивости происходит разными путями (табл. 86). В одном случае приспособленные особи, формирующие, по нашему мнению, неспецифическую устойчивость, более плодовиты, в другом – индивидуумы, характеризующиеся специфической устойчивостью к действию факторов среды, обнаруживают разную способность к выживанию. Следовательно, действие отбора на уровне экологической устойчивости является более жестким, чем в случае приспособленности, и отражается на частотах фенотипов их в популяции.

Таким образом, стратегия выживаемости растений с супрессированной хлорофиллдефектностью выражается в стабилизации морфофизиологических признаков, обеспечивающих высокий уровень специфической устойчивости (фотоустойчивости) под действием отбора.

Таблица 86. Приспособленность растений овсяницы луговой с супрессированной хлорофиллдефектностью при различной ориентации побегов и листьев

Фенотип	Ориентация побегов и листьев										
	Компактная			Полукомпактная			Раскидистая				
	Общая выживаемость, V	Плодovitость, K	Приспособленность, W	Общая выживаемость, V	Плодovitость, K	Приспособленность, W	Общая выживаемость, V	Плодovitость, K	Приспособленность, W	Общая выживаемость, V	Плодovitость, K
Вертикальный лист											
<i>w-type</i>	0,81	1	0,81	0,98	1	0,98	1	1	1	1	1
<i>viridis</i>	0,88	0,90	0,79	0,90	0,70	0,63	0,95	0,49	0,47	0,47	0,47
<i>xantha</i>	0,96	0,77	0,73	1	0,67	0,67	0,84	0,39	0,33	0,33	0,33
<i>albina</i>	1	0,30	0,30	–	0,70	–	–	–	–	–	–
Повислый лист											
<i>w-type</i>	–	–	–	1	1	1	0,86	0,52	0,44	0,44	0,44
<i>viridis</i>	0,93	1,00	0,93	0,74	0,39	0,29	–	1	–	–	–
<i>xantha</i>	0,94	0,61	0,58	0,88	0,55	0,48	1	0,66	0,66	0,66	0,66
<i>albina</i>	1	0,65	0,65	0,93	0,43	0,40	0,82	0,40	0,40	0,40	0,82
Горизонтальный лист											
<i>w-type</i>	–	–	–	1	0,51	0,51	–	0,74	–	–	–
<i>viridis</i>	–	–	–	0,999	1	0,99	–	1	–	–	–
<i>xantha</i>	–	–	–	0,87	0,77	0,67	–	0,46	–	–	–
<i>albina</i>	–	–	–	0,85	0,43	0,36	–	–	–	–	–

ГЛАВА 4

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ ПРИРОДНЫХ (ОСТРОВНЫХ И КОНТИНЕНТАЛЬНЫХ) ПОПУЛЯЦИЙ *FESTUCA PRATENSIS*

4.1. Генетическое разнообразие природных популяций в экстремальных условиях среды: в экологически напряженных районах и на границе видового ареала

Генетическое разнообразие природных популяций несет важный биологический смысл, являясь, с одной стороны, основой адаптивных и эволюционных изменений, а с другой – одним из важнейших механизмов их устойчивости. Не менее важны данные о возможности изменений генетической структуры природных популяций, обитающих в не вполне благоприятных для вида условиях. Такие условия встречаются на границах ареалов видов, где живые организмы находятся под действием жестких факторов среды. Антропогенное воздействие также является одним из мощных факторов, приводящих к индуцированным сдвигам в распределениях аллельных частот, возникающих за счет изменения приспособленностей генотипов.

В литературе имеются противоречивые данные относительно влияния экстремальных условий существования на генетическую структуру популяций. С одной стороны, отмечается тенденция к достижению популяциями мономорфности (Dobzhansky, 1951; Майр, 1968; Ayala, 1979). В более поздних исследованиях (Clegg et al., 1972; Prakash, 1973; Kahler, Allard, 1981; Животовский, 1984) установлено, что в неблагоприятных условиях существования обнаруживается более высокий популяционный полиморфизм. Существенную экологическую нагрузку испытывают популяции и на границах видового ареала. Левонтин подчеркивал временную неустойчивость условий существования на периферии ареала, вследствие чего «...в разное время отбираются совершенно разные

генотипы. Неудивительно, что генная гетерозиготность здесь высокая...» (Levontin, 1957; Левонтин, 1978).

Уровень и организация генетического разнообразия природных популяций тесно связаны с системой воспроизведения видов. У аутбредных видов велика роль генетической рекомбинации. Они формируют панмиктичные популяции с высоким уровнем генетического разнообразия, который поддерживается благодаря постоянному перекомбинированию генетического материала при скрещиваниях. Большинство полиморфных локусов в популяциях перекрестноопыляемых растений содержат одни и те же высокочастотные аллели. По низкочастотным аллелям между популяциями часто наблюдается дифференциация. У инбредных видов, наоборот, уровень панмиксии значительно снижен. Популяции таких видов уступают панмиктичным в генетическом разнообразии, уровень которого отражает запас их экологической пластичности.

В наших исследованиях структура генофонда и уровень генетического разнообразия популяций овсяницы луговой (*F. pratensis*) оценивались в различных экологических и климатических условиях Карелии.

В 1992–1995 гг. сравнивали популяции овсяницы луговой бассейна Ладожского озера (г. Питкяранта, о. Валаам) и популяции бассейна Онежского озера (западное побережье – г. Кондопога, г. Петрозаводск, о. Кижы, о. Большой Леликовский, о. Климецкий и восточное побережье – Бесов Нос). Кроме того, в каждую группу входили популяции, подверженные антропогенному воздействию (городские популяции), и популяции относительно экологически чистые. В городах Петрозаводске и Кондопоге сбор семян в разные годы исследований проводили на разных площадках. Так, в 1992 г. семена собирали в относительно чистых местах: в пригороде г. Кондопоги на берегу Кондопожской губы (Конд-1) и в пригороде г. Петрозаводска на агробиологической станции ИБ КарНЦ РАН (Петр-1). В 1993 г. сбор семян производили в г. Кондопоге у причала (Конд-2) и в 1994 г. в центре г. Кондопоги на территории, загрязненной отходами производства целлюлозно-бумажного комбината (Конд-3). Популяция Петрозаводск-2 (Петр-2) располагалась в центре города в районе Онежского тракторного завода, где экологическая ситуация неблагоприятна (сбор семян 1993–

1995 г.). В г. Питкяранте в 1993 и 1994 г. семена собирали в центре города вблизи целлюлозного завода. В 1995 г. была обследована популяция Бесов Нос (экологически чистый район).

Результаты исследования показали, что локус *Got-1* инвариантен. Во всех изученных популяциях присутствует один и тот же аллель. Остальные локусы полиморфны, по крайней мере, в какой-либо одной популяции. В табл. 87–90 представлены частоты аллелей полиморфных локусов. Локус *Adh* обладает наименьшим изоферментным разнообразием. Наиболее высокополиморфны локусы *Asp-2* и *Est-3*, которые обнаруживают большое разнообразие электрофоретических вариантов во всех изученных популяциях.

Частоты аллелей полиморфных локусов в различных популяциях сходны; к тому же они существенно не изменялись из года в год, то есть по любому локусу обычным был один и тот же аллель (табл. 87–90). В этом отношении исключение составляет локус *Est-3*: частоты трех наиболее частых аллелей – *F*, *I* и *S* – значительно различались в карельских популяциях овсяницы луговой. Возможно, это связано с колебаниями частот аллелей перекрестноопыляющегося вида в разные годы. При этом выявлены некоторые закономерности. Во-первых, частоты трех обычных аллелей сходны в популяциях одного географического региона и различаются между популяциями различных регионов в относительно экологически благополучной ситуации.

Так, в популяциях западного побережья Онежского озера *F*-аллель имеет частоту, приближающуюся к 0,5 и превышающую частоты *S*- и *I*-аллелей (рис. 48, 1992 г.), а в популяциях восточного побережья Онежского озера (Бесов Нос) и бассейна Ладожского озера (Валаам) – ниже, чем частоты *S*- и *I*-аллелей (рис. 48, 49). Во-вторых, в пределах одного географического региона популяционные частоты *F*-, *S*- и *I*-аллелей неодинаковы в различных экологических условиях. В промышленно загрязненных районах в популяциях западного побережья Онежского озера частота *F*-аллеля ниже, чем в популяциях экологически чистой местности (1993 г.: $\chi^2 = 20,31$ при $p < 0,001$; 1994 г.: $\chi^2 = 23,05$ при $p < 0,001$) (рис. 48–50). Результаты исследования популяции Петрозаводск в 1995 г. не соответствуют выявленным закономерностям, ввиду того что с 1994 г. происходит постепенное оздоровление экологической ситуации из-за прекращения производства на многих крупных предприятиях города.

Таблица 87. Частоты аллелей полиморфных локусов в карельских популяциях *Festuca pratensis* (1992 г.)

Аллель	Популяции				
	Конд-1	Петр-1	о. Кижи	о. Б. Леликов-ский	о. Климец-кий
<i>Adh</i>					
(N)	79	80	47	59	68
F	1,0	1,0	1,0	1,0	0,980
S					0,020
<i>Idh</i>					
(N)	80	83	47	74	68
F		0,040	0,060	0,020	0,030
S	1,0	0,960	0,940	0,980	0,970
<i>Acp-2</i>					
(N)	74	62	56	79	72
F	0,920	0,800	0,920	0,930	0,880
S	0,050	0,190	0,080	0,070	0,120
G	0,030				
I		0,010			
<i>Got-1</i>					
(N)	60	62	43	65	62
F	0,960	0,950	0,880	0,970	0,940
S	0,040	0,050	0,120	0,030	0,060
<i>Est-3</i>					
(N)	78	67	52	70	63
F	0,470	0,510	0,490	0,430	0,340
S	0,220	0,270	0,270	0,260	0,320
I	0,300	0,160	0,240	0,310	0,340
K		0,010			
L	0,010	0,050			

Примечание. Здесь и далее в табл. 88–90: пустые ячейки – отсутствие данного аллеля в популяции.

Данные по локусу *Est-3* в популяциях *F. pratensis* позволяют предположить, что *F*-аллель чувствителен к загрязнителям окружающей среды, а именно – снижение его частоты находится в некоторой зависимости от уровня антропогенной нагрузки мест произрастания растений.

Помимо обычных аллелей, по ряду локусов были выявлены редкие белковые варианты, характерные лишь для одной или нескольких популяций. Такие изоферменты встречались чаще

всего в популяциях городов, подвергающихся значительному антропогенному давлению (табл. 87–90). Генетическое разнообразие по локусам *Adh* и *Idh*, присущее популяциям бассейна Ладожского озера, отличается от популяций Онежского озера (табл. 88).

Таблица 88. Частоты аллелей полиморфных локусов в карельских популяциях *Festuca pratensis* (1993 г.)

Аллель	Популяция					
	Конд-2	Петр-2	о. Кижи	о. Б. Леликовский	г. Питкяранта	о. Валаам
<i>Adh</i>						
(N)	66	63	46	52	62	54
F	1,0	0,984	1,0	1,0	0,933	0,963
S		0,016			0,017	
C						0,037
D					0,050	
<i>Idh</i>						
(N)	66	63	46	52	61	54
F		0,008		0,010		0,037
S	1,0	0,992	1,0	0,990	0,959	0,935
L					0,041	0,028
<i>Acp-2</i>						
(N)	66	55	40	51	62	45
F	0,924	0,873	0,850	0,980	0,758	0,933
S	0,076	0,109	0,112	0,020	0,048	0,067
G		0,018	0,038		0,194	
<i>Got-1</i>						
(N)	16	26	25	20	30	21
F	1,0	0,962	0,900	0,800	1,0	0,976
S		0,038	0,100	0,200		0,024
<i>Est-3</i>						
(N)	66	62	46	43	58	54
F	0,356	0,177	0,413	0,337	0,250	0,278
S	0,348	0,331	0,380	0,360	0,353	0,343
I	0,288	0,460	0,207	0,291	0,319	0,361
O					0,034	0,019
K		0,016		0,012	0,043	
L	0,008	0,008				
B		0,008				

Учитывая общее разнообразие – и частые и редкие аллели, исследована однородность популяций по распределению частот фенотипов полиморфных локусов (χ^2 -критерий). При сравнении популяций из экологически чистых и промышленно загрязненных мест, а также из различных географических регионов (бассейн Ладожского озера, бассейн Онежского озера, западное и восточное побережье) установлена существенная неоднородность их по наиболее полиморфным локусам: в 1992 г. – *Acp-2*, в 1993 г. – *Est-3*, *Acp-2*, *Got-1*, в 1994–1995 гг. – *Est-3* (табл. 91).

Таблица 89. Частоты аллелей полиморфных локусов в карельских популяциях *Festuca pratensis* (1994 г.)

Аллель	Популяция			
	Конд-3	Петр-2	о. Кижы	г. Питкяранта
<i>Idh</i>				
(N)	65	64	66	72
F		0,023		0,069
S	1,0	0,977	1,0	0,931
<i>Acp-2</i>				
(N)	53	50	46	41
F	0,953	0,810	0,913	0,902
S	0,047	0,170	0,065	0,073
G		0,020	0,022	0,024
<i>Got-1</i>				
(N)	53	50	55	47
F	0,956	0,858	0,818	0,904
S	0,044	0,092	0,182	0,096
R		0,033		
O		0,017		
<i>Est-3</i>				
(N)	65	62	65	69
F	0,185	0,218	0,508	0,246
S	0,338	0,331	0,262	0,333
I	0,415	0,371	0,231	0,384
O	0,031			
K	0,031	0,073		0,022
L		0,008		0,014

Таблица 90. Частоты аллелей полиморфных локусов в карельских популяциях *Festuca pratensis* (1995 г.)

Аллель	Популяция		
	г. Петрозаводск	о. Кижы	Бесов Нос
<i>Idh</i>			
(N)	130	53	61
F	0,992	1,000	1,000
S	0,008		
<i>Acp-2</i>			
(N)	131	53	66
F	0,937	0,934	0,955
S	0,049	0,066	0,045
G	0,005		
R	0,010		
<i>Got-1</i>			
(N)	127	54	55
F	0,937	0,870	0,827
S	0,063	0,130	0,155
O			0,018
<i>Est-3</i>			
(N)	146	54	57
F	0,387	0,574	0,193
S	0,298	0,296	0,412
F	0,291	0,130	0,395
K	0,014		
L	0,010		

Таблица 91. Однородность карельских популяций *Festuca pratensis* (критерий различия χ^2)

Локус	Год исследования			
	1992	1993	1994	1995
<i>Adh</i>	4,0	28,3*	–	–
<i>Idh</i>	9,5	35,4*	11,3	0,9
<i>Got-1</i>	14,3	28,3**	19,2	12,0
<i>Acp-2</i>	33,0*	50,3***	9,8	4,3
<i>Est-3</i>	40,9	111,3***	74,8***	40,0***

Примечание. Значения χ^2 достоверны: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; здесь и далее в табл. 92–94: прочерк – отсутствие данных.

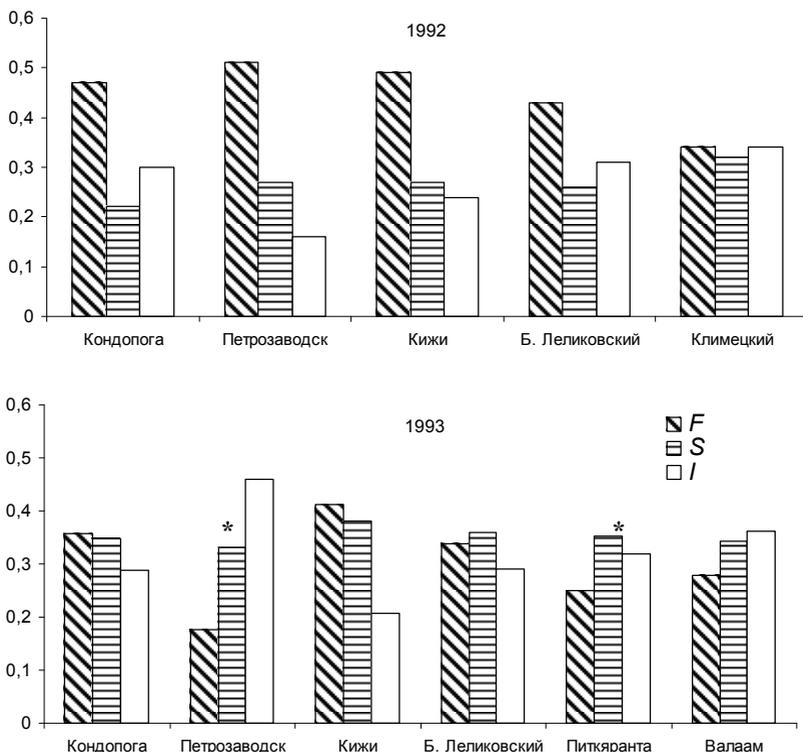


Рис. 48. Частоты обычных аллелей локуса *Est-3* в природных популяциях *Festuca pratensis* из экологически чистых и загрязненных (отмечены *) регионов Карелии (1992 и 1993 гг.):

здесь и на рис. 49: по оси абсцисс – популяции; по оси ординат – частоты аллелей; *F*, *S*, *I* – аллели локуса *Est-3*

На основании частот встречаемости аллелей были определены основные показатели генетического разнообразия изученных популяций: среднее число аллелей на локус (A), полиморфность (P), средняя гетерозиготность: наблюдаемая (H_{obs}) и ожидаемая (H_{exp}). Существенных отличий между популяциями по этим показателям не выявлено. В целом найденные нами средние значения показателя полиморфности, числа аллелей на локус и средней гетерозиготности в карельских популяциях овсяницы луговой находятся в пределах средних значений этих же критериев, полученных для

большого числа проанализированных локусов у 36 перекрестно-опыляемых видов растений и представленных в сводке Дж. Хамрика с соавторами (Hamrick et al., 1979) (табл. 92).

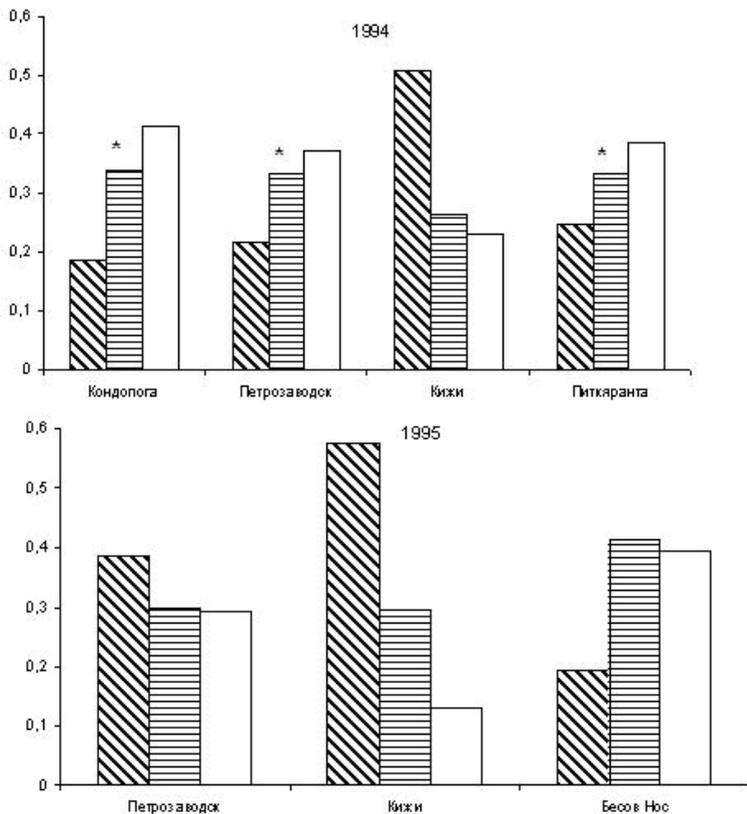


Рис. 49. Частоты обычных аллелей локуса *Est-3* в природных популяциях *Festuca pratensis* из экологически чистых и загрязненных (отмечены *) регионов Карелии (1994 и 1995 гг.)

Значения P в наших исследованиях могут быть несколько завышенными из-за недостаточного количества проанализированных локусов. Увеличение среднего числа аллелей на локус в популяциях, изученных в 1993–1994 гг., возможно, связано с включением в анализ популяций из экологически загрязненных районов. В литературе

имеются сведения относительно более высокого популяционного полиморфизма в неблагоприятных условиях существования (Clegg et al., 1972; Kahler, Allard, 1981; Животовский, 1984) и, в частности, в условиях антропогенного воздействия (Kilian, Maluszynski, 1987).

Таблица 92. Средние значения показателей генетического разнообразия в карельских популяциях *Festuca pratensis*

Показатель	Год исследования				Среднее по 36 видам растений (Hamrick et al., 1979)
	1992	1993	1994	1995	
<i>A</i>	1,9	2,2	2,2	2,0	1,9
<i>P</i> _{99%}	0,67	0,64	0,59	0,50	0,51
<i>H</i> _{obs}	0,15	0,11	0,11	0,14	–
<i>H</i> _{exp}	0,17	0,17	0,19	0,16	0,19

Примечание. *A* – среднее число аллелей на локус, *P*_{99%} – доля полиморфных локусов при 99% критерии, *H*_{obs} – наблюдаемая гетерозиготность, *H*_{exp} – ожидаемая гетерозиготность.

Генетическую дифференциацию исследуемых популяций оценивали при помощи *F*_{ST}-статистики Райта (Wright, 1965). Результаты вычисления *F*_{ST} приведены в табл. 93.

Таблица 93. Значения *F*_{ST}-показателей по 6 локусам в карельских популяциях *Festuca pratensis*

Локус	Год исследования			
	1992	1993	1994	1995
<i>Adh</i>	0,015	0,031	0,000	0,000
<i>Idh</i>	0,014	0,026	0,033	0,010
<i>Got-1</i>	0,018	0,089	0,026	0,020
<i>Got-2</i>	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Acp-2</i>	0,023	0,050	0,030	0,002
<i>Est-3</i>	0,015	0,028	0,080	0,101
Среднее	0,014	0,037	0,028	0,022

Примечание. Выделены средние значения.

Наименьшая величина межпопуляционной дифференциации (0,014) оказалась в 1992 г. по сравнению с последующими годами. Это мы связываем с тем, что в данный период были проанализированы популяции одного географического региона (бассейн Онежского озера) и только из экологически чистых районов. Полученные результаты говорят о том, что не более 3,7% всей обнаружен-

ной нами изменчивости приходится на межпопуляционную, а 96,3% находятся внутри каждой из них. Вероятно, эти популяционные различия связаны с неодинаковыми экологическими и географическими условиями произрастания растений.

На отсутствие существенных дифференциаций между популяциями указывают и значения показателя генетической идентичности (I_N) по Нею (Nei, 1972). Средняя генетическая идентичность между парами популяций в 1992 г., когда сравнивали популяции относительно экологически чистых районов бассейна Онежского озера, составила 0,995, а в 1993–1995 гг. меньше – 0,981, 0,991 и 0,987 соответственно. Тем не менее полученные величины I_N значительны и свидетельствуют о высоком уровне генетического сходства карельских популяций овсяницы луговой. Для сравнения приведем значения генетической идентичности у перекрестноопыляющихся ($I_N = 0,956$) и самоопыляющихся ($I_N = 0,975$) растений, вычисленные в среднем по 49 видам (Gottlieb, 1981).

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что популяции *F. pratensis* северной части ареала вида имеют типичные черты, свойственные перекрестноопыляемым видам растений. Все изученные популяции проявили значительный уровень генетической гетерогенности, при этом высокочастотными оказались одни и те же аллели шести ферментных локусов. Выявлено, что на межпопуляционную изменчивость приходится не более 3,7%. Небольшие различия по частотам обычных аллелей локуса *Est-3* и по наличию специфичных белковых вариантов в промышленно загрязненных городах, по-видимому, связаны с неодинаковыми климатическими условиями и техногенными воздействиями. Предполагается, что антропогенные факторы приводят к изменению генетической структуры популяций, вызывая сдвиг аллельных частот и накопление редких белковых вариантов у *F. pratensis*.

4.2. Генетическое разнообразие островных природных популяций (RAPD-анализ)

Уровень генетического разнообразия популяций определяется сложным переплетением взаимодействий основных факторов микроэволюции – естественного отбора, генных мутаций, случайного

дрейфа и миграции генов. Природные популяции островов, изолированные водным пространством, характеризуются снижением миграционных процессов. Значение потока генов в эволюции до сих пор остается дискуссионным. Интенсивный поток генов между популяциями ведет к унификации вида, стирая межпопуляционные различия. При слабом генном потоке генетический дрейф, отбор и даже мутации могут привести к генетической дифференциации (Хедрик, 2003). Острова, являясь природной моделью изолированных популяций с ослабленным миграционным потоком, удобны для изучения микроэволюционных процессов и возможных путей адаптивной эволюции. Особенности этих процессов в островных популяциях (уменьшение скорости миграции генов, усиление роли дрейфа генов и др.) способствуют снижению уровня панмиксии и генетического разнообразия, изменению соотношения внутри- и межпопуляционных компонент генного разнообразия и, таким образом, оказывают влияние на общую приспособленность (выживаемость и плодовитость) популяций. Тем не менее именно изоляция, а также дрейф генов и в некоторых случаях малая численность позволяют каждой популяции изменяться независимо и приводят к формированию уникальных особенностей генофонда таких популяций (Хедрик, 2003).

Объем генетического разнообразия видов и распределение его внутри и между популяциями часто связаны с такими факторами, как величина ареала и система размножения. Известно, что перекрестноопыляющиеся виды растений имеют более высокий уровень разнообразия по сравнению с самоопыляющимися видами, причем большую его часть составляет внутривидовая компонента (Hamrick, Godt, 1990). Эндемичные виды характеризуются, как правило, низким уровнем изменчивости по сравнению с родственными широкоареальными (Gitzendanner, Soltis, 2000). Однако природные условия настолько сложны и многогранны, что популяционно-генетические характеристики видов не всегда укладываются в рамки установленных закономерностей. Поэтому необходимо проведение независимого исследования каждого вида в конкретных условиях среды его обитания (Torres et al., 2003). Полученная информация будет способствовать расширению представлений в данной области знаний.

Развитие современных молекулярных методов на основе полимеразной цепной реакции (PCR) и введение молекулярных маркеров в практику биологических исследований обеспечили новые возможности изучения генетического разнообразия и позволили анализировать полиморфизм непосредственно на уровне ДНК. Эти методы дают более точные и объективные представления о генетической структуре популяций по сравнению с аллозимным анализом. Задачам популяционно-генетических исследований наилучшим образом отвечают методы мультилокусного анализа на основе PCR с участием произвольных праймеров. Один из таких методов – RAPD-анализ имеет ряд несомненных достоинств, позволяя исследовать геном в целом и выявлять полиморфные состояния в большом числе локусов, а также анализировать и некодирующие последовательности ДНК.

В предварительных экспериментах пять из 15 испытанных праймеров оказались эффективными в полимеразной цепной реакции с ДНК *F. pratensis*. В результате были выявлены амплифицированные фрагменты ДНК, число которых варьировало от 9 до 15 на праймер и от 60 до 64 на популяцию. Достоверные различия популяций по частотам RAPD-фрагментов установлены для 19 локусов из 64 ($6,1 < \chi^2 > 19,3$, $d.f. = 2$, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$).

На основании частот фрагментов ДНК были определены основные показатели генетического разнообразия протестированных популяций – $P_{95\%}$ и H_{exp} (табл. 94).

Самая северная из исследованных популяций – о. Речной, показала наибольшее генетическое разнообразие ($P_{95\%} = 37,5$; $H_{exp} = 0,113$). На рис. 50 представлены образцы RAPD-спектров, полученные при анализе популяции о. Речной, на рис. 51 – популяции о. Кизи.

В среднем значения показателей генетического разнообразия островных популяций *F. pratensis* ($P_{95\%} = 30,2$; $H_{exp} = 0,093$) оказались ниже, чем в континентальных популяциях, изученных нами ранее с использованием аллозимного анализа ($P_{95\%} = 50,0$; $H_{exp} = 0,160$) (Федоренко, Олимпиенко, 1998), и ниже средних популяционных характеристик перекрестноопыляемых видов растений ($P_{95\%} = 50,1$; $H_{exp} = 0,185$), полученных также на основе аллозимных маркеров (Hamrick et al., 1979) (табл. 94).

Таблица 94. Показатели генетического разнообразия и генетическая дифференциация островных популяций *Festuca pratensis*

Популяция	$P_{95\%}$ (%)	H_{exp}	F_{ST}
о. Речной	37,5	0,113±0,019	0,053
о. Кизи	28,1	0,092±0,014	
о. Климецкий	25,0	0,075±0,015	
Среднее	30,2	0,093±0,017	
Континентальные популяции, аллозимный анализ (Федоренко, Олимпиаенко, 1998)	50,0	0,160	0,022
Популяции перекрестноопыляемых видов, аллозимный анализ (Hamrick et al., 1979)	51,1	0,185	–

Примечание. F_{ST} – коэффициент генетической подразделенности популяций.

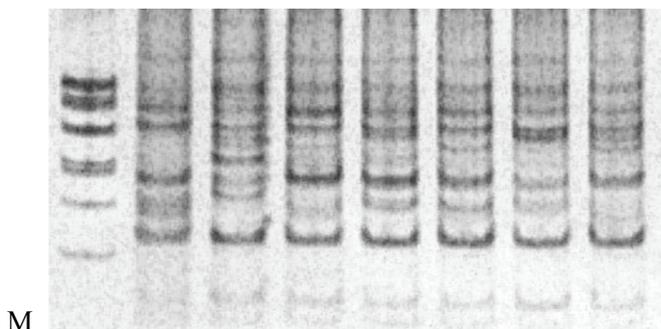


Рис. 50. RAPD-спектры геномной ДНК растений *Festuca pratensis* из популяции о. Речной, полученные с помощью праймера № 1:

М – маркер молекулярной массы (100 bp – 1 Kb)

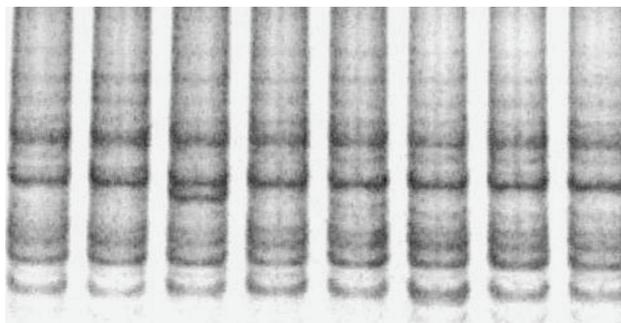


Рис. 51. RAPD-спектры геномной ДНК растений *Festuca pratensis* из популяции о. Кизи, полученные с помощью праймера № 3

Правомерность подобных сравнений основана на анализе данных литературы (Togres et al., 2003; Артюкова и др., 2004), в которых показано, что аллозимный и RAPD-анализы дают сходные результаты в отношении генетической структуры и уровня генетического разнообразия популяций. Для некоторых видов растений выявлена положительная корреляция между показателями генетической изменчивости, полученными на основе аллозимных и RAPD-маркеров (Ayres, Ryan, 1999; Lee et al., 2002). Однако доля полиморфных локусов обычно выше при использовании RAPD-метода. По-видимому, это связано с локализацией RAPD-маркеров. Предполагается, что этот тип маркеров сопряжен с некодирующей частью ДНК, поскольку она составляет подавляющую часть генома эукариот. Скорость же мутирования в этой части ДНК примерно вдвое выше, чем в кодирующей (Nei, 1987). Таким образом, на основании приведенных рассуждений можно заключить, что разница между средними значениями доли полиморфных локусов островных и континентальных популяций *F. pratensis*, полученными с помощью разных методов исследования, в данном случае действительно существует.

Генетическую дифференциацию исследуемых популяций оценивали при помощи F_{ST} -статистики Райта (Wright, 1965). Вычисления показали типичное для панмиксных видов распределение генного разнообразия: межпопуляционная компонента составила незначительную часть общей генетической изменчивости (табл. 94). F_{ST} -статистика, будучи мерой генетической подразделенности популяции, является одновременно и эквивалентом инбридинга особей в субпопуляциях, а также отражает величину отклонения от панмиксии (Динамика популяционных генофондов..., 2004). Коэффициент генетической подразделенности островных популяций ($F_{ST} = 0,053$) более чем в 2 раза превышает генетическую дифференциацию континентальных популяций (табл. 94) и свидетельствует об усилении инбридинга в островных популяциях. Более высокая межпопуляционная дифференциация и пониженный уровень генетического разнообразия островных популяций, вероятно, явились следствием длительной изолированности этих популяций и ослабления миграционных процессов. Количество мигрантов на поколение в островных популяциях составило

4,49, а в континентальных – 11,11. Снижение интенсивности обмена генами с другими популяциями и зачастую ограниченный размер популяций на островах приводят к усилению роли дрейфа генов, что может служить еще одной причиной пониженного здесь уровня полиморфизма (Динамика популяционных генофондов..., 2004).

На отсутствие существенных дифференциаций между островными популяциями указывают и значения показателя генетической идентичности Нея (IN) (Nei, 1972). Значения IN между парами популяций находятся в пределах 0,854–0,916. Среднее генетическое сходство островных популяций *F. pratensis* составило 0,887, что ниже среднего IN (0,981), полученного при изучении континентальных популяций этого же вида с применением аллозимных маркеров (Федоренко, Олимпиенко, 1998). Возможно, эти различия если не являются результатом применением двух разных методов исследования, то отражают процессы отклонения от панмиксии.

Снижение уровня панмиксии, увеличение роли дрейфа генов и усиление инбридинга при изоляции должно оказывать влияние на среднюю приспособленность популяции, которая основывается на плодовитости и жизнеспособности особей и представляет собой сумму относительных вкладов каждого из возможных генотипов популяции (Алтухов, 2003; Хедрик, 2003).

В нашем исследовании использование RAPD-маркеров, обладающих менделевским наследованием доминантного типа, не позволяет определить генотипическую структуру популяций. Поэтому о приспособленности судили по средним величинам компонентов приспособленности популяции в целом. В табл. 95 представлены значения морфофизиологических признаков растений, характеризующих выживаемость и плодовитость. В отличие от популяции о. Кижы, значимые различия с континентальной популяцией пригорода Петрозаводска показали популяции о. Речной (по выживаемости и массе семян с растения) и о. Климецкий (по массе семян с растения). Самые низкие значения общей выживаемости и плодовитости выявлены у растений популяции о. Речной, расположенной ближе всего к северной границе ареала вида. Во всех трех островных популяциях плодовитость оказалась ниже, чем в континен-

тальной популяции пригорода Петрозаводска. В целом полученные данные указывают на более низкую приспособленность островных популяций по сравнению с континентальной.

Таблица 95. Плодовитость и жизнеспособность растений островных популяций *Festuca pratensis*

Признак	о. Речной	о. Кижы	о. Климецкий	Петрозаводск, пригород
Доля проросших семян	0,426±0,024***	0,587±0,028	0,573±0,029	0,621±0,046
Доля выживших растений	0,930±0,018*	0,920±0,014	0,932±0,012	0,881±0,009
Общая выживаемость	0,396	0,544	0,536	0,547
Масса семян (г/растение)	0,630±0,140***	1,270±0,210	0,660±0,190***	1,83±0,23
Масса 1000 семян (г)	2,030±0,040	1,950±0,050	1,460±0,390	1,94±0,03
Плодовитость (количество семян на растении)	314	652	463	943

Примечание. Различия между популяциями пригорода Петрозаводска и островными значимы при * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

Вопреки теоретическим представлениям, популяция о. Речной, характеризующаяся наиболее высоким уровнем генетического разнообразия, показала среди исследованных популяций самую низкую приспособленность. Возможно, повышенный уровень генетического разнообразия этой популяции связан с климатическими особенностями условий произрастания на северной границе ареала вида, что согласуется с представлениями Левонтина о популяционно-генетической структуре краевых популяций (Левонтин, 1978).

Что касается пониженной приспособленности, то она может быть следствием увеличения частоты рецессивных гомозигот в результате усиления инбридинга и ограничения рекомбинации. При этом чем выше уровень генетического разнообразия, тем больше выщепляется рецессивных гомозигот и тем значительнее снижение приспособленности.

Таким образом, оценка уровня генетического разнообразия показала, что природные островные популяции *F. pratensis* Онежского озера имеют генетическую структуру, типичную для панмиктических популяций: большая часть общего генного разнообразия приходится на внутривнутрипопуляционную компоненту. На долю межпопуляционной изменчивости остается не более 5,3%. В целом популяции островов Онежского озера проявили более низкий уровень генетического разнообразия и более высокую межпопуляционную дифференциацию по сравнению с континентальными популяциями. Предполагается, что это может быть обусловлено снижением миграционного потока генов вследствие изолированности этих популяций и усиления инбридинга, что, в свою очередь, повлияло на общую приспособленность популяций. Оценка компонентов приспособленности – плодовитости и выживаемости по морфофизиологическим признакам – позволила судить о пониженной величине приспособленности островных популяций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стратегия выживаемости как биологическая данность – явление многоуровневое и может, распространяясь сразу на целый ряд таксонов, носить характер абсолютной значимости для всех составляющих их индивидуумов (диплоидность, гетерозиготность, полиплоидия, размер генома и др.). В других случаях влияние сказывается только на индивидуальных и групповых свойствах отдельных членов популяции и, как следствие, перманентно изменяются шансы индивидуума во внутри- и межвидовой конкуренции при действии естественного отбора. Супрессированная хлорофильная депигментация, наблюдаемая у высших растений, является примером второго рода. Защита на уровне индукции температурно-световых повреждений осуществляется системой восстановления с ярко выраженными индивидуально-групповыми эффектами экспрессивности гена-супрессора.

Как показывают наши многолетние исследования, генетическая супрессия, выполняющая охранную функцию, подавляет функциональную активность генетически дефектных и не отселектированных естественным отбором генных локусов и, таким образом, выполняет функцию системы, обеспечивающей эффективную защиту. Восстановление пигментации связано со скоростью этого процесса (быстрое – медленное) и со специфичностью путей фенотипических превращений (репопуляция – реверсия). Механизмы восстановления пигментации при ресупрессии являются главной составляющей в стратегии выживания растений с супрессированной хлорофиллдефектностью.

Растения *F. pratensis* с супрессированной хлорофиллдефектностью характеризуются целым комплексом изменений, затрагивающих структуру хлоропластов и митохондрий, синтез вспомогательных светособирающих и фотозащитных зеленых (хлорофилл *b*) и желтых (каротины, лютеины и ксантофиллы) пигментов, а также эффективность работы фотосинтетического аппарата в целом. При реверсии (быстрой и медленной) несколько возрастает величина показателя, характеризующего потенциал фотохимической эффек-

тивности открытых центров фотосистемы II. При медленной репопуляции увеличен показатель фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a*. Показатели же нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a* и нефотохимического тушения в виде тепловой диссипации для большинства растений с супрессированной хлорофиллдефектностью не отличаются от *w-type* или превышают его уровень, и они не связаны с определенными механизмами восстановления при ресупрессии. По ряду показателей электронного транспорта проявляется эффект хлорофиллдефектного фенотипа, выраженный в повышении или снижении их значений относительно *w-type*.

Наряду с этим выявлен ряд особенностей в формировании и проявлении морфологических признаков в репродуктивную фазу развития растений с супрессированной хлорофиллдефектностью. Значения признаков, являющихся компонентами выживаемости и репродуктивной способности растений (энергия прорастания семян, продолжительность жизни и количество генеративных побегов), у генотипов с супрессированной хлорофиллдефектностью снижены относительно растений дикого типа. Уровень их экспрессии в этих случаях не зависит ни от путей, ни от скорости восстановления пигментации при ресупрессии. Для двух признаков, характеризующих генеративную сферу и плодовитость растений (высота генеративных побегов и масса 1000 семян), выявлена зависимость от путей фенотипического изменения окраски депигментированных проростков при ресупрессии, но не от их скорости.

При реверсии скорость восстановления пигментации не оказывает влияния на экспрессию 7 количественных признаков вегетативной и генеративной сферы растений из 18 изученных, а при репопуляции – только двух признаков генеративной сферы. Быстрая репопуляция оказывает максимальное влияние на экспрессию признаков, при этом происходит снижение значений восьми и увеличение значений пяти морфологических признаков. Фенотипический эффект хлорофиллдефектности (действие мутантного гена) сильнее выражен при реверсии (быстрой и медленной) и медленном восстановлении (репопуляция и реверсия), чем при репопуляции и быстром восстановлении.

Полученные данные позволяют заключить, что эпистатические взаимодействия мутантного гена и гена-супрессора сложны, имеют выраженный плейотропный эффект, проявляющийся в особенностях экспрессии морфофизиологических признаков.

Важно, что ген-супрессор лишь частично подавляет действие мутантного гена, и это существенно отражается на уровне приспособленности и ее компонентов – выживаемости и репродуктивной способности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью.

Общая выживаемость растений с фенотипами *viridis* и *xantha* в 2–2,5 раза выше при репопуляции (медленной и быстрой соответственно) по сравнению с реверсией. Плодовитость растений с этими фенотипами, напротив, выше в 1,5–2,5 раза при реверсии (медленной и быстрой соответственно). У растений с фенотипом *albina* и выживаемость (в 7,5 раза), и плодовитость выше при медленной репопуляции по сравнению с быстрой и особенно медленной реверсией. При этом выживаемость растений с фенотипом *albina* при медленной репопуляции в 1,5–2 раза выше, чем у растений *w-type* и с фенотипами *viridis* и *xantha* (табл. 57–60). Различия в скорости восстановления хлорофильного дефекта выявлены только для растений с фенотипом *albina*. Так, при медленной реверсии общая их выживаемость снижена в 1,6 раза по сравнению с быстрой реверсией.

Выживаемость и плодовитость (по отношению к уровню *w-type*) у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью оказались зависимыми от уровня экспрессии (хлорофильного дефекта) фенотипа. Максимальные значения относительной выживаемости для растений всех фенотипических групп выявлены при медленной репопуляции, а минимальные – при медленной реверсии. Относительная плодовитость растений с фенотипом *viridis* характеризуется максимальными значениями при быстрой и медленной реверсии, с фенотипом *xantha* – при быстрой реверсии и с фенотипом *albina* – при медленной репопуляции. Максимальные значения относительной приспособленности растений с фенотипом *viridis* установлены при быстрой реверсии, с фенотипами *xantha* и *albina* – при медленной репопуляции.

Различия между механизмами восстановления пигментации проростков при ресупрессии по приспособленности у растений с фенотипом *xantha* выражены в меньшей степени (в 1,7 раза), чем с фенотипами *viridis* (в 2,4 раза) и *albina* (в 10,6 раза). Этот эффект связан, прежде всего, с жестким давлением стабилизирующего отбора в отношении признаков растений, определяющих их приспособленность. Выявлен адаптивный эффект, связанный с повышением компонентов приспособленности по сравнению с *w-type*: у растений с фенотипом *albina* (в 1,4 раза по относительной выживаемости при медленной репопуляции) и у растений с фенотипом *viridis* (в 1,5 раза по относительной плодовитости при быстрой реверсии).

Установлено, что интенсивность действия стабилизирующего отбора зависит не только от исследуемого признака (компоненты приспособленности), но и определяется хлорофиллдефектным фенотипом растений и, в меньшей степени, механизмами фенотипических превращений окраски проростков при ресупрессии. Сильное давление стабилизирующего отбора выявлено в отношении фертильности пыльцы, выживших и жизнеспособных проростков, и значительно более слабое – для массы семян на растение и массы 1000 семян. При этом его действие, как правило, наиболее сильно выражено у растений с фенотипом *xantha* и не зависит ни от скорости, ни от механизма восстановления пигментации проростков с хлорофиллдефектностью. В то же время механизм и скорость имеют значение для проявления действия стабилизирующего отбора у растений с фенотипами *viridis* и *albina*.

Изучение распределения растений с супрессированной хлорофиллдефектностью и с теми или иными механизмами фенотипических изменений окраски проростков при ресупрессии (репопуляция, реверсия) по фенотипическим группам, различающимся светостойчивостью, показало преобладание частот растений с фотостойчивыми фенотипами при восстановлении через реверсию. Однако у светочувствительных фенотипов соотношение реверсия/репопуляция на 70% ниже, чем у светостойчивых фенотипов. У светочувствительных растений преобладают особи с медленной скоростью восстановления окраски проростков при ресупрессии, а у светостойчивых растений в равной степени представлены особи с быстрым и медленным восстановлением.

При быстрой репопуляции у двух фенотипических классов (*viridis*, *xantha*) отсутствуют растения с горизонтальной ориентацией листа (светочувствительный морфотип), при медленной репопуляции (*viridis*) – с вертикальным и повислым листом, при быстрой реверсии (*viridis*, *albina*) – с вертикальным листом (светоустойчивый морфотип).

Таким образом, установлена дифференцированная приспособленность растений с супрессированной хлорофиллдефектностью, связанная как со степенью хлорофильного дефекта растений при десупрессии, так и с механизмами и скоростью фенотипических изменений окраски проростков при ресупрессии. Удалось показать зависимость относительной приспособленности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью от клеточных механизмов восстановления пигментации при ресупрессии, а также выявить приспособительный эпистаз в отношении относительной выживаемости и относительной плодовитости у растений отдельных фенотипических групп.

Из полученных в ходе исследований данных следует, что у растений с естественно сложившимися генетическими повреждениями фотосинтетического аппарата и определенными механизмами их восстановления происходят многочисленные изменения в развитии и росте растений, проявляющиеся в ходе онтогенеза. При внешнем сходстве с механизмами пострадиационного восстановления у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью выявляются существенные различия. Прежде всего это касается репопуляционного восстановления, которое не является полным. Это можно объяснить тем, что все клетки (делящиеся и неделящиеся) при десупрессии несут мутантный ген, и при ресупрессии его действие лишь частично блокируется геном-супрессором. Более того, можно предположить, что существуют еще три пары неаллельных генов, одна из которых контролирует репопуляцию, другая – реверсию, третья – скорость восстановления, и которые определяют особенности развития растений с супрессированной хлорофиллдефектностью при том или ином механизме клеточного восстановления при ресупрессии.

Совокупность данных позволяет высказать предположение о существовании нескольких взаимосвязанных между собой уровней

морфофизиологической фотозащиты растений. Первый обеспечивается определенной ориентацией побегов в пространстве и соответствующим изменением содержания ксантофиллов, второй – ориентацией в пространстве листовой пластинки и соответствующим изменением количества зеленых пигментов в светособирающем антенном комплексе, третий связан со светочувствительными морфологическими типами и характеризуется увеличением фотосинтетической емкости реакционных центров и активной работой антиоксидантов. При этом выявляются синергизм, множество и сложность различных фотозащитных механизмов, обеспечивающих адаптацию растений с различным уровнем светоустойчивости к изменяющимся условиям среды.

Таким образом, общая стратегия выживаемости растений с супрессированной хлорофиллдефектностью реализуется как на морфологическом (определенная ориентация в пространстве побегов и листьев), так и на физиологическом (регулирование пула зеленых и желтых пигментов в светособирающем антенном комплексе и фотосинтетической емкости реакционных центров) уровнях, находящихся под контролем стабилизирующего отбора.

Растения *w-type* реализуют общую стратегию фотозащиты. Наибольшее содержание зеленых пигментов в ССК и РЦ обнаруживалось в случае комбинации раскидистого куста и горизонтальной ориентации листа, а наименьшее – в случае компактного куста и вертикального листа и было существенно ниже средних значений по группе.

Растения с супрессированной хлорофиллдефектностью вносят определенные коррективы в общую стратегию фотозащиты, выражающиеся в специфическом изменении содержания пигментов. У *viridis*-ревертантов отмечено повышение пула зеленых пигментов в ССК при сочетании всех типов куста не только с горизонтальной, но и с повислой ориентацией листа. Содержание зеленых пигментов у *xantha*-ревертантов в ССК, как правило, соответствует среднему значению для данного морфологического типа растений. Особенностью *viridis*- и *xantha*-ревертантов является то, что у морфотипов с горизонтальным листом отмечается увеличение пула хлорофилла *a* в РЦ, при этом оно возрастало от компактного к раскидистому кусту. У *albina*-ревертантов не наблюдалось увеличе-

ния концентрации зеленых пигментов в ССК и РЦ. В отдельных случаях оно было даже ниже среднего значения по группе, и определенных зависимостей от морфотипа не выявлено. В то же время увеличено количество каротиноидов в ССК как у светочувствительных, так и светоустойчивых морфологических типов. Подобная корректировка морфофизиологических процессов у растений с супрессированной хлорофиллдефектностью приводит к относительно долговременной адаптации к интенсивному освещению и обеспечивает их жизнеспособность.

Еще одним важным из полученных результатов представляется тот факт, что супрессорные мутации, обладая плейотропным действием, способны вызывать формирование частных стратегий фотозащиты растений с хлорофиллдефектностью, активно расширяя общую или перестраивая ее на специализированные и более надежные механизмы. Используемый в работе экспериментальный подход не только расширяет теоретические представления о фотопротекторных свойствах высших растений, обеспечивающих их экологическую устойчивость, но в силу доступности и простоты может быть включен в селекционные программы.

Изучение природных популяций *F. pratensis* северной части ареала вида показало, что они имеют типичные черты, свойственные перекрестноопыляющимся видам растений. Все изученные популяции проявили значительный уровень генетической гетерогенности. Небольшие различия по частотам обычных аллелей отдельных локусов и наличие специфичных белковых вариантов в промышленно загрязненных городах, по-видимому, связаны как с неодинаковыми климатическими условиями, так и техногенными воздействиями. Предполагается, что антропогенные факторы приводят к определенным изменениям генетической структуры популяций, в частности, вызывая сдвиг аллельных частот и накопление редких белковых вариантов у *F. pratensis*.

Оценка уровня генетического разнообразия островных популяций *F. pratensis* Онежского озера на основе RAPD-анализа показала, что они имеют генетическую структуру, типичную для панмиктических популяций: большая часть общего генного разнообразия приходится на внутрипопуляционную компоненту. В целом популяции островов Онежского озера проявили более низкий уровень

генетического разнообразия и более высокую межпопуляционную дифференциацию по сравнению с континентальными популяциями. Предполагается, что это может быть обусловлено снижением миграционного потока генов вследствие изолированности этих популяций и усиления инбридинга, что, в свою очередь, повлияло на общую приспособленность популяций. Выявлена пониженная приспособленность островных популяций на основе оценки ее компонентов – плодовитости и выживаемости. Стратегия выживаемости *F. pratensis* является адаптивной по отношению к избыточному освещению и нестабильным температурным условиям на протяжении жизненного цикла и направлена на поддержание генетической и экологической устойчивости популяций.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

Агаджанян А. М. Количество пыльцы как регулятор уровня самофертильности и степени развития пола у гермафродитных видов растений // Успехи совр. биол. 1987. Т. 103, № 2. С. 298–313.

Аксенов Е. С. Новый метод окрашивания растительных тканей для приготовления постоянных препаратов // Науч. докл. высш. школы. Сер. биол. науки. 1967. № 11. С. 125–127.

Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига, 2003. 431 с.

Алтухов Ю. П., Животовский Л. А., Садыков С. С. и др. Эффекты модального и направленного отбора по совокупности признаков у хлопчатника *Gossypium hirsutum* // Докл. АН СССР. 1976. Т. 227, № 1. С. 212–215.

Арефьев В. А., Лисовенко Л. А. Англо-русский толковый словарь генетических терминов. М.: ВНИРО, 1995. 405 с.

Артюкова Е. В., Козыренко М. М., Корень О. Г. и др. RAPD- и аллозимный анализ генетической изменчивости *Panax ginseng* С. А. Meuret и *P. quinquefolius* L. // Генетика. 2004. Т. 40, № 2. С. 239–247.

Ахунд-Заде А. И., Хвостова В. В. Цитогенетический анализ мутагенного эффекта ионизирующей радиации и алкилирующих соединений у гороха // Генетика. 1966, № 6. С. 47–54.

Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Тихова М. А., Сулимова Г. М. Влияние низких положительных и отрицательных температур на ультраструктуру клеток листьев картофеля // Бот. журн. 1980. Т. 65, № 8. С. 1156–1161.

Баллыева О. Б., Ломагин А. Г. Репарация теплового повреждения в клетках листа традесканции. I. Репарация ультраструктуры ядрышек и фототаксиса хлоропластов // Цитология. 1979. Т. 21, № 10. С. 1170–1174.

Березина О. В., Корчагин Ю. Ю. К методике оценки мезоструктуры листа видов рода *Triticum* (Poaceae) в связи с особенностями строения его хлорофилоносных клеток // Бот. журн. 1985. Т. 72, № 4. С. 535–541.

Берёзов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биохимия. М.: Медицина, 1990. 543 с.

Биосинтез и биопродуктивность: методы определения / Под ред. А. Т. Мокроносова. М.: ВО «Агропромиздат», 1989. 460 с.

Брик П. Л. Сравнительное изучение ультраструктуры клеток некоторых вегетативных и генеративных органов радиационных и химических мутантов кукурузы: Автореф. дис. ... к.б.н. Кишинев, 1970. 38 с.

Буболо Л. С. Сравнительный анализ ультраструктуры клеток хлоренхимы листа некоторых представителей флор о. Врангеля и Ленинградской области // Бот. журн. 1984. Т. 69, № 11. С. 1482–1491.

Буболо Л. С., Шаркова В. Е. Обратимое слияние хлоропластов в клетках листьев пшеницы после теплового шока // Докл. РАН. 1993. Т. 328, № 1. С. 123–125.

Валева С. А. Принципы и методы применения радиации в селекции растений. М.: Атомиздат, 1967. 87 с.

Венжик Ю. В., Николаевская Т. С., Олимпиенко Г. С. и др. Особенности структуры клеток мезофилла у хлорофиллдефектных мутантов *Festuca pratensis* (Poaceae) // Бот. журн. 2002. Т. 87, № 12. С. 48–58.

Ветштейн Д. Формирование пластидных структур // Структура и функция фотосинтетического аппарата. М., 1962. С. 148–156.

Вознесенская Е. В. Структура хлоренхимы листа *Dendrocalamus strictus* (Poaceae): Тез. докл. на 1-й Всесоюзн. конф. по анатомии растений. Л., 1984. С. 38–39.

Воробьева Е. А., Мелентьева В. В. Цитогенетические эффекты массового отбора у овсяницы луговой // Селекционно-генетические исследования многолетних трав. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1980. С. 33–43.

Геодакян В. А. Количество пыльцы как передатчик экологической информации и регулятор эволюционной пластичности растений // Журн. общ. биол. 1978. Т. 39, № 5. С. 743–751.

Голубовский М. Г. Эволюционизм: через века к современности // Вестник ВОГиС. 2000. № 13–14. С. 4–9.

Гостимский С. А., Кренделева Т. Е., Кухарких Г. П. и др. Характеристики фотосинтетического аппарата хлорофильных мутантов гороха // Физиология растений. 1991. Т. 38. С. 31–39.

Гостимский С. А., Хартина Г. А., Багрова А. М. Селекция гороха на высокую комбинационную способность на фоне полулетального рецессивного гена хлорофильной недостаточности // Докл. АН СССР. 1987. Т. 294, № 5. С. 1228–1232.

Горышина Т. К. Экология растений. М.: Наука, 1979. 368 с.

Гоффман П. О. О взаимоотношениях между хлоропластами и митохондриями // Тр. симп. по биохимии и биофизике фотосинтеза. Иркутск, 1971. С. 94–98.

Гродзинский Д. М. Радиобиология растений. Киев, 1989. 380 с.

Гуляева Е. М., Кузнецова Н. Ф., Лисиченко В. Н. Хлорофильный мутант тополя и его электронно-микроскопическая характеристика // Химический мутагенез и иммунитет. М., 1980. С. 264–269.

Дараселия Г. Я. Выделение и идентификация каротиноидных пигментов микробактерий // Методы биохимических исследований растений. Тбилиси, 1983. С. 92–100.

Динамика популяционных генофондов при антропогенном воздействии / Под ред. Ю. П. Алтухова. М.: Наука, 2004. 619 с.

Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 543 с.

Дубинин Н. П., Гептнер М. А., Бессмертная С. Я. Экспериментальное изучение экогенотипов *Drosophila melanogaster* // Биол. журн. 1934. № 3. С. 166–216.

Дубинин Н. П., Ромашов Д. Д., Гептнер М. А. и др. Аберрантный полиморфизм *Drosophila fasciata* Meig. // Биол. журн. 1937. № 6. С. 311–384.

Дубров А. М. Обработка статистических данных методом главных компонент. М.: Статистика, 1978. 135 с.

Ермакова И. М. Поведение вида в широком диапазоне условий (на примере овсяницы луговой) // Бюлл. Моск. о-ва испыт. природы. 1989. Т. 94, № 2. С. 113–129.

Ермакова И. М. Экологическая, географическая и погодичная изменчивость возрастных состояний луговой овсяницы // Бюлл. Моск. о-ва испыт. природы. Отд. биол. 1984. Т. 89, № 1. С. 94–104.

Жестяников В. Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение. Л.: Наука, 1979. 103 с.

Животовский Л. А. Интеграция полигенных систем в популяциях. М.: Наука, 1984. 182 с.

Животовский Л. А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. Общая генетика. М.: ВИНТИ, 1983. Т. 8. С. 76–104.

Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

Захаров И. А., Кривисский А. С. Радиационная генетика микроорганизмов. М.: Атомиздат, 1972. 296 с.

Иванова Л. А., Пьянков В. И. Структурная адаптация мезофилла листа к затенению // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 3. С. 469–480.

Инге-Вечтомов С. Г. Блочный принцип в теории эволюции. Перспективы и парадоксы // Фундаментальные зоологические исследования. Теория и методы. М.; СПб.: Т-во научных изданий. КМК, 2004. С. 74–87.

Инге-Вечтомов С. Г., Миронова Л. Н., Тер-Аванесян М. Д. Неоднозначность трансляции: версия эукариот // Генетика. 1994. Т. 30, № 8. С. 1022–1035.

Калам Ю., Орав Т. Хлорофильная мутация. Таллин, 1974. 60 с.

Калинина С. И., Лайдинен Г. Ф. Изменчивость природных островных популяций *Festuca pratensis* и *Dactylis glomerata* (Poaceae). Институт биологии Карельского филиала АН СССР. Петрозаводск, 1988. С. 54–65.

Кислюк И. М., Мирославов Е. А., Палеева Т. В. Стимуляция дыхания листьев пшеницы и пролиферация митохондрий в их клетках под влиянием охлаждения // Физиология растений. 1995. Т. 42, № 4. С. 603–606.

Корогодин В. И. Проблемы пострадиационного восстановления. М.: Атомиздат, 1966. 391 с.

Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 278 с.

Кох О. Microsoft Excel 5.0. Санкт-Петербург: BHV–Санкт-Петербург, 1994. 270 с. (*Koch O. MS Excel 5.0. BHV–Verlag, 1994. 270 s.*)

Купцов А. И. Элементы общей селекции растений. Новосибирск: Наука, 1971. 376 с.

Лебедева О. Н., Титов А. Ф., Стафеева Е. Б., Николаевская Т. С. О стратегии фотозащиты у высших растений // Докл. РАСХН. 2007. № 4. С. 15–19.

Лобашев М. Е., Вагги К. В., Тихомирова М. М. Генетика с основами селекции. М.: Просвещение, 1970. 431 с.

Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978. С. 351.

Ленинджер А. Основы биохимии. М., 1985. Т. 2. 731 с.

Лучник Н. В. О системах, обеспечивающих надежность генетического аппарата / В кн.: Системы надежности клетки. Киев: Наукова думка, 1977. С. 62–70.

Лысенко Н. И., Гродзинский Д. М. Влияние предварительного облучения в малых дозах на радиоустойчивость растений *Spirodela polyrhiza* L. Schieid. // Физиология и биохимия культурных растений. 1974. Т. 6, № 4. С. 371–375.

Лях В. А. Микрогаметофитный отбор и его роль в эволюции покрытосеменных растений // Цитол. и генет. 1995, № 6. С. 76–82.

Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 598 с.

Малецкий С. И. Эпигенетические и синергические формы наследования репродуктивных признаков у покрытосеменных растений // Журн. общ. биол. 2004. Т. 65, № 2. С. 116–135.

Марковская Е. Ф., Таланова Т. Ю., Олимпиенко Г. С. и др. Особенности фотосинтетического аппарата хлорофиллдефектных фенотипов мутантных и нативной линий *Festuca pratensis* Huds. // Физиология растений. 2000. Т. 49, № 2. С. 1–5.

Методы биохимического анализа растений / Под ред. В. В. Полевого и Г. Б. Максимова: Учебное пособие. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1978. 192 с.

Мирославов Е. А., Бармичева Е. М., Котеева Н. К. Особенности строения хлоропластов ранневесенних эфемероидов (на примере *Corydalis brakteata*, Fumariaceae) // Бот. журн. 1999. Т. 84, № 8. С. 93–98.

Мокроносов А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.

Мокроносов А. Т. Фотосинтетическая функция и целостность растительного организма. М., 1983. 64 с.

Мокроносов А. Т., Борзенкова Р. А. Методика количественной оценки структуры и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1978. Т. 61, вып. 3. С. 119–132.

Найлэн Р. А. Природа индуцированных мутаций у высших растений // Генетика. 1967. № 3. С. 3–21.

Насыров Ю. С. Фотосинтез и генетика хлоропластов. М., 1975. 143 с.

Николаевская Т. С. Зерновка злаков подсемейства POOIDEAE. Сравнительный анализ морфологических признаков. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 1998. 144 с.

Николаевская Т. С. Морфологические особенности пыльцы в отдаленных потомствах мутантных растений *Festuca pratensis* (Poaceae) // Бот. журн. 1997. Т. 82, № 8. С. 88–93.

Николаевская Т. С., Олимпиенко Г. С. Изменчивость морфологических признаков соцветий овсяницы луговой // Селекционно-генетические исследования многолетних трав. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1980. С. 43–56.

Николаевская Т. С., Петрова Л. Р. Структура перикарпия зерновки и цветковых чешуй злаков. Л.: Наука, 1989. 87 с.

Николаевский В. Г. О типах структуры листа у злаков // Бот. журн. 1972. Т. 57. С. 313–321.

Николаевский В. Г. Сравнительное исследование ксероморфных и мезоморфных признаков в строении листа злаков // Бот. журн. 1970. Т. 55. С. 1442–1449.

Олимпиенко Г. С., Павлова Н. А. Радиобиологический критерий в мутационной селекции растений: адаптивные радиобиологические реакции при индуцированном мутагенезе // Вопросы генетики и селекции многолетних злаков. Петрозаводск: КарНЦ АН СССР, 1990. С. 115–135.

Олимпиенко Г. С., Лебедева О. Н., Николаевская Т. С. и др. Содержание пигментов и морфологический тип у овсяницы луговой // Докл. РАСХН. 2005. № 5. С. 15–17.

Олимпиенко Г. С., Лебедева О. Н., Тихов П. В. и др. Конститутивные дефекты синтеза пигментов и неспецифические компенсаторные механизмы у овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.): Мат-лы симп. Horticultural Plant Breeding to start with XXI century, Lublin, 4–5th February, 1999. P. 697–700.

Олимпиенко Г. С., Титов А. Ф., Митрофанов Ю. А. Депигментация проростков овсяницы луговой под влиянием температуры // Генетика. 1976. Т. 12, № 1. С. 153–155.

Олимпиенко Г. С., Титов А. Ф., Николаевская Т. С. Генетические эффекты у многолетних трав. Л.: Наука, 1982. 112 с.

Орав Т., Шаньги-Березовский Г., Орав И. Радиационный мутагенез и модифицирующие его условия. Таллин, 1972. 198 с.

Орлова И. Н. Ядерно-цитоплазматические взаимодействия и частичная нестабильность отдаленных гибридов злаков // Генетика. 1994. № 10. С. 1423–1431.

Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1974. 304 с.

Попова И. С. Морфологические типы пыльцевых зерен у тетраплоидных форм озимой ржи // Изв. Сиб. отд. АН СССР. 1971. Вып. 3. С. 62–66.

Пьянков В. И., Кондрачук А. В. Особенности структурной организации фотосинтетического аппарата растений Восточного Памира // Докл. РАН. 1995. Т. 344, № 5. С. 712–716.

Ригер Р., Михаэлис А. Генетический и цитогенетический словарь. М.: Колос, 1967. 608 с.

Сапожников Д. И. Пигменты пластид зеленых растений и методика их исследования. М.; Л., 1964. 120 с.

Сейджер Р. Структура хлоропластов и ее связь с фотосинтетической активностью // Структура и функция фотосинтетического аппарата. М., 1962. С. 117–128.

Серебряков И. Г. Морфология вегетативных органов высших растений. М.: Советская наука, 1952. 391 с.

Серебрякова Т. И. Морфогенез побегов и эволюция жизненных форм злаков. М.: Наука, 1971. 359 с.

Серебряный А. М., Зоз Н. Н. Стимулированная репопуляция как основа фенонов антимуtagenеза и адаптивного ответа у растений // Генетика. 2002. Т. 38, № 3. С. 340–346.

Сидорова К. К. Хлорофильные мутации как показатель различий в мутабельности сортов гороха // Генетика. 1966. № 6. С. 81–87.

Силаева А. М. Структура хлоропластов и факторы среды. Киев, 1978. 203 с.

Силаева А. М., Силаев А. В. Методы количественного анализа электронно-микроскопических изображений хлоропластов // Физ. и биохим. культ. растений. 1979. Т. 11, № 6. С. 547–562.

Синская Е. Н. Динамика вида. М.; Л.: Сельхозгиз, 1948. 525 с.

Стоева М. Изменчивость двух популяций *Poa alpina* L. // Фитология (НРБ). 1979. № 12. С. 37–51.

Столбова А. В. Генетический анализ пигментных мутаций *Chlamydomonas reinhardi*. Сообщение 1. Идентификация основных пигментов и описание коллекции пигментных форм // Генетика. 1971. Т. 7, № 9. С. 90.

Струнников В. А. Возникновение компенсационного комплекса генов – одна из причин гетерозиса // Журн. общ. биол. 1974. Т. 35, № 5. С. 666–677.

Суходолец В. В. Механизм вертикальной эволюции и теория нейтральности // Генетика. 1991. Т. 27, № 10. С. 1685–1696.

Суходолец В. В. Приспособленность, экологическая устойчивость и эволюция диплоидных организмов // Генетика. 2000. Т. 36, № 1. С. 5–16.

Суходолец В. В. Регуляторный отбор как альтернатива теории нейтральности // Генетика. 1995. Т. 31, № 12. С. 1589–1597.

Тахтаджян А. Л. Система магнолиофитов. Л.: Наука, 1987. 438 с.

Теория отбора в популяциях растений. Новосибирск: Наука, 1976. 272 с.

Тимофеев-Ресовский Н. В., Воронцов Н. Н., Яблоков А. В. Краткий очерк теории эволюции. М., 1977. 297 с.

Титов А. Ф., Олимпиенко Г. С. Частота хлорофиллдефектных проростков в селекционных потомствах овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.) // Генетика. 1976. Т. 12, № 2. С. 162–164.

Титов А. Ф., Олимпиенко Г. С., Павлова Н. А. О возможности селективной ценности температурочувствительных хлорофильных мутаций у овсяницы луговой // Журн. общ. биол. 1978. Т. 39, № 4. С. 628–632.

Титов А. Ф., Николаевская Т. С., Дроздов С. Н., Олимпиенко Г. С. Полиморфность морфологических признаков в популяции овсяницы луговой // С.-х. биология. 1975. Т. 10, № 5. С. 740–744.

Туренцева М. С., Таран С. Ф., Белецкий Ю. Д. и др. Структура и функции хлоропластов у жизнеспособных пластомных мутантов подсолнечника // Физиол. раст. 1975. Т. 34, вып. 6. С. 1090–1096.

Фадеева Т. С., Соснихина С. П., Иркаева Н. М. Сравнительная генетика растений. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1980. 248 с.

Федоренко О. М., Олимпиенко Г. С. Генетическое разнообразие природных популяций *Festuca pratensis* Huds. в Карелии // Генетика. 1998. Т. 34, № 3. С. 379–384.

Фурст Г. Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М.: Наука, 1979. 155 с.

Хагеманн Р., Германн Ф., Бернер Т. Использование пластидных и генных мутаций высших растений в исследовании генетического контроля функций пластид // Генетические аспекты фотосинтеза: Тез. докл. всеоюзн. симп. Душанбе: Дониш, 1972. С. 31–33.

- Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 588 с.
- Цвелев Н. Н. Злаки СССР. Л.: Наука, 1976. 787 с.
- Цельникер Ю. Л. Влияние интенсивности света на число и размеры хлоропластов у древесных пород // Физиол. раст. 1975. Т. 22, № 2. С. 262–269.
- Четвериков С. С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики // Журн. эксперим. биол. 1926. № 1. С. 3–54.
- Шаркова В. Е. Репарация различных клеточных функций листьев пшеницы после теплового повреждения // Цитология. 1990. Т. 32, № 1. С. 28–33.
- Шаркова В. Е., Буболо Л. С., Каменцева И. Е. Термостойчивость клеток и образование гранул теплового шока листьев пшеницы // Физиол. раст. 1996. Т. 43, № 1. С. 87–93.
- Шестаков С. В., Глазер В. М., Жевнер В. А. Индуцированные ультрафиолетовыми лучами включения тимина и тимидина в ДНК синезеленых водорослей // Научн. докл. высш. школы. Биол. науки. 1973. № 5. С. 107–111.
- Ширяев А. И. Субмикроскопическая и макромолекулярная организация хлоропластов. Киев, 1978. 159 с.
- Шлык А. А. О спектрофотометрическом определении хлорофиллов *a* и *b* // Биохимия. 1968. Т. 33, вып. 2. С. 275–295.
- Шмальгаузен И. И. Проблемы дарвинизма. Л.: Наука, 1969. 494 с.
- Шульгин И. А. Морфофизиологические приспособления растений к свету. М., 1963. 72 с.
- Шульгин И. А. Растение и солнце. Л., 1973. 251 с.
- Шульгин И. А. Солнечная радиация и растение. Л., 1967. 180 с.
- Эзау К. Анатомия растений. М., 1969. 564 с.
- Эзау К. Анатомия семенных растений. М., 1980. Т. 2. 558 с.
- Янков Б., Андея В., Георгиев С. Сравнителен морфологичен анализ на клетки и хлоропласти при различни по чувствителност на карбонатна хлороза сортове фъстъци // Растениевед. науки. 1996. Т. 33. С. 46–48.
- Alberto R. S., Heskehn I. D., Hofstra G. et al. Composition and activity of the photosynthetic apparatus in temperature-sensitive mutant of higher plants // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1974. V. 71. P. 2414–2418.
- Anderson J. M. Insights into the consequences of grana stacking of thylakoid membranes in vascular plants: a personal perspective // Aust. J. Plant Physiol. 1999. V. 26. P. 625–639.
- Apirion D., Zonary D. Chlorophyll lethal in natural populations of the orchard grass (*Dactylis glomerata* L.). A case of balanced polymorphism in plants // Genetics. 1961. V. 46. P. 393–399.

- Auquier P. Biologie de la reproduction dans le genre *Festuca* L. (*Poaceae*). 1. Systemes de Pollinisation // Bull. Soc. roy. bot. Belg. 1977. V. 110. P. 129–150.
- Ayala F. J., Valentine J. W. Genetic variability in the pelagic environment: a paradox? // Ecology. 1979. V. 60. P. 24–29.
- Ayres D. R., Ryan F. J. Genetic diversity and structure of the narrow endemic *Wyethia reticulata* and its congener *W. bolanderi* (*Asteraceae*) using RAPD and allozyme techniques // Amer. J. Bot. 1999. V. 86. P. 344–353.
- Bachmann A., Fernandezlopez J., Ginsburg S. et al. Stay-green genotypes of *Phaseolus vulgaris* L. – chloroplasts proteins and chlorophyll catabolites during foliar senescence // New Phytologist. 1994. V. 126. P. 593–600.
- Bartley G. E., Scolnik P. A. Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health // The Plant Cell. 1995. V. 7. P. 1027–1038.
- Beale S. I. Enzymes of chlorophyll biosynthesis // Photosynth. Res. 1999. V. 60. P. 43–73.
- Beddows A. R. Seed setting and flowering in varione grasses // Welsh Plant Breed. St. Bull. Ser. H. 1931. N 12. P. 5–19.
- Behera R. K., Choudhury N. K. Photosynthetic characteristics of chloroplasts of primary wheat leaves grown under different irradiance // Photosynthetica. 2001. V. 39. P. 11–15.
- Bellemare G., Bartlet S. G., Chua N. H. Biosynthesis of chlorophyll *a/b* binding polypeptides in wild type and the chlorina f2 mutant of barley // J. Biol. Chem. 1982. V. 257. P. 7762–7767.
- Bilger W., Björkman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis* // Photosynth. Res. 1990. V. 25. P. 173–185.
- Blixt S., Ehrenberg L., Gelin O. Studies of induced mutation in peas. VII. Mutation spectrum and mutation rate of different mutagenic agents // Agr. Hort. Genet. 1963. V. 21. P. 178–216.
- Blixt S. Mutation induction in Phleum // Agri Hortique Genetica. Landstryck. 1976. V. 34. P. 58–82.
- Boardman N. K., Highkin H. R. Studies on a barley mutant lacking chlorophyll *b* // Biochem. Biophys. Acta. 1966. V. 126. P. 189–199.
- Bossmann D., Grimme L., Knoetzel J. Protease-stable integration of Lhc b1 into thylakoid membranes is dependent of chlorophyll *b* in allelic chlorina f2 mutants of barley // Planta. 1999. V. 207. P. 132–139.
- Bouvier F., d'Harlingue A., Hugueney P. et al. Xanthophyll biosynthesis. Cloning, expression, functional reconstitution, and regulation of β -cyclohexenyl carotenoids epoxidase from pepper (*Capsicum annuum*) // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 28861–28867.

Bouvier F., Huguency P., d'Harlingue A. et al. Identification of neoxanthin synthase as a carotenoid cyclase paralog // Eur. J. Biochem. 2000. V. 267. P. 6346–6352.

Brown W. Leaf anatomy in grass systematics // Bot. gaz. 1958. V. 119. P. 170–178.

Bugos R. C., Hieber A. D., Yamamoto H. Y. Xanthophyll cycle enzymes are members of the lipocalin family, the first identified from plants // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 15321–15324.

Burbridge A., Grieve T., Terry C. et al. Structure and expression of a cDNA encoding zeaxanthin epoxidase isolated from a wilt-related tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) library // J. Experim. Botany. 1997. V. 314. P. 1148–1150.

Caffari S., Croce R., Cattivelli L., Bassi R. A look within LHCII: Differential analysis of the Lhcb1-3 complexes building the major trimeric antenna complex of higherplant photosynthesis // Biochem. 2004. V. 43. P. 9467–9476.

Chanyi-Kovacs C., Horanszky A. Charakterisierung der Festuca-Populationen auf Grund der Merkmale der Rispe // Ann. Univ. Sci. Budapest. Sec. Biol. 1973. N 15. S. 68–74.

Chow W. S., Funk C., Hope A. B., Govindjee A. Greening of intermittent-light-grown bean plants in continuous light: Thylakoid components in relation to photosynthetic performance and capacity for photoprotection // Indian J. Biochem. Biophys. 2000. V. 37. P. 395–404.

Chunaev A. S., Mirnaya O. N., Maslov V. G., Boschetti A. Chlorophyll *b*- and luteoxanthin-deficient mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* // Photosynthetica. 1991. V. 25. P. 291–301.

Clearwater M. J., Gould K. S. Leaf orientation and light interception by juvenile *Pseudopanax crassifolius* (Cunn.) C. Koch in a partially shaped forest environment // Oecologia. 1995. V. 104. P. 363–371.

Clegg M. T., Allard R. W., Kahler A. L. Is the gene the unit of selection? Evidens from two experimental plant populations // Proc. Natl. Acad. Sci. US. 1972. V. 69. P. 2474–2478.

Collins J. L. A low temperature type of albinism in barley // J. Heredity. 1937. V. 18. P. 331–334.

Conklin P. L., Saracco S. A., Norris S. R., Last R. L. Identification of ascorbic acid-deficient *Arabidopsis thaliana* mutants // Genetics. 2000. V. 154. P. 847–856.

Conklin P. L., Williams E. H., Last R. L. Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient *Arabidopsis* mutant // Proc. Natl. Acad. Sci. US. 1996. V. 93. P. 9970–9974.

Cornah J. E., Terry M. J., Smith A. G. Green or red: what stops the traffic in the tetrapyrrole pathway? // Plant Science. 2003. V. 8. P. 224–230.

Crácium C., Corneanu G. Ultrastructural characteristics of palisade parenchyma of the leaves of normal plants and of some chlorophyll mutants with *Lycopersicon esculentum* Mill. // Rev. roum. biol. ser. biol. veg. 1980. V. 25. № 1. P. 79–82.

Darlington C. D., Wylie A. P. Chromosome atlas of flowering plants. London: G. Allen & Unwin. 1955. 520 p.

Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin // Biochem. Biophys. Acta. 1990. V. 1020. P. 1–24.

Demmig-Adams B., Adams III W. W., Heber U. et al. Inhibition of zeaxanthin formation and of rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplasts // Plant Physiol. 1990. V. 92. P. 293–301.

Dobzhansky T. Genetics and the origin of species, 3d ed., rev. Columbia, N. Y., 1951. 364 p.

Dobzhansky T. Genetics of the evolutionary process. N. Y.: Columbia Univ. Press, 1970. 505 p.

Drozdová A. I. Proměnlivost výnosových a jakostních ukazatelů u kostřavy luční (*Festuca pratensis* Huds.) a její ovlivnění N-metyl-N-nitrozomocovinou (NMM) // Aut. dis. ... kand. zem.-lesn. věd. Brno. 1985. 20 c.

Duckham S. C., Linforth R. S. T., Taylor I. B. Abscisic-acid-deficient mutants at the aba gene locus of *Arabidopsis thaliana* are impaired in the epoxidation of zeaxanthin // Plant Cell Environ. 1991. V. 14. P. 601–606.

Dube M., Morisset P. Morphological and leaf anatomical variation in *Festuca rubra sensu lato* (*Poaceae*) from eastern Quebec // Can. J. Bot. 1987. V. 65. N 6. P. 1065–1077.

Dunn G. M., Ketel E. S., Rontley D. G., Conture R. R. M. Effects of temperature and photoperiod on a vernal mutant in smooth brome grass // Ibid. 1973. V. 13. N 1. P. 69–72.

Duysen M. E., Freman T. R., Williams N. D., Olson L. L. Regulation of excitation energy in wheat mutant deficient in light-harvesting pigment protein complex // Plant Physiol. 1984. V. 76. P. 561–566.

Eckhardt U., Grimm B., Hörtensteiner S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants // Plant Mol. Biol. 2004. V. 56. P. 1–14.

Ehrenberg L., Gustafsson A., Lundqvist U. Viedle mutante induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens // Hereditas. 1961. V. 47. P. 243.

Eggink L. L., Park H., Hooper J. K. The role of chlorophyll *b* in photosynthesis: Hypothesis // Plant Biol. 2001. V. 1. P. 450–465.

Elrad D., Niyogi K. K., Grossman A. R. A major light-harvesting polypeptide of photosystem II functions is thermal dissipation // *Plant Cell*. 2002. V. 14. P. 1801–1816.

Eskins K., Duesen M. E. Chloroplast structure in normal and pigment-deficient soybeans grown in continuous red or far-red light // *Plant Physiol*. 1983. V. 73. P. 51–55.

Eskins K., Jaing C. Z., Shibles R. M. Light-quantity and irradiance effects on pigments, light-harvesting proteins and Rubisco activity in *a* chlorophyll and light-harvesting deficient mutant // *Physiol. Plant*. 1991. N 83. P. 47–53.

Espineda C. E., Linford A. S., Devine D., Brusslan J. A. The AtCAO gene, encoding chlorophyll *a* oxygenase, is required for chlorophyll *b* synthesis in *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Natl. Acad. Sci. US*. 1999. V. 96. P. 10507–10511.

Eyster W. H. Genetics of *Zea mays* // *Bibliogr. Genet*. 1934. V. XI. P. 186–392.

Falbel G., Staehelin L. A. Partial blocks in the early steps of the chlorophyll synthesis pathway: a common feature of chlorophyll *b* – deficient mutants // *Physiol. Plant*. 1996. V. 97. P. 311–320.

Fisher R. A. The evolution of dominance // *Biol. Rev*. 1931. V. 6. P. 345–368.

Folly P., Engel N. Chlorophyll *b* to Chlorophyll *a* Conversion Precedes Chlorophyll Degradation in *Hordeum vulgare* L. // *J. Biol. Chem*. 1999. V. 274. P. 21811–21816.

Freeling M. Toward monitoring specific DNA lesions in the gene by using systems // *Environ. Health Perspect*. 1981. V. 37. P. 13–17.

Freeman T. P., Duysen M. E., Olson L. L., Williams N. D. Electron transport and ultrastructure of a chlorophyll-deficient mutant of wheat // *Photosynth. Res*. 1982. N 3. P. 179–189.

Ganesan A. K., Cooper P. K., Hanawalt P. C., Smith C. A. Biochemical mechanism and genetic of DNA repair // DNA repair chromosome alterat. and chromatin struct.: Proc. Int. Meet. Nordinijkerhout. 23–25 Apr. 1981. Amsterdam e. a. 1982. P. 313–323.

Gaul H. Mutations in plant breeding // *Radiat. Bot*. 1964. V. 4. P. 155–232.

Gavazzi G., Piccardo C., Manzoni L. A study of the effects of temperature and nutrients on the expression of chlorophyll mutants in maize // *Z. Pflanzenphysiol*. 1975. Bd. 75. S. 381–391.

Georgiew S. A. Male sterile mutants induced in *T. aestivum* after EMS treatment // *Докл. Болг. АН*. 1981. Т. 35. С. 241–244.

Gilmore A. M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves // *Physiol. Plant*. 1997. V. 99. P. 197–209.

Gilmore A. M., Ball M. C. Protection and storage of chlorophyll in overwintering evergreens // Proc. Natl. Acad. Sci. US. 2000. V. 97. P. 11098–11101.

Gitzendanner M. A., Soltis P. S. Pattern of genetic variation in rare and widespread plant congeners // Amer. J. Bot. 2000. V. 87. P. 783–792.

Gottlieb L. D. Electrophoretical evidence and plant populations // Prog. Phytochem. 1981. V. 7. P. 1–46.

Gottschalk W., Müller F. Quantitative Pigment untersuchungen an strahleninduzierten chlorophyllmutanten von *Pisum sativum*. Die Letalmutanten // Planta. 1964. V. 61. P. 259–271.

Govindjee A. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence // Australian Journal of Plant Physiology. 1995. V. 22. P. 131–160.

Grant V. Genetics of flowering plants // Columbia University press. New York, 1975.

Greene B. A., Allred D. R., Morishige D. G., Stachelin L. A. Hierarhial responce of light-harvesting chlorophyll proteins in a light-harvesting chlorophyll-b-deficient mutants maize // Plant Physiol. 1988. N 87. P. 357–364.

Guamet J. J., Nooden L. D. Mass exodus from senescing soybean chloroplasts // Plant Cell Physiol. 1999. V. 40. N 9. P. 986–992.

Gustafsson A. Productive mutations induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens // Hereditas. 1963. V. 50. P. 211–263.

Gustafsson A. The mutation system of the chlorophyll apparatus // Lunds univ. arsberatt. 1940. V. 2. N 36. P. 1–40.

de Haan H. Inheritance of Chlorophyll deficiencies // Dibliot. Genet. 1933. V. 10. P. 357–416.

Haldane J. B. S. A note on Fishers theory of the origin of dominance // Amer. Nat. 1930. V. 64. P. 87–90.

Hallquist C. Chlorophyllmutanten bei Gerste // Hereditas. 1924. V. 5. P. 49–83.

Hamrick J. L., Godt M. J. W. Allozyme diversity in plant species // Plant population genetics, breeding, and genetic resources / Eds Brown A. H. D., Clegg M. T., Kahler A. L., Weir B. S. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates, 1990. P. 43–64.

Hamrick J. L., Linhart Y. B., Mitton J. B. Relationship between life history characteristic and electrophoretically detectable genetic variation in plants // Annu. Rev. Ecol. Syst. 1979. V. 10. P. 173–200.

Hänsel H. Beobachtungen über albinotische und virescente Chlorophyllaberranten und deren Nachkommen bei Gerste (*Hordeum vulgare convar. distichon*) // Z. für Vererbungslehre. 1960. V. 91. P. 358–372.

Hartel H., Lokstein H., Grimm B., Rank B. Kinetic studies on the xanthophyll cycle in barley leaves: Influence of antenna size and relations to

nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching // *Plant Physiol.* 1996. V. 110. P. 471–482.

Havaux M., Niyogi K. K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 1999. V. 96. P. 8762–8767.

Heiner E., Konsak C. F., Nilan R. A., Legault R. R. Diverse ration of mutation to chromosome aberration in barley treated with diethyl sulphate and gamma rays // *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 1960. V. 46. P. 1215–1221.

Heringa R. Mutation research in peas // *Euphytica.* 1964. V. 13. P. 330–336.

Hetherington S. E., Smille R. M., Davies W. J. Photosynthetic activities of vegetative and fruiting tissues of tomato // *J. Experim. Botany.* 1998. V. 49. P. 1173–1181.

Highkin H. R., Frenkel F. W. Studies of growth and metabolism of a barley mutant lacking chlorophyll *b* // *Plant physiol.* 1962. V. 37. P. 814–820.

Highkin H. R., Boardman N. K., Goodchild D. J. Photosynthetic studies on a pea-mutant deficient in chlorophyll // *Plant Physiol.* 1969. V. 44. P. 1310–1320.

Holm G. Chlorophyll mutation in barley // *Acta Agrict. Scand.* 1954. V. 4. P. 451.

Hong S. S., Hong T., Jiang H., Xu D. Q. Changes in the non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence during aging of wheat flag leaves // *Photosynthetica.* 1999. V. 36. P. 621–625.

Horansky A., Fekete G., Precsenyi I., Tölguesi C. Comparative experimental morphological investigations on populations of *Festuca vaginata w. et K., I.* // *Acta Botanica Academiae scientiarum Hungaricae, Academiai kiado, Budapest.* 1960. V. 26. N 1–2. C. 60–69.

Horton P., Bowyer J. R. Chlorophyll fluorescence transients. In: Harwood J., Bowyer J. R., eds. *Methods in Plant Biochemistry* // London: Academic Press, 1990. P. 259–296.

Horton P., Ruban A. V., Walters R. G. Regulation of light harvesting in green plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1996. V. 47. P. 655–684.

Horton P., Ruban A. V., Rees D. et al. Control of the light-harvesting function of chloroplast membranes by aggregation of the LHC II chlorophyll-protein complex // *FEBS Lett.* 1991. V. 29. P. 1–4.

Hudák J., Šomšáková V. Number of plastids in the xantha mutant of *Abies alba Mill.* // *Acta Fac. rerum natur. Univ. Physiol. Plant.* 1979. N 16. P. 33–36.

Huffaker R. G., Cox E. L., Kleinkopo G. E., Stanford E. H. Regulation of synthesis of chlorophyll, carotene ribulose – 1,5-diphosphat carboxylase and

phosphoribulokinase in a temperature-sensitive of chlorophyll mutant of *Medicago sativa* // Plant Physiol. 1970. V. 23. P. 404–411.

Hurry V., Anderson J. M., Chow W. S., Osmond C. B. Accumulation of zeaxanthin in abscisic acid-deficient mutants of *Arabidopsis* does not affect chlorophyll fluorescence quenching or sensitivity to photoinhibition in vivo // Plant Physiol. 1997. V. 113. P. 639–648.

Jones A. G. Environmental effects on the percentage of stainble and presumed normal pollen in Aster (Compositae) // Amer. J. Bot. 1976. V. 63. P. 657–663.

Kahler A. L., Allard R. W. Worldwide patterns of genetic variation among four esterase loci in barley (*Hordeum vulgare* L.) // Theoret. Appl. Genet. 1981. V. 59. N 2. P. 11–111.

Kajanus B. Zur genetic des chlorophylls von *Festuca elatior* L. // Bot. notis. 1921. S. 131–137.

Kato M., Ikoma Y., Matsumoto H. et al. Accumulation of Carotenoids and Expression of Carotenoid Biosynthetic Genes during Maturation in Citrus Fruit 1 // Plant Physiol. 2004. V. 134. P. 824–837.

Kautsky H., Appel W., Amann H. Chlorophyllfluoreszenz und kohlenaureassimilation // Biochemische Zeitschrift. 1960. V. 322. P. 277–292.

Kevin V. C., Willson K. G. An ultrastructural survey of plastome mutants of *Hosta (Liliaceae)* // Cutobios. 1980. V. 28. N 110. P. 71–83.

Kilian A., Maluszynski M. Genetic variability of *Arabidopsis thaliana* populations from regions of different pollution level // AIS. 1987. N 25. P. 57–66.

Knapp A. K., Vogelmann T. C., McClean T. M., Smith W. K. Ligth and chlorophyll gradients within *Cucurbita* cotyledons // Plant, Cell and Environment. 1988. V. 11. P. 257–263.

Knoetzel J., Simpson D. Expression and organization of antenna proteins in the light- and temperature-sensitive barley mutant chlorine 104 // Planta. 1991. V. 185. P. 111–123.

Kondo S. Altruistic cell suicide in relation to radiation hormesis // Int. J. Radiat. Biol. 1988. V. 53. N 1. P. 95–102.

Koorneef M., Jorna M. L., Brinkhorst-van der Swan D. L. C., Karssen C. M. The isolation of abscisic acid (ABA) deficient mutants by selection of induced revertants in non-germinating gibberellin sensitive lines of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Theor. Appl. Genet. 1982. V. 61. P. 385–393.

Korner C. A., Necimayer M., Memendes-Riedl S. P., Smiths-Sheel A. Functional morphology of mountain plants // Flora. 1989. V. 182. P. 353–383.

Krause G. H., Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1991. V. 42. P. 313–349.

Krinsky N. I., Levin R. P. Carothoids of wild type and mutants strain of the green alga, *Chlamydomonas reinhardy* // Plant Physiol. 1964. V. 89. P. 680.

Król M., Ivanov A., Jansson S. Greening under light or cold temperature effects the level of xanthophyll cycle pigments early light-harvesting polypeptids in wild type of barley and chlorina f2 mutant // Plant Physiol. 1999. V. 120. P. 193–203.

Kubiska H., Gabara B. Analiza zmian chlorophyllowych u zuta ozimemego // Bull. Inst. Hod. I aklim. Rosl. 1998. N 205–206. P. 37–43.

Kurra-Hotta M., Saton K., Kathoh S. Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedlings // Plant, Cell Physiol. 1987. V. 28. P. 1321–1329.

Lamprecht H. Die Vererbung der Chlorophyllmutante albinaterminalis von *Pisum* sowie Allgemeines zum Verhalten von Chlorophyll- und anderen Genen // Agri. Hort. Genet. 1955. V. 13. S. 103–114.

Lamprecht H. Über Blattfaeben von Phanerogamen // Agri. Hort. Genet. 1960. Bd. 18. S. 135–168.

Land J. B., Whittington W. J., Norton G. Environment dependent chlorosis in mutant plant of *Festuca pratensis* Huds. // Ann. Bot. 1971. V. 35. N 141. P. 605–613.

Larcher W. Physiological plant ecology. Berlin, 1995. 320 p.

Larkin R. M., Alonso J. M., Ecker J. R., Chory J. GUN4, a Regulator of Chlorophyll Synthesis and Intracellular Signaling // Science. 2003. V. 299. P. 902–906.

Lee S. W., Ledig F. T., Johnson D. R. Genetic variation at allozyme and RAPD markers in *Pinus longaeva* (Pinaceae) of the White Mountains (California) // Amer. J. Bot. 2002. V. 89. P. 566–577.

Lefort M. Etude de quelques mutants chlorophyllines induts chez *Lycopersicum esculentum* Mill. // Revue de cytology et de biologie vegetales. 1959. V. 20. P. 3–144.

Levontin R. C. The adaptations of populations to varying environments // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1957. V. 22. P. 395–408.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. Academic Press, San Diego – New York – Berceley – Boston – London – Sydney – Tokyo – Toronto. 1987. V. 148. P. 350–382.

Li X.-P., Bjorkman O., Shih C. et al. A pigment-binding protein essential for the regulation of photosynthetic light harvesting // Nature. 2000. V. 403. P. 391–395.

Lindgren O. Carotenoid Biosynthesis in Seed of *Arabidopsis thaliana* // Doct. Thesis. Uppsala. Swedish Univ. of Agricultural Sciences. 2003. 33 p.

Liu Z., Yan H., Wang K. et al. Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72Å resolution // *Nature*. 2004. V. 428. P. 287–292.

Luna S. V., Figueroa M., Baltazar M. et al. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control // *Crop. Sci.* 2001. V. 41. P. 1551–1557.

Marin E., Nussaume L., Quesada A. et al. Molecular identification of zeaxanthin epoxidase of *Nicotiana plumbaginifolia*, a gene involved in abscisic acid biosynthesis and corresponding to the ABA locus of *Arabidopsis thaliana* // *EMBO J.* 1996. V. 15. P. 2331–2342.

Markwell J. P., Stephen J. D., Hermann B. et al. A temperature-sensitive chlorophyll-*b*-deficient mutants of sweetclover // *Plant Physiol.* 1986. V. 81. P. 329–334.

Markwell J. P., Webber D. N., Lake B. Mutant of sweetclover *Melilotus alba* lacking chlorophyll *b* studies of pigment protein complexes and thylakoid protein phosphorylation // *Plant Physiol.* 1985. V. 77. P. 948–951.

Mascia P. An analysis of precursors accumulated by several chlorophyll biosynthetic mutants of maize // *Mol. Gen. Genet.* 1978. V. 161. P. 237–244.

Maslova T. G., Popova I. A. Adaptive properties of the plant pigment systems // *Photosynthetica.* 1993. V. 29. N 2. P. 195–203.

Masuda T., Tanaka A., Melis A. Chlorophyll antenna size adjustments by irradiance in *Dunaliella salina* involve coordinate regulation of chlorophyll *a* oxygenase (CAO) and Lhcb gene expression // *Proceedings of the 2002 U.S. DOE Hydrogen Program Review.* 2002. P. 1–22.

Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *J. Experim. Botany.* 2000. V. 51. P. 659–668.

McWilliam J. R., Naylor F. W. Temperature and plant adaptation. I. Intraction of temperature and light in the synthesis of chlorophyll corn // *Plant Physiol.* 1967. V. 42. P. 1711–1715.

Miles C. D., Marcwell J. P., Thornber J. P. Effect of nuclear mutant in maize on photosynthetic activity and content of chlorophyll-protein complexes // *Plant Physiol.* 1979. V. 64. P. 690–694.

Millerd A., McWilliam I. R. Stadies on a maize mutant sensitive to low temperature. I. Influence of temperature and light on the production of chlorophyll pigments // *Plant Physiol.* 1968. V. 43. P. 1967–1972.

Mochizuki N., Brusslan J. A., Larkin R. et al. *Arabidopsis* genome uncoupled 5 (GUN5) mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction // *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 2001. V. 98. P. 2053–2058.

Möller E. M., Bahnweg G., Sandermann H., Geiger H. H. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from

filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues // Nucl. Acids Res. 1992. V. 20. N 22. P. 6115–6116.

Montané M.-H., Tardy F., Kloppstech K., Havaux M. Differential control of xanthophylls and light-induced stress proteins, as opposed to light-harvesting chlorophyll *a/b* proteins, during photosynthetic acclimation of barley leaves to light irradiance // Plant Physiol. 1998. V. 118. P. 227–235.

Mulcahy D. L., Mulcahy G. B. The effect of pollen competition // Amer. Sci. 1987. V. 75. P. 44–50.

Müller H. J. Our load of mutations // Amer. J. Hum. Genet. 1950. V. 2. P. 111–176.

Müller-Moulé P., Golan T., Niyogi K. K. Ascorbate-deficient mutants of *Arabidopsis* grow in high light despite chronic photooxidative stress // Plant Physiol. 2004. V. 134. P. 1163–1172.

Müller-Moulé P., Havaux M., Niyogi K. K. Zeaxanthin deficiency enhances the high light sensitivity of an ascorbate-deficient mutant of *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2003. V. 133. P. 748–760.

Müller P., Li X.-P., Niyogi K. K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy // Plant Physiol. 2001. V. 125. P. 1558–1566.

Muraoka H., Takenaka A., Tang Y. et al. Flexible leaf orientations of *Arisema heterophyllum* maximize light capture in a forest understorey and excess irradiance at a deforested site // Annals of Botany. 1998. V. 82. N 43. P. 297–307.

Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Natur. 1972. V. 106. P. 283–292.

Nei M. Molecular evolutionary genetics. N. Y.: Columbia Univ. press, 1987. 512 p.

Newell W. R., van Amerongen H., Barber J., van Grondelle R. Spectroscopic characterization of the reaction centre of photosystem II using polarised light: Evidence for β -carotene excitons in PS II reaction centres // Biochem. Biophys. Acta (BBA) – Bioenergetics. 1991. V. 1057. P. 232–238.

Nilan R. A., Konzak F. Increasing the efficiency of mutation induction // Mut. and Plant Breed. Washington, 1961. 437 p.

Nilan R. A., Rosichan J. L., Arenaz P. et al. Pollen genetic markers for detection of mutagens in the environment // Environ. Health. Perspect. 1981. V. 37. S. 19–25.

Nilsson-Ehle H. Einige Beobachtungen über erbliche Variationen der Chlorophylleigenschaft bei den Getreidearten // Zs. f. und Abst. u. Vererbsl. 1913. V. 9. S. 289–300.

Niyogi K. K. Photoprotection revisited: Genetic and Molecular Approaches // Amer. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1999. V. 50. P. 333–359.

Niyogi K. K., Björkman O., Grossman A. R. Chlamydomonas xanthophyll cycle mutants identified by video imaging of chlorophyll fluorescence quenching // *Plant Cell*. 1997a. V. 9. P. 1369–1380.

Niyogi K. K., Björkman O., Grossman A. R. The roles of specific xanthophylls in photoprotection // *Proc. Natl. Acad. Sci. US*. 1997b. V. 94. P. 14162–14167.

Niyogi K. K., Grossman A. R., Bjorkman O. Arabidopsis mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion // *Plant Cell*. 1998. V. 10. P. 1121–1134.

Niyogi K. K., Shih C., Chow W. S. et al. Photoprotection in a zeaxanthin- and lutein-deficient double mutant of *Arabidopsis* // *Photosynth. Res*. 2001. V. 67. P. 139–145.

Nobel P. S., Walker D. B. Structure of leaf photosynthetic tissue // *Photosynthetic Mechanisms and Environment* / Eds. Barber J., Baker N. R. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. 1985. P. 501–536.

Nybom N. The pigment characteristics of chlorophyll mutations in barley // *Hereditas*. 1955. V. 41. P. 483–498.

Olah B. Analysis of the morphological characteristics of the panicle in four populations of *Sorghum halepense* (L.) Pers. // *Acta agron. Acad. Sci. Hung*. 1981. V. 30. N 3–4. P. 383–406.

Oster U., Tanaka R., Tanaka A., Rudiger W. Cloning and functional expression of the gene encoding the key enzyme for chlorophyll *b* biosynthesis (CAO) from *Arabidopsis thaliana* // *The Plant Journal*. 2000. V. 21. P. 305–310.

Pearcy R. W., Yang W. A three-dimensional crow architecture model for assessment of light capture and carbon gain by understorey plants // *Oecologia*. 1996. V. 108. P. 1–12.

Pihakaski K. Seasonal changes in structure of mesophyll cells in subarctic *Diapensia lapponica* L. // *Rep. Kevo Subarctic res. Stat*. 1981. V. 17. P. 67–80.

Pogson B. J., McDonald K. A., Truong M. et al. *Arabidopsis* carotenoid mutants demonstrate that lutein is not essential for photosynthesis in higher plants // *Plant Cell*. 1996. V. 8. P. 1627–1639.

Pogson B. J., Niyogi K. K., Björkman O., DellaPenna D. Altered xanthophyll compositions adversely affect chlorophyll accumulation and non-photochemical quenching in *Arabidopsis* mutants // *Proc. Natl. Acad. Sci. US*. 1998. V. 95. P. 13324–13329.

Prakash S. Patterns of gene variation in central and marginal populations of *Drosophilla robusta* // *Genetics*. 1973. V. 75. P. 347–369.

Quick W. P., Horton P. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in barley protoplasts. I. Factors affecting the observation of oscillations in the yield of chlorophyll fluorescence and the rate of oxygen

evolution // Proceedings of the Royal Society of London B. 1984. V. 220. P. 361–370.

Reinbothe C., Lebedev N., Apel K., Reinbothe S. Regulation of chloroplast protein import through a protochlorophyllide-responsive transit peptide // Proc. Natl. Acad. Sci. US. 1997. V. 94. P. 8890–8894.

Reinbothe S., Reinbothe C. The regulation of enzymes involved in chlorophyll biosynthesis // Eur J. Biochem. 1996. 237. P. 323–343.

Renvoize S. A. A survey of leave-blade anatomy in grasses. II. Arundinelleae // Kew Bull. 1982. V. 37. P. 489–495.

Renvoize S. A. A survey of leave-blade anatomy in grasses. IX. Centothecoideae // Kew Bull. 1986. V. 41. P. 339–342.

Rieger R., Michaelis A., Takohisa S. Low temperature between conditioning and challenge treatment prevents the «adaptive response» of *Vicia faba* root tip meristem cells // Mutat. Res. Zett. 1992. V. 282. N 2. P. 69–72.

Ritz M., Neverov K. V., Etienn A.-L. Δ pH-dependent fluorescence quenching and its photoprotective role in the unicellular red alga *Rhodella violacea* // Photosynthetica. 1999. V. 7. P. 267–280.

Robertson D. S., Anderson I. C. Temperature-sensitive alleles of the Y₁ locus in maize // J. Heredity. 1961. V. 52. N 2. P. 53.

Rock C. D., Zeevaart J. A. D. The *aba* mutant of *Arabidopsis thaliana* is impaired in epoxy-carotenoid biosynthesis // Proc. Natl. Acad. Sci. US. 1991. V. 88. P. 7496–7499.

Rudiger W. Biosynthesis of chlorophyll *b* and the chlorophyll cycle // Photosynth. Res. 2002. V. 74. P. 187–193.

Runge S., Cleve B., Lebedev N. et al. Isolation and classification of chlorophyll-deficient xantha mutant of *Arabidopsis thaliana* // Planta. 1995. V. 197. P. 490–500.

Samson L., Carnis J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli* // Nature. 1977. V. 267. P. 281–283.

Schwartz S. H., Qin X., Zeevaart J. A. D. Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes and enzymes // Plant Physiol. 2003. V. 131. P. 1591–1601.

Searle G., Brody S., Hoek A. V. Evidence for the formation of a chlorophyll *a*/zeaxanthin complex in lecithin liposomes from fluorescence decay kinetics // Photochem. Photobiol. 1991. V. 52. P. 401–407.

Shields W. M. Philopatry, inbreeding and the evolution of sex. N. Y., Albany: State Univ. N. Y. Press. 1982. 245 p.

Smith W. K., Bell D. T., Shepherd K. A. Associations between leaf structure, orientation and sunlight exposure in five Western Australian communities // Amer. J. of Botany. 1998. V. 85. N 1. P. 56–63.

Smille R. M., Critchley Ch., Bain J. M., Nott R. Effect of growth temperature on chloroplast structure and Activity in barley // *Plant Physiol.* 1978. V. 62. P. 191–196.

Smith W. K., Vogelmann T. N., Delucia E. N. et al. Leaf form and photosynthesis // *Bio Science.* 1997. V. 47. P. 861–867.

Specht J. E., Gorz H. Z. Content of chlorophyll *a* and *b* in chlorophyll-deficient mutants of sweetclover // *Crop. Sci.* 1975. V. 15. P. 851–853.

Standfuss J., Kuhlbrandt W. The three isoforms of the light-harvesting complex II: Spectroscopic features, trimer formation, and functional roles // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 36884–36891.

Stanford E. H. Virescent and temperature sensitive mutant in alfalfa // *Crop Sci.* 1969. V. 9. N 2. P. 255–256.

Stummann B. M., Veierskov B., Jacobsen S.-E., Henningsen K. W. Two temperature sensitive photosystem II mutants of *Pea* // *Plant Physiol.* 1980. V. 49. P. 135–140.

Sun Z., Gantt E., Cunningham F. X. Cloning and functional analysis of the β -carotene hydroxylase of *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. P. 24349–24352.

Suzuki J. Y., Bauer C. E. Altered monovinyl and divinyl protochlorophyllide pools in behJ mutants of *Rhodobacter capsulatus*. Possible monovinyl substrate discrimination of light-independent protochlorophyllide reductase // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 3732–3740.

Suzuki J. Y., Shioi Y. Detection of chlorophyll breakdown products in the senescent leaves of higher plants // *Plant Cell Physiol.* 1999. V. 40. P. 909–915.

Suzuki J. Y., Bollivar D. W., Bauer C. E. Genetic analysis of chlorophyll biosynthesis // *Annu. Rev. Genet.* 1997. V. 31. P. 61–89.

Suzuki J. Y., Doi M., Shioi Y. Two enzymatic reaction pathways in the formation of pyropheophorbide-*a* // *Photosynth. Res.* 2002. V. 74. P. 225–233.

Swofford D. L., Selander R. B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // *J. Heredity.* 1981. V. 72. P. 281–283.

Tanaka A., Ito H., Tanaka R. et al. Chlorophyll *a* oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll *b* formation from chlorophyll *a* // *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 1998. V. 95. P. 12719–12723.

Tardy F., Havaux M. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, light-harvesting system and photoinhibition resistance of a zeaxanthin accumulating mutant of *Arabidopsis thaliana* // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1996. V. 34. P. 87–94.

Terashima I. Dorsiventrality in photosynthetic light response curves of a leaf // *J. Experim. Botany.* 1986. V. 37. P. 399–405.

Thomas H. Leaf senescence in a non-yellowing mutant of *Festuca pratensis* // Photosynthetica. 1983. V. 17. P. 506–514.

Thomas H. Ultrastructure, polypeptide composition and photochemical activity of chloroplasts during foliar senescence of non-yellowing mutant genotype of *Festuca pratensis* // Planta. 1977. V. 137. P. 53–60.

Thornber J. P. Chlorophyll-proteins: light-harvesting and reaction center components of plants // Annu. Rev. Plant Physiol. 1975. V. 26. P. 127–158.

Timofeeff-Ressovsky H. A., Timofeeff-Ressovsky N. W. Genetische analyse einer freilebenden *Drosophila melanogaster*-population // Roux Arch. Entw. Mech. 1927. Bd. 109. S. 70–109.

Torres E., Iriondo J. M., Perez C. Genetic structure of an endangered plant, *Antirrhinum microphillum* (Scrophulariaceae): allozyme and RAPD analysis // Amer. J. Bot. 2003. V. 90. N 1. P. 85–92.

Tracewell C. A., Vrettos J. S., Bautista L. A. et al. Carotenoids photooxidation in Photosystem II // Arch. Biochem. Biophys. 2001. V. 385. P. 61–69.

Walles B. Structure and function of chloroplasts. Berlin: Heidelberg, 1971. 423 p.

Walz H. Handbook of operation with MINI-PAM. 1996.

Wang Z.-Yu., Ge Y., Scott M., Spangenberg G. Viability and longevity of pollen from transgenic and nontransgenic tall fescue (*Festuca arundinacea*) (Poaceae) plants // Amer. J. Bot. 2004. V. 91. P. 523–530.

Welch J. R., Klatt A. R. Effects of temperature and photoperiod on spring wheat pollen viability // Crop. Sci. 1971. V. 11. P. 864–865.

Westgate M. E., Lizano J., Batchelor W. Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in maize // Crop. Sci. 2003. V. 43. P. 934–942.

Wettstein D., Eriksson G. The genetics of chloroplasts. In Genetics today. Proc. XI Intern. Congr. Gen. Hauge. 1965. V. 3. P. 591–610.

Wettstein D., Henningsen K. W., Boynton J. E. Autonomy and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplasts: North-Holland Pub. 1971.

Wilson D., Cooper J. P. Effect of selection for mesophyll cell size on growth and assimilation in *Lolium perenne* L. // New Phytol. 1970. V. 69. P. 233–245.

Winter K., Königer M. Dithiothreitol an inhibitor of violaxanthin de-epoxidation, increases the susceptibility of leaves of *Nerium oleander* L. to photoinhibition of photosynthesis // Planta. 1989. V. 180. P. 24–31.

Witkin E. M., George D. L. Ultraviolet mutagenesis in *polA* and *uvrA* *polA* derivatives in *Escherichia coli* B/R evidence for an inducible error-prone repair system // Genet. Suppl. 1973. V. 73. P. 91–108.

Wollman F. A. State transitions reveal the dynamics and flexibility of the photosynthetic apparatus // EMBO J. 2000. V. 20. P. 3623–3630.