

На правах рукописи

УСМАНОВ ТИМУР ПУЛАТОВИЧ

**ВЛИЯНИЕ МУТАНТНЫХ ГЕНОВ В РАЗЛИЧНОЙ
ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ СРЕДЕ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ФУНКЦИИ *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh**

(03.00.12 – физиология и биохимия растений,
03.00.15 – генетика)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

ДУШАНБЕ - 2007

Работа выполнена в Отделе генетики Института физиологии растений
и генетики Академии наук Республики Таджикистан

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Бободжанов Вахоб Акбарович
(Институт физиологии растений и
генетики Академии наук
Республики Таджикистан),

кандидат биологических наук
Хурматов Худойберды Хасанбаевич
(Таджикский государственный
медицинский университет
им. Абуали ибн Сино)

Ведущая организация: Таджикский государственный
национальный университет

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2007 г. в _____ час.
на заседании диссертационного совета Д 047.001.01 при Институте
физиологии растений и генетики Академии наук Республики Таджикистан
(734063, г.Душанбе, ул.Айни, 299/2, e-mail: asrtkarimov@mail.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной
библиотеке им. И.Ганди Академии наук Республики Таджикистан.

Автореферат разослан «_____» _____ 2007 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук**

Б.Б.Джумаев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Формирование урожая растений определяет продукционный процесс, важнейшей и неотъемлемой частью которого является фотосинтез. Ход продукционного процесса зависит от комплекса внешних и внутренних условий. С целью поиска путей его оптимизации широко исследуется влияние факторов внешней среды на фотосинтетическую активность и другие физиологические реакции растения. Тем не менее, из опыта практической селекции хорошо известно, что проявление физиологических признаков можно изменить и путём подбора генов-модификаторов, то есть посредством изменения фундаментального внутреннего фактора - генотипической среды (Сидорова, 1981; Инге-Вечтомов, 1989).

Современные представления о механизмах влияния генотипической среды на проявление гена в формировании признака развиты, главным образом, на основе исследования животных (Тимофеев-Ресовский, Иванов, 1966; Астауров, 1974; Фадеева и др., 1980). Применительно к растениям плодотворное изучение этой проблемы ограничивается, как принято считать, слабой изученностью частной генетики подавляющего числа сельскохозяйственных культур (Фадеева и др., 1980). О закономерностях действия мутаций в различной генотипической среде на физиологические свойства и продуктивность растений сведений чрезвычайно мало.

Для успешного решения проблем мутационной селекции в целом и понимания принципов действия мутаций в различной генотипической среде на физиологические функции растительного организма необходимо создание экспериментальных модельных систем с последующей экстраполяцией полученных данных на объекты, имеющие практическое значение (Захаров, 1979). В этой связи арабидопсис – (*Arabidopsis thaliana*(L.) Heynh.), эфемерные расы и мутантные формы которого обладают целым рядом неоспоримых преимуществ по сравнению с другими растениями, стал удобным объектом для проведения плодотворных исследований в различных областях общей и физиологической генетики и физиологии растений (Квитко, Мюллер, 1961; Касьяненко, 1966; Redei, 1969, 1975; Абдуллаев, 1972; Бабаджанова, 1972; Иванов, 1974; Гиллер, 1982; Шукла, 1982; Хурматов, 1983; Усманов, 1984; Якубова, 1984; Бакаева, 1987; Саидмурадов, 1988; Бабаджанова, 1990; Усманова, 1990 и др.).

Благодаря уникальной генетической коллекции арабидопсиса и большому опыту работы с этим объектом, геном которого совсем недавно был полностью секвенирован (Мокроносов, Кузнецов, 1999; Томилова, 2000; Vogusket et al., 2001), в Отделе генетики Института физиологии растений и генетики АН РТ создаются экспериментальные модельные системы, которые можно использовать для изучения фенотипики сложных физиологических процессов и признаков. Особенно актуально применение этих моделей и линий, несущих в гетерозиготном состоянии летальные хлорофилльные

мутации, для исследования закономерностей действия мутантного гена в различной генотипической среде на формирование признака плодовитости и в целом на продуктивность растений .

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы - исследование влияния различных сочетаний сигнальных генов *tr`vc`er`gl`* и *an`*, локализованных во всех пяти хромосомах, на некоторые физиологические функции и плодовитость множественно маркированных генетически чистых линий арабидопсиса, а также изучение действия летальных хлорофилльных мутаций в гетерозиготном состоянии на семенную продуктивность этого растения.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- на основе отобранных из генетической коллекции маркерных линий *vc`er` gl`an`* и мутанта *tr`* путём поэтапных скрещиваний создать экспериментальную модельную систему с различным сочетанием сигнальных генов *tr`vc`er`gl`an`* (пятерной рецессив) *A.thaliana*;

- исследовать особенности роста и развития 32-х генетически чистых линий арабидопсиса с различными сочетаниями сигнальных генов;
- изучить действие сигнальных генов в различных генотипических средах на массу 1000 семян;
- выяснить влияние сигнальных генов в зависимости от генотипа на характер изменчивости числа семян в стручке (плоде);
- изучить действие сигнальных генов в различных генотипических средах на характер изменчивости числа семян на одном растении;
- изучить действие гена *tr`* в комбинации с другими сигнальными генами на интенсивность фотосинтеза;
- выяснить влияние летальных хлорофилльных мутаций в гетерозиготном состоянии на семенную продуктивность арабидопсиса.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые создана экспериментальная модельная система *tr`vc`er`gl`an`* (пятерной рецессив) *A. thaliana*, позволяющая плодотворно изучать фенoгенетику сложных физиологических процессов и особенности действия мутантного гена в разной генотипической среде. Получена полная фенoгенетическая характеристика 32-х по-разному маркированных различными сигнальными генами генетически чистых линий арабидопсиса, которая выявила большой потенциал генотипической изменчивости вида *A. thaliana* по плодовитости – интегральному показателю физиологической активности растительного организма.

Впервые показано, что различная генотипическая среда по-разному влияет на проявление генов *tr`vc`er`gl`* и *an`*, если оценивать их действие по различным параметрам признака плодовитости (масса 1000 семян, число семян в плоде, число семян на одном растении). Обнаружено закономерное уменьшение величин этих показателей в зависимости от числа мутантных генов, вводимых в генотип. Максимальные величины массы семян, числа

семян в стручке и на одном растении наблюдались в том случае, когда в генотип арабидопсиса вводили единичные гены *tr`*, *vc`*, *er`*, *gl`* и *an`*.

Установлено, что изменчивость массы семян и числа семян, формирующихся на одном растении, зависит от различных сочетаний сигнальных генов. Масса семян, получаемая с одного растения, является постоянной величиной при условии введения в генотип арабидопсиса от одного до трёх генов. При введении в генотип четырёх и пяти генов этот показатель резко уменьшается.

Показано, что ген *tr`*, детерминирующий морфологический признак – тройные плоды, в сочетании с сигнальными генами, особенно с *vc`*, *an`* и *er`*, приводит к значительному повышению интенсивности фотосинтеза.

Исследование влияния летальных мутаций в гетерозиготном состоянии на физиологические процессы выявило ряд мутантных гетерозигот арабидопсиса, статистически достоверно превосходящих исходную расу *Enkheim* по показателям роста, развития и семенной продуктивности (эффект моногибридного гетерозиса). Показано, что фенотипическое проявление моногибридного гетерозиса при выращивании в одних и тех же условиях существенно зависит от времени года

Результаты изучения плодovitости растений на примере модельного объекта – арабидопсиса указывают на сложную картину проявления летальных и витальных мутаций в зависимости от эндогенных и экзогенных факторов. Вместе с тем, на основе полученных нами данных есть все основания предполагать, что, комбинируя эти факторы, можно создать необходимые условия для максимального проявления действия генов, влияющих на плодovitость, и использовать эти подходы для разработки эффективных генетико-селекционных методов повышения урожайности сельскохозяйственных растений.

Апробация работы. Основные результаты исследования были доложены (или представлены) на: научной конференции «Биосфера и человечество», посвящённой 100-летию со дня рождения Н.В. Тимофеева-Ресовского (Обнинск, 2000); Международной конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения Н.В. Тимофеева-Ресовского (Минск, 2000); научной конференции молодых учёных Академии наук Республики Таджикистан, посвящённой 50-летию АН РТ (Душанбе, 2001); Юбилейной конференции, посвящённой 100-летию профессора А.Р. Жебрака и 70-летию образования кафедры генетики в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева (Москва, 2002); научной конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития физиологии растений», посвящённой 40-летию Института физиологии растений и генетики АН РТ и 80-летию города Душанбе (Душанбе, 2004); второй Международной конференции «Современные проблемы генетики, радиобиологии, радиэкологии и эволюции», посвящённой 105-ой годовщине со дня рождения Н.В. Тимофеева-Ресовского (Ереван, 2005).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ.

Структура и объём работы. Диссертация изложена на 99 страницах машинописного текста, включает 11 таблиц и 4 графика, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 220 наименований, в том числе 61 - иностранных авторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Глава 1. Объекты и методы исследований

Работа проводилась (1993-2001 гг.) в условиях высокогорья, на опытных участках Высокогорной биологической станции «Сиёкух» Института физиологии растений и генетики АН РТ (2350 м над ур. моря), а также в теплице и в лабораторных условиях на территории Отдела генетики Института физиологии растений и генетики АН РТ (г. Душанбе).

В качестве объектов исследований служили тесторные линии арабидопсиса *vcer*, *glan* и *tr* (Redei, 1965; Usmanov, 1970), выделенные из расы *Columbia: glabra (gl)* - отсутствие опушения, ген локализован в III-ей группе сцепления; *angustifolia (an)* – узкий удлинённый лист, I-я группа сцепления; *viridicaulis (vc)* – стебель светло-зелёного цвета, IV-я группа сцепления; *erecta (er)* – растения эректоидного типа, II – я группа сцепления; *triplex (tr)* – тройные стручки, V-я группа сцепления. Скрещивания проводили по методике, описанной в работе П.Д.Усманова и А.Мюллера (1970).

После основательной проверки на чистоту наследования мутантных генов в череде 3-7 поколений множественно маркированные различными сигнальными генами растения арабидопсиса выращивали в пластмассовых ванночках (24x14x7), заполненных цветочной почвой с речным песком в соотношении 2:1. Почву в ванночках тщательно увлажняли. Тупым концом карандаша делали по 28 углублений в каждой ванночке и в каждое углубление помещали по 2-3 воздушно-сухих семени. Лунки на поверхности почвы это своеобразные метки, облегчающие контроль за процессом прорастания семян, так как на поверхности почвы, перемешанной с песком, мелкие семена арабидопсиса плохо заметны. Кроме того, в отверстиях-лунках скапливается вода при поливе, что предотвращает нежелательную подсушку семян, способствуя их ускоренному прорастанию. После появления всходов проводили прореживание, оставляя в каждой лунке по одному проростку. Растения выращивали в период с марта по май в Душанбе, а с июня по сентябрь - в полевых условиях Биостанции «Сиёкух». На различных этапах роста и развития по вариантам опытов проводили фенологические наблюдения, а также учитывали изменчивость ряда количественных признаков растений.

Учет количественных признаков проводили также и на гербарных образцах. Анализировали следующие показатели: высоту растения до закладки первого стручка и до верхушки соцветия на главном стебле; число стеблей (кустистость); количество боковых ветвей; число стручков (плодов)

на главном стебле; число стручков на остальных ветвях; длину стручка на главном стебле (без плодоножки); число семян в стручке; число семян на одном растении; массу 1000 семян; на основе которой, рассчитывали массу одного семени; диаметр розеточных листьев; длину стержневого корня. Из перечисленных параметров мы отдали предпочтение трём - числу стручков на одном растении с количеством семян в одном стручке, массе 1000 семян и числу семян на одном растении. Выбранные показатели, как нам представляется, вполне объективно характеризуют семенную продуктивность растений. Все изучаемые показатели по всем вариантам опытов проводились на 15 растениях арабидопсиса.

Цитологический анализ мезоструктуры (число и размер хлоропластов, размер и число клеток) проводили на сформировавшихся средних участках розеточных листьях. Инфильтрацию срезов проводили в изотоническом растворе сахарозы по общепринятой методике (Боннер, 1968). Препараты анализировали под световым микроскопом МБИ-3 при увеличении $\times 300$. Диаметр хлоропласта измеряли окуляр-микрометром МОВ-15^x при общем увеличении $\times 1350$.

В фазы бутонизации и цветения растений на розеточных листьях определяли интенсивность фотосинтеза по выделению кислорода полярографическим методом (Зеленский, 1986).

В опытах по действию летальных мутаций были отобраны 87 гетерозиготных линий, в потомстве которых выщеплялись рецессивные эмбрионально-летальные хлорофилльные мутации типа *albina* (*al*), *xantha* (*xa*) и *chlorina* (*ch*). Семенное потомство гетерозиготных растений выращивали в контролируемых условиях (в пробирках на поверхности агара при 16-ти - часовом освещении люминесцентными лампами в фотостате), и в полевых условиях на Биостанции «Сиёкух». По мере роста и развития растений проводили фенологические наблюдения, а в конце вегетации анализировали изменчивость ряда количественных признаков, отдавая предпочтение показателям семенной продуктивности.

Для обработки результатов исследований использовали общепринятые статистические методы (Рокитский, 1973; Доспехов, 1983).

Глава 2. Создание экспериментальной модели *tr`vc`er`gl`an`* для изучения действия мутантных генов на плодовитость растений

Для получения множественно маркированных различными сигнальными генами линий арабидопсиса (т.е. линий с различной генотипической средой) проводили поэтапные скрещивания. На первом этапе скрещивали *vc`er` x gl`an`* с выделением в системе тетрагибридного скрещивания нового четвертого рецессива *vc`er`gl`an`*. На втором - осуществляли скрещивание *vc`er`gl`an` x tr`*. В F_2 поколении от этих скрещиваний был выделен тройной рецессив *tr`vc`gl`*. На третьем этапе скрестили *vc`er`gl`an` x tr`vc`gl`* и в F_2 - отобрали ряд семей, растения которых имели признаки пятерного рецессива *tr`vc`er`gl`an`*.

Многочисленные скрещивания маркерных линий между собой и с растениями дикого типа позволили получить 32 линии с различным сочетанием сигнальных генов.

Созданная нами генетическая коллекция, состоящая из 32-х генетически чистых морфологических мутантных линий с различными сочетаниями сигнальных генов (tr , vc , er , gl , an ; $trvc$, $trer$, $trgl$, $tran$, vc , er , $vcgl$, vc , an , er , gl , er , an , gl , an ; $trvc$, er , $trgl$, an , $trvc$, gl , tr , er , gl , $trvc$, an , tr , er , an , vc , gl , an , vc , er , gl , vc , er , an , er , gl , an ; $trvc$, er , gl , $trvc$, er , gl , $trvc$, gl , an , tr , er , gl , an , vc , er , gl , an , и $trvc$, er , gl , an), включая исходную расу *Columbia* (*Col*), была использована для детального изучения влияния генотипической среды на рост, развитие и плодовитость растений арабидопсиса.

Фенологические наблюдения выявили большое многообразие действия мутантных генов на морфофизиологические параметры растений арабидопсиса. Единичные гены и их различные сочетания в одном генотипе по-разному влияют на рост растений, на изменчивость вегетативных и генеративных признаков и растений в целом.

Подробная феногенетическая характеристика всех 32 линий дана в диссертационной работе.

Глава 3. Влияние мутантных генов на рост, развитие и продуктивность растений арабидопсиса

3.1. Особенности роста и развития растений в зависимости от сочетаний мутантных генов в генотипе

Как видно из табл.1, где приведены данные по росту и развитию растений при сочетании генов an , vc , tr , er , gl , наблюдался большой диапазон изменчивости по ряду феногенетических показателей под влиянием различных генов. Единичные гены и их различные сочетания в одном генотипе по-разному влияли на рост растений, на изменчивость вегетативных и генеративных признаков у арабидопсиса. Интересно отметить, что почти у всех мутантных линий высота главного стебля (B) была ниже, чем у контроля (*Col*). Исключением оказались линии vc , an , $trgl$, vc , an , $trgl$, an , $trvc$, gl , vc , gl , an , которые по тому же показателю (B) отличались от *col*. Это и понятно, если обратить внимание на то, что в генотипе этих линий (табл.1) присутствуют гены vc и an , положительно влияющие на рост растений. Обращает на себя внимание также благоприятное сочетание tr с gl , а самые высокорослые растения отмечены у генотипа vc , gl , an .

При всём разнообразии морфофизиологических признаков под действием мутантных генов tr , vc , er , gl и an особенно неблагоприятно влияние гена er на размер стручка у растений (табл.1). По сравнению с расой *col* и четырьмя сигнальными генами размер стручка у er меньше (1.29 см). Видно также, что из 16 линий, у которых в генотипе присутствует ген er , почти всем свойственны укороченные стручки. Влияние гена er сказывается

и на высоте главного стебля у растений, в генотипе которых присутствует этот ген. Растения, как правило, короче и диаметр розеточных листьев, по сравнению с исходной расой и мутантами, содержащими другие сигнальные гены, тоже меньше.

Таблица 1

Показатели роста и развития мутантных линий арабидопсиса

Шифр линий	Фазы развития со дня посева, дни							Длина стручка, см	Диаметр розеточных листьев, см	Высота главного стебля, см	
	СЛ	R2	R4	БТ	ЦВТ	ПЛД	СЗР			А	В
<i>Col</i>	6	10	17	37	45	52	65	1.74	7.2	8.6	30.2
<i>tr`</i>	7	11	18	39	47	58	70	1.63	4.5	11.3	28.6
<i>vc`</i>	6	10	17	36	44	50	64	1.84	6.5	11.1	31.1
<i>er`</i>	7	11	18	37	46	53	75	1.29	3.5	9.3	20.5
<i>gl`</i>	7	11	18	38	47	55	70	1.71	7.2	10.9	26.7
<i>an`</i>	6	10	17	40	51	57	79	1.81	4.5	15.3	31.9
<i>tr`vc</i>	7	12	19	42	52	59	76	1.21	5.5	12.9	28.9
<i>tr`er</i>	7	12	19	39	47	52	72	0.93	4.0	8.7	16.0
<i>tr`gl</i>	7	12	19	38	48	53	69	1.98	4.5	13.4	32.3
<i>tr`an</i>	7	12	19	38	47	56	72	1.13	4.5	8.9	13.8
<i>vc`er</i>	7	11	18	41	50	58	71	1.29	3.0	7.0	18.9
<i>vc`gl</i>	7	12	19	40	52	58	75	1.49	4.5	12.1	28.6
<i>vc`an</i>	7	11	18	38	47	57	72	1.88	4.5	15.3	31.9
<i>er`gl</i>	7	12	18	37	46	53	79	1.39	3.5	8.8	19.1
<i>er`an</i>	7	11	18	41	52	58	72	1.35	4.5	7.1	16.4
<i>gl`an</i>	7	12	18	42	53	59	77	1.72	4.5	8.5	26.2
<i>tr`vc`er</i>	8	12	19	40	50	58	78	1.03	4.5	9.6	15.8
<i>tr`gl`an</i>	8	12	19	42	54	60	80	1.56	4.8	16.5	37.3
<i>tr`vc`gl</i>	7	11	18	41	53	60	82	1.63	5.0	12.2	37.7
<i>tr`er`gl</i>	8	12	19	39	48	59	74	0.97	3.5	7.9	14.6
<i>tr`vc`an</i>	8	12	19	40	52	59	78	0.95	4.0	9.2	17.9
<i>tr`er`an</i>	8	13	20	41	50	60	75	0.93	4.4	9.2	15.8
<i>vc`gl`an</i>	8	12	19	39	47	52	75	1.86	4.0	18.2	43.7
<i>vc`er`gl</i>	8	13	20	43	54	62	81	1.15	3.5	8.5	17.6
<i>vc`er`an</i>	8	13	20	43	55	61	80	1.07	3.0	8.9	20.8
<i>er`gl`an</i>	8	12	19	42	51	59	78	1.16	3.0	7.1	15.4
<i>tr`vc`er`gl</i>	8	12	19	44	53	60	77	1.19	3.0	5.6	13.5
<i>tr`vc`er`an</i>	8	12	19	45	56	63	85	0.82	3.5	7.7	13.1
<i>tr`vc`gl`an</i>	8	13	20	46	55	60	80	1.48	3.5	12.5	26.7
<i>tr`er`gl`an</i>	7	13	20	48	57	63	82	1.04	3.0	8.8	16.2
<i>vc`er`gl`an</i>	7	13	20	47	56	61	82	1.36	3.0	6.9	16.9
<i>tr`vc`er`gl`an</i>	7	13	20	52	59	64	83	1.21	3.0	10.8	20.2

Обозначения: СЛ – семядольные листья; R₂ – первая пара настоящих листьев; R₄ – четвёртая пара настоящих листьев; БТ – бутонизация; ЦВТ – цветение; ПЛД – плодоношение; СЗР – созревание; А – высота стебля до закладки первого стручка; В – высота до верхушки соцветия главного стебля.

По темпам роста и развития, до фазы бутонизации, все линии развивались достаточно ровно, а при переходе растений к репродукции наблюдалась разница в развитии мутантных растений как между собой, так и по сравнению с исходной расой *Col*. По сравнению с контрольным вариантом фаза созревания у мутантных особей наступала значительно позже.

На рис.1 представлены усреднённые данные по наступлению фаз цветения, бутонизации и созревания у растений, в генотипе которых содержатся от одного до пяти мутантных генов. Видно, что по мере увеличения числа сигнальных генов в генотипе созревание семян наступало значительно позже.

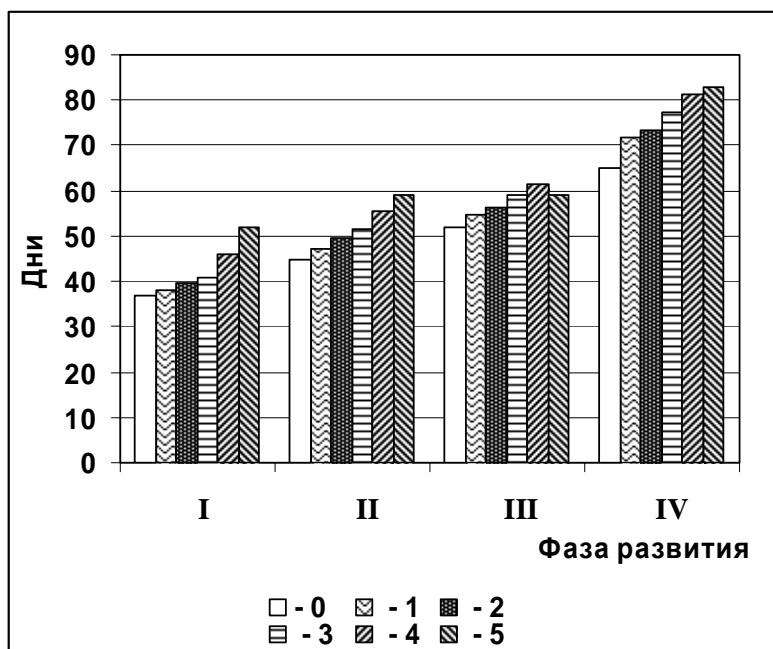


Рис.1. Влияние числа мутантных генов в генотипе на длительность периодов до наступления фаз развития растений. I- бутонизация, II- цветение, III – плодоношение, IV – созревание. 0 – 5- число мутантных генов.

3.2 Характер изменчивости основных параметров семенной продуктивности в зависимости от комбинаций генов

В табл.2, содержащей результаты изучения основных параметров семенной продуктивности в зависимости от сочетаний генов *tr`an`gl`vc`er`*, представлены данные, свидетельствующие о большом диапазоне изменчивости количественных признаков семенной продуктивности растений под влиянием различных мутантных генов. Особенно велики эти различия по числу семян в стручке (31.8 – 84.1), количеству плодов на главном стебле (29.3 – 76.5) и на боковых ветвях (0 – 60), по числу стручков на растении (45.0 – 137.1) и по общему количеству семян на одном растении (1993.32 – 6457.41). Масса 1000 семян колебалась в пределах от 1.07 г до 2.00 г. Обращает на себя внимание удачное сочетание мутантных генов у линии *tr`er`gl`*, у которой при наименьшей массе 1000 семян (1.07 г), но большем числе плодов (137.1), сформировавшихся на растениях, общая семенная продуктивность оказалась наивысшей (6457.41). Совмещение мутантных генов в генотипе линии *tr`gl`* отразилось на морфологии растений - полностью отсутствовали боковые ветви, но при этом высота растений составила 32.3 см

(В, табл.1), число семян в стручке 50.7 и количество стручков 64.0 и в итоге семенная продуктивность (3244.80) была достаточно высокой.

Таблица 2

Изменчивость основных параметров семенной продуктивности при различных сочетаниях генов *an*, *vc*, *tr*, *er*, *gl*

Шифр линии	Масса 1000 семян, г	Число семян в стручке	Число плодов		Число стручков на растение	Число семян на растение
			на главном стебле	на прочих ветвях		
<i>Col</i>	1.33	59.7	34.1	39.3	73.4	4381.98
<i>tr`</i>	1.32	63.7	58.3	17.2	75.5	4809.35
<i>vc`</i>	1.63	59.7	37.0	31.2	68.2	4071.54
<i>er`</i>	1.23	59.9	37.3	40.6	77.9	4666.21
<i>gl`</i>	1.54	62.1	26.5	34.7	61.2	3800.52
<i>an`</i>	2.00	71.3	37.7	7.3	45.0	3208.50
<i>tr`vc</i>	1.19	31.9	56.1	7.0	63.1	2006.58
<i>tr`er</i>	1.31	35.5	74.5	60.0	134.5	4774.75
<i>tr`gl</i>	1.58	50.7	64.0	0	64.0	3244.80
<i>tr`an</i>	1.62	36.7	63.5	9.2	73.7	2704.79
<i>vc`er</i>	1.40	49.7	29.3	51.3	80.6	4005.82
<i>vc`gl</i>	1.47	69.2	38.0	30.1	68.1	4712.52
<i>vc`an</i>	1.85	84.1	39.3	5.9	45.2	3801.32
<i>er`gl</i>	1.42	53.9	32.8	43.9	76.7	4134.13
<i>er`an</i>	1.51	49.0	31.7	47.7	79.4	3890.60
<i>gl`an</i>	1.59	45.2	32.8	29.5	62.3	2815.96
<i>tr`vc`er</i>	1.57	42.9	52.7	58.5	111.2	4770.48
<i>tr`gl`an</i>	1.57	39.3	76.5	4.4	80.9	3179.37
<i>tr`vc`gl</i>	1.19	67.8	69.6	12.8	82.4	5586.72
<i>tr`er`gl</i>	1.07	47.1	60.8	76.3	137.1	6457.41
<i>tr`vc`an</i>	1.57	33.5	66.5	46.9	113.4	3798.90
<i>tr`er`an</i>	1.23	33.7	63.3	55.5	118.8	4003.56
<i>vc`gl`an</i>	1.73	51.7	53.5	1.67	55.17	2853.84
<i>vc`er`gl</i>	1.16	52.2	34.1	43.3	77.4	4040.28
<i>vc`er`an</i>	1.17	46.7	72.9	37.5	110.4	5155.68
<i>er`gl`an</i>	1.13	42.1	35.9	35.9	71.8	3022.78
<i>tr`vc`er`gl</i>	1.21	45.9	38.9	36.7	75.6	3470.04
<i>tr`vc`er`an</i>	1.53	33.9	51.5	7.3	58.8	1993.32
<i>tr`vc`gl`an</i>	1.40	43.0	55.0	6.7	61.7	2653.10
<i>tr`er`gl`an</i>	1.26	40.7	71.1	53.7	124.8	5079.36
<i>vc`er`gl`an</i>	1.45	48.3	34.3	33.3	67.6	3265.08
<i>tr`vc`er`gl`an</i>	1.37	36.2	51.8	9.8	61.6	2229.92

Важно отметить, что линии, геном которых содержит два или три совмещённых мутантных гена, оказались более продуктивными, а в целом, из 32 изученных мутантных линий 9 линий по сравнению с исходной расой *Col* характеризуются повышенной семенной продуктивностью.

3.2.1 Действие сигнальных генов в различных генотипических средах на массу 1000 семян

Для достижения большей наглядности и простоты восприятия результатов экспериментальных исследований проделана работа по объединению полученных данных в отдельные группы, каждая из которых

отличалась, друг от друга по количеству сигнальных генов, вводимых в генотип – по одному, по два, по три, по четыре и по пять генов. В качестве контроля для сравнения использовали растения дикого типа, исходную расу *Columbia*. Такой способ представления экспериментальных данных позволяет выявить некоторые закономерности в изменчивости параметров семенной продуктивности, представляющие собой общебиологический интерес.

Как видно из табл.3, диапазон изменчивости по массе 1000 семян варьировал в пределах от 1.07 до 2.00 г. Изменения массы семян, вызванные действием сигнальных генов в различных сочетаниях, в большинстве случаев были статистически достоверны (табл. 4)

Таблица 3

Масса 1000 семян (г) в зависимости от генотипической среды

Гены и их проявление				
<i>tr`</i> 1.32	<i>tr`vc</i> 1.19	<i>tr`er</i> 1.31	<i>tr`gl</i> 1.58	<i>tr`an</i> 1.62
<i>vc`</i> 1.63	<i>vc`tr</i> 1.19	<i>vc`er</i> 1.40	<i>vc`gl</i> 1.47	<i>vc`an</i> 1.85
<i>er`</i> 1.23	<i>er`tr</i> 1.31	<i>er`vc</i> 1.40	<i>er`gl</i> 1.42	<i>er`an</i> 1.51
<i>gl`</i> 1.54	<i>gl`tr</i> 1.58	<i>gl`vc</i> 1.47	<i>gl`er</i> 1.42	<i>gl`an</i> 1.59
<i>an`</i> 2.00	<i>an`tr</i> 1.62	<i>an`vc</i> 1.85	<i>an`er</i> 1.51	<i>an`gl</i> 1.59
<i>tr`vc`er</i> 1.57	<i>tr`gl`an</i> 1.57	<i>tr`vc`gl</i> 1.19	<i>tr`er`gl</i> 1.07	<i>tr`vc`an</i> 1.57
<i>tr`er`an</i> 1.23	<i>vc`gl`an</i> 1.73	<i>vc`er`gl</i> 1.16	<i>vc`er`an</i> 1.17	<i>er`gl`an</i> 1.13
<i>tr`vc`er`gl</i> 1.21	<i>tr`vc`er`an</i> 1.53	<i>tr`vc`gl`an</i> 1.40	<i>tr`er`gl`an</i> 1.26	<i>vc`er`gl`an</i> 1.45
<i>Col</i> 1.33	<i>tr`vc`er`gl`an</i> 1.37			

Число сигнальных генов в геноме	0	1	2	3	4	5
Масса 1000 семян, г	1.33	1.54	1.49	1.34	1.37	1.37
%	100	115	113	100	103	103

Следует подчеркнуть, что максимальная величина изученного показателя, равная 2 г, была зарегистрирована нами лишь для гена *an*, а его различные сочетания с другими генами вели к уменьшению массы 1000 семян. Представленные в табл. 3 и 4 данные убедительно свидетельствуют о

статистически достоверном влиянии различной генотипической среды на степень выраженности признака «масса 1000 семян».

Результаты многочисленных опытов, компактно представленные в табл.3, позволяют, помимо всего прочего, обнаружить интересную закономерность – по мере возрастания числа мутантных генов, вводимых в генотип растительного организма, сначала происходило увеличение, а затем уменьшение массы 1000 семян. Это можно объяснить тем, что совмещение мутаций в одном генотипе (по 3,4,5 и более) оказывает дестабилизирующее действие на систему регуляции процессов жизнедеятельности растительного организма и это сказывается на ростовых процессах и в целом на семенной продуктивности растений арабидопсиса.

Таблица 4

Масса 1000 семян, г в зависимости от генотипической среды

Гены	Масса 1000 семян, г	Число степеней свободы	Вероятность, %
<i>tr`vc</i> <i>tr`an</i>	1.19 ± 0.05 1.62 ± 0.06	28	>99.98
<i>vc`tr</i> <i>vc`an</i>	1.19 ± 0.05 1.62 ± 0.08	28	>99.98
<i>er`</i> <i>er`an</i>	1.23 ± 0.05 1.51 ± 0.06	28	>99.9
<i>gl`er</i> <i>gl`an</i>	1.42 ± 0.06 1.59 ± 0.07	28	>94
<i>an`</i> <i>an`er</i>	2.00 ± 0.05 1.51 ± 0.06	28	>99.98
<i>tr`er`gl</i> <i>vc`gl`an</i>	1.07 ± 0.05 1.73 ± 0.12	28	>99.98
<i>tr`vc`er`gl</i> <i>tr`vc`er`an</i>	1.21 ± 0.06 1.53 ± 0.06	28	>99.98

3.2.2. Действие сигнальных генов в различных генотипических средах на характер изменчивости числа семян в стручке

В табл. 5 и 6 приведены экспериментальные данные и результаты их статистической обработки по другому параметру, характеризующему семенную продуктивность растений, - числу семян, формирующихся в одном стручке. И в этом случае, так же, как и при учёте массы 1000 семян, максимальное число семян в расчёте на один стручок (плод) наблюдалось лишь для одного гена - *an*. Интересно отметить, что ген *an* в присутствии другого сигнального гена *vc* приводил к статистически достоверному увеличению среднего числа семян, формирующихся в одном стручке (табл.6). Если в качестве контроля принять величину этого показателя у растений дикого типа (раса *Columbia*), то лишь 4 линии из 31 превосходили контроль (табл. 5): *vc`gl*, *vc`an*, *an`* и *tr`vc`gl*. Во всех остальных случаях среднее число семян, формирующихся в одном плоде, было значительно

ниже, чем в контроле. И в данном опыте, как и в предыдущем, получены результаты, свидетельствующие о наличии обратной корреляции между числом генов, вводимых в генотип арабидопсиса, с одной стороны, и количеством семян, формирующихся в одном плоде, с другой. Присутствие в генотипе арабидопсиса от одного до трёх мутантных генов не приводит к изменению числа семян, формирующихся в одном стручке. Введение в генотип арабидопсиса четырёх, пяти и более мутантных генов приводит к резкому понижению числа семян в стручке. Это можно объяснить тем, что у мутантов по сравнению с контролем изменены важнейшие регуляторные системы, функционирующие как на уровне клетки (ядра и цитоплазмы), что обусловлено изменением генетической программы, так и на организменном уровне, к которому относятся гормональные регуляции, а внедрение в генотип дополнительных мутаций ещё более «нагружает» хромосомный аппарат.

Таблица 5

Число семян в стручке в зависимости от генотипической среды

Гены и их проявление				
<i>tr</i> 63.7	<i>tr`vc</i> 31.8	<i>tr`er</i> 35.5	<i>tr`gl</i> 50.7	<i>tr`an</i> 36.7
<i>vc</i> 59.7	<i>vc`tr</i> 31.8	<i>vc`er</i> 49.7	<i>vc`gl</i> 69.2	<i>vc`an</i> 84.1
<i>er</i> 59.9	<i>er`tr</i> 35.5	<i>er`vc</i> 49.7	<i>er`gl</i> 53.9	<i>er`an</i> 45.2
<i>gl</i> 62.1	<i>gl`tr</i> 50.7	<i>gl`vc</i> 69.2	<i>gl`er</i> 53.9	<i>gl`an</i> 45.2
<i>an</i> 71.3	<i>an`tr</i> 36.7	<i>an`vc</i> 84.1	<i>an`er</i> 49.0	<i>an`gl</i> 45.2
<i>tr`vc`er</i> 42.9	<i>tr`gl`an</i> 39.3	<i>tr`vc`gl</i> 67.8	<i>tr`er`gl</i> 47.1	<i>tr`vc`an</i> 33.5
<i>tr`er`an</i> 33.7	<i>vc`gl`an</i> 51.7	<i>vc`er`gl</i> 52.2	<i>vc`er`an</i> 46.7	<i>er`gl`an</i> 42.1
<i>tr`vc`er`gl</i> 45.9	<i>tr`vc`er`an</i> 33.9	<i>tr`vc`gl`an</i> 43.0	<i>tr`er`gl`an</i> 40.7	<i>vc`er`gl`an</i> 48.3
<i>Col</i> 59.7	<i>tr`vc`er`gl`an</i> 36.2			

Число сигнальных генов в геноме	0	1	2	3	4	5
Число семян в стручке, шт.	59.7	63.3	53.1	45.7	42.4	36.2
%	100	106	89	77	71	61

Действие сигнальных генов в различных генотипических средах на число семян в стручке, шт.

Гены	Число семян, шт.	Число степеней свободы	Вероятность, %
<i>tr</i> <i>tr`vc</i>	63.7 ± 4.5 32.6 ± 2.0	28	>99.98
<i>vc`an</i> <i>vc`tr</i>	84.1 ± 6.2 31.8 ± 2.0	28	>99.98
<i>er`</i> <i>er`tr</i>	59.9 ± 1.7 35.5 ± 2.2	28	>99.98
<i>gl`vc</i> <i>gl`an</i>	69.2 ± 1.9 45.2 ± 2.6	28	>99.98
<i>an vc`</i> <i>an`tr</i>	84.1 ± 6.2 36.7 ± 2.4	28	>99.98
<i>tr`vc`gl</i> <i>tr`vc`an</i>	67.8 ± 3.4 33.5 ± 2.4	28	>99.98
<i>vc`er`gl`an</i> <i>tr`vc`er`an</i>	48.3 ± 2.9 33.9 ± 1.7	28	>99.98

3.2.3. Действие сигнальных генов в различных генотипических средах на характер изменчивости числа семян на одном растении

Анализ экспериментальных данных, представленных в табл.7 и 8, подтверждает сделанное выше заключение об уменьшении плодовитости по мере увеличения числа сигнальных генов, вводимых в генотип арабидопсиса. Однако, растения, содержащие ген *an*, значительно уступали исходной расе *Columbia* по плодовитости. Из экспериментальных данных, представленных в табл.3 и 5, видно, что под влиянием мутантного гена *an* резко возростала масса 1000 семян, а также число семян, формирующихся в одном стручке арабидопсиса, но в опытах по учёту плодовитости по признаку «число семян, формирующихся на одном растении» эта тенденция не воспроизводится (табл. 7), т.к. среднее количество стручков, формирующихся на одном растении у генотипа *an*, равнялось 45, а у расы *Col* – 73 (табл.2). Полученный результат вполне согласуется с имеющимися данными о том, что у гороха (*Pisum sativum*) под действием различных видов мутаций на одном растении формируются либо много, но мелких по размерам и массе семян, либо мало, но значительно более крупных (Gottschalk, Muller, 1964; Сидорова, 1981). Авторы выдвинули гипотезу о том, генотип гороха детерминирует пределы генотипической изменчивости признака фотосинтетической продуктивности, реализуемого в виде урожая семян на растении. Причём, суммарная масса семян, получаемая с одного растения, является величиной константной и, следовательно, генетически обусловленным признаком вида.

Таблица 7

Действие сигнальных генов в различных генотипических средах
на плодовитость (число семян на одном растении)

Гены и их проявление				
<i>tr</i> 4809.35	<i>tr`vc</i> 2006.58	<i>tr`er</i> 4774.75	<i>tr`gl</i> 3244.80	<i>tr`an</i> 2704.79
<i>vc</i> 4071.54	<i>vc`tr</i> 2006.58	<i>vc`er</i> 4005.82	<i>vc`gl</i> 4712.52	<i>vc`an</i> 3801.32
<i>er</i> 4666.21	<i>er`tr</i> 4774.75	<i>er`vc</i> 4005.82	<i>er`gl</i> 4134.13	<i>er`an</i> 3890.60
<i>gl</i> 3800.52	<i>gl`tr</i> 3244.80	<i>gl`vc</i> 4712.52	<i>gl`er</i> 4134.13	<i>gl`an</i> 2815.96
<i>an</i> 3208.50	<i>an`tr</i> 2704.79	<i>an`vc</i> 3801.32	<i>an`er</i> 3890.60	<i>an`gl</i> 2815.96
<i>tr`vc`er</i> 4770.48	<i>tr`gl`an</i> 3179.37	<i>tr`vc`gl</i> 5586.72	<i>tr`er`gl</i> 6457.41	<i>tr`vc`an</i> 3798.90
<i>tr`er`an</i> 4003.56	<i>vc`gl`an</i> 2853.84	<i>vc`er`gl</i> 4040.28	<i>vc`er`an</i> 5155.68	<i>er`gl`an</i> 3022.78
<i>tr`vc`er`gl</i> 3470.04	<i>tr`vc`er`an</i> 1993.32	<i>tr`vc`gl`an</i> 2653.10	<i>tr`er`gl`an</i> 5079.36	<i>vc`er`gl`an</i> 3265.08
<i>Col</i> 4381.98	<i>tr`vc`er`gl`an</i> 2229.92			

Число генов	0	1	2	3	4	5
Плодовитость: шт.	4381.9	4111.2	3665.8	4286.7	2286.7	2229.9
% от контроля	100	94	83	98	52	51

Таблица 8

Действие сигнальных генов в различных генотипических средах
на плодовитость

Гены	Число семян на растении, шт.	Число степеней свободы	Вероятность, %
<i>tr`vc</i> <i>tr`er</i>	2006.58 ± 189.0 4774.75 ± 579.8	28	>99.98
<i>vc`tr</i> <i>vc`gl</i>	2006.58 ± 189.0 4712.52 ± 386.5	28	>99.98
<i>er`an</i> <i>er`tr</i>	3890.06 ± 312.4 4774.75 ± 579.8	28	>98.00
<i>gl`an</i> <i>gl`vc</i>	2815.96 ± 182.1 4712.52 ± 386.5	28	>99.98
<i>an`tr</i> <i>an`er</i>	2704.79 ± 310.0 3990.60 ± 483.3	28	>97.00
<i>vc`gl`an</i> <i>tr`er`gl</i>	2853.84 ± 207.07 6457.41 ± 538.5	28	>99.98
<i>tr`vc`er`an</i> <i>tr`er`gl`an</i>	1993.32 ± 339.4 5079.36 ± 504.3	28	>99.98

Справедливость такого заключения, вероятно, имеет определённые ограничения, что следует из полученных нами данных (рис. 2). Видно, что при введении в генотип арабидопсиса одного, двух и даже трёх мутантных генов масса семян, получаемая с одного растения, практически не меняется.

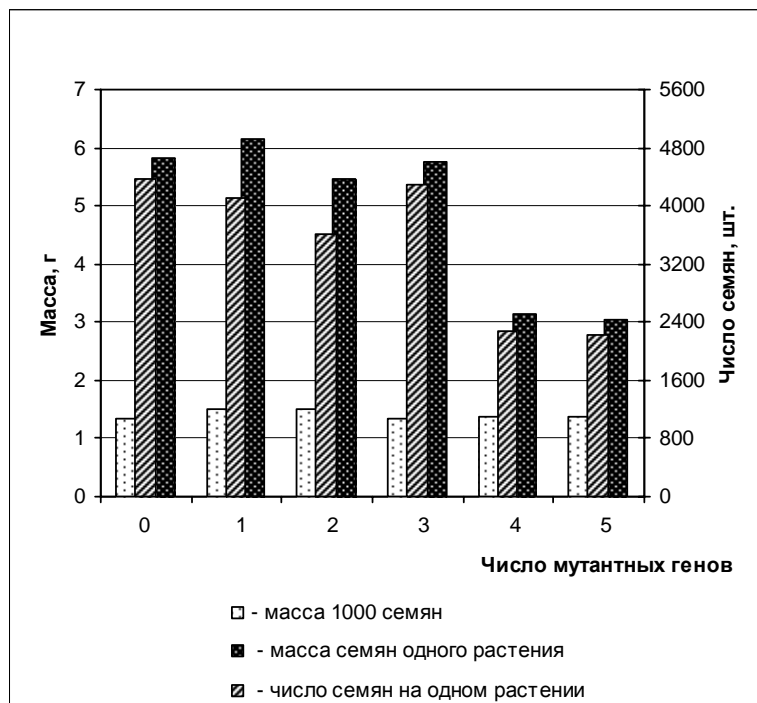


Рис.2. Изменчивость массы семян с одного растения в зависимости от числа мутантных генов, вводимых в генотип арабидопсиса

Эта закономерность, однако, не воспроизводится, если генотип арабидопсиса содержит более трёх мутантных генов. Введение в генотип арабидопсиса четырёх, пяти и более мутантных генов существенно «нагружает» хромосомный аппарат, а это, возможно, влияет на изменение фитогормонального баланса, обуславливающего проявление установленной закономерности.

Глава 4. Влияние гена *tr* в сочетании с другими генами (16 линий) на мезоструктуру мезофилла розеточных листьев и фотосинтетическую продуктивность арабидопсиса

4.1. Генотипическая изменчивость параметров мезоструктуры фотосинтетического аппарата в зависимости от сочетания гена *tr* с генами *vc*, *er*, *gl* и *an*

Среди пяти линий, в генотипе которых присутствует только один мутантный ген, особенно выделяется по продуктивности линия *tr* (*triplex*), мутация находится в пятой хромосомной группе сцепления (Усманов, 1984). Такое обозначение дано мутанту потому, что у растений на одной плодоножке формируется не по одному, как в норме, а сразу по три стручка. Это приводит к трансформации нормального типа соцветия у арабидопсиса – кисти в кистевидную метёлку с практически полным отсутствием венчика, в определённых условиях культивирования – в безлепестковую форму. В этом случае функцию венчика выполняют чашелистики, которые, сильно разрастаясь, надёжно укрывают и предохраняют репродуктивные органы

цветка от неблагоприятных факторов окружающей среды. Мутант характеризуется полной пенетрантностью и высокой экспрессивностью гена *tr`* (Усманов и др., 1981; Усманов, 1984; 1999). Есть все основания предполагать, что у мутанта изменена гормональная регуляция. В связи с этим *tr`* представляет особый интерес для изучения механизмов гормональной регуляции у растений (Usmanov, 1970; Усманов, 1980; 1984; 1999). Работами сотрудников кафедры биохимии Таджикского государственного национального университета было показано, что высокопродуктивный мутант *tr`* характеризовался большей (по сравнению с контролем) поверхностью листовой пластинки, Размер клеток и хлоропластов у мутанта меньше, но число пластид значительно больше. По содержанию хлорофилла в расчете на единицу площади листа и на один хлоропласт мутант превышал исходную форму почти на 30% и практически не отличался по величине соотношения хлорофилла $\frac{a}{b}$. Мутант характеризовался большим содержанием функционально активных реакционных центров обоих фотосистем на единицу площади листа, что обеспечивало интенсивность фотосинтеза на растение в целом (Yakubova et al., 1980). Интенсивность фотосинтеза и биологическая продуктивность мутанта *tr`*, как показано М.А.Бабаджановой и Н.П.Бакаевой, зависит также и от активности фермента рибозофосфатизомеразы. Наибольшей удельной активностью (149,2 мкмоль рибулозо-5-фосфата/мин на 1 мг белка) обладал фермент из листьев мутанта *tr`*, наименьшей (106,0 мкмоль/мин на 1 мг белка) из листьев исходной формы (Бабаджанова, Бакаева, 1987). Эффективное протекание реакций фотосинтеза обеспечивалось наличием в хлоропластах *tr`* компактной мембранной структуры, которая отличалась от хлоропластов исходной формы более развитыми межгранными тилакоидами, что обеспечивало сближение разных участков мембраны и хороший контакт с матриксом (Шукла, 1982). Сотрудниками Института физиологии растений и генетики (Usmanov et. al., 1983) также было показано, что мутант *tr`* характеризуется высокой фотосинтетической продуктивностью.

Учитывая высокую семенную продуктивность мутанта *tr`* по сравнению с другими растениями с единичными мутантными генами и расой *col*, нам представлялось целесообразным исследовать влияние гена *tr`* на фотосинтетическую продуктивность, если совмещать его с *vc`*, *er`*, *gl`* и *an`*. Основные результаты этих исследований представлены в табл. 9. Как видно из приведённых данных, совмещение гена *tr`* с другими генами не привело к увеличению числа хлоропластов в клетке (кроме 2-х линий) и объема 1-ого хлоропласта (кроме 1-ой). Однако, скорость выделения кислорода на единицу площади листа и индекс фотосинтеза единичного и всех хлоропластов, оказались значительно выше под влиянием гена *tr`*, находящегося в различной генотипической среде. Это указывает, по-видимому, на более совершенную ультраструктурную организацию и высокую функциональную активность хлоропластов высокопродуктивного мутанта *tr`*.

Установлены пределы генотипической изменчивости у 16 линий с участием гена *tr* по скорости выделения фотосинтетического кислорода - 100 - 233.5%. Самые высокие показатели интенсивности фотосинтеза (по скорости выделения O₂) среди всех изученных линий обнаружены у *tr`er`an*, *tr`vc`gl*, *tr`er`gl*, *tr`vc`er*, особенно у *tr`vc`an*. Растения с благоприятным

сочетанием мутантных генов показали самый высокий индекс фотосинтеза, особенно при пересчёте на единичный хлоропласт - 15.73.

Таблица 9

Влияние мутантного гена *tr`* в различной генотипической среде на интенсивность фотосинтеза

Шифр линий	Скорость выделения кислорода		Объём 1-го хлоропласта, мкм ³	Число хлоропластов в клетке	Интенсивность фотосинтеза хлоропластов, мкмоль О ₂ /см ² ·мин.		Масса семян на одном растении, г
	мкмоль О ₂ /см ² ·мин.	% от контроля			1-го	всех	
<i>tr</i>	120	100	24.43	24.14	4.92	118.77	6.35
<i>tr`vc</i>	128.2	106.8	21.82	23.43	6.38	149.48	2.40
<i>tr`er</i>	148.3	123.6	22.18	23.26	5.74	133.51	6.25
<i>tr`gl</i>	128.5	107.1	23.21	23.80	5.52	131.38	5.13
<i>tr`an</i>	136.7	113.9	21.91	23.32	6.21	144.82	4.38
<i>tr`vc`er</i>	200.3	166.9	21.12	22.71	7.85	178.35	7.49
<i>tr`gl`an</i>	120.8	100.6	18.81	22.76	6.38	145.21	4.99
<i>tr`vc`gl</i>	224.6	187.2	20.67	21.62	10.05	217.28	6.65
<i>tr`er`gl</i>	218.6	184.1	22.24	22.56	6.92	156.11	4.69
<i>tr`vc`an</i>	280.2	233.5	17.81	22.86	15.73	359.59	5.96
<i>tr`er`an</i>	232.4	193.7	20.09	21.52	7.38	158.82	4.92
<i>tr`vc`er`gl</i>	165.5	137.9	19.95	25.17	8.63	217.22	4.20
<i>tr`vc`er`an</i>	184.5	153.7	20.24	23.52	9.12	214.36	3.05
<i>tr`vc`gl`an</i>	160.8	134.1	23.19	23.52	7.24	174.23	3.71
<i>tr`er`gl`an</i>	183.7	153.1	20.18	23.62	8.47	200.06	6.40
<i>tr`vc`er`gl`an</i>	172.8	144.1	31.08	29.00	5.55	160.95	3.05
<i>col</i>	136.8	114.0	24.84	28.30	5.48	155.08	5.83

Однако, масса семян с одного растения, как видно из табл.9, не самая большая (5.09 г) и даже меньше, чем у *tr`*, но это можно объяснить тем, что при совмещении двойного рецессива *vc`an* с *tr`* в стручках этих растений формируется меньшее количество семян (33.5), чем у растений с отдельно взятым мутантным геном (табл.2).

Исключение составляют растения *tr`gl`an*, которые не отличались от *tr`* (в данном случае контроля) по скорости фотосинтетического выделения О₂, а по общей продуктивности (масса семян) значительно уступали *tr`* и аналогичным тройным рецессивам. В результате сочетания этих генов у растений формировался в основном главный стебель с большим (по сравнению с другими) количеством стручков (76.5), но в стручках было всего 39.3 семян (табл.2), что в конечном итоге сказалось на общей продуктивности.

При увеличении сигнальных генов в генотипе наблюдался отрицательный коэффициент корреляции ($r = -0,67$) между показателем индекса фотосинтеза единичного хлоропласта и массой семян с одного растения.

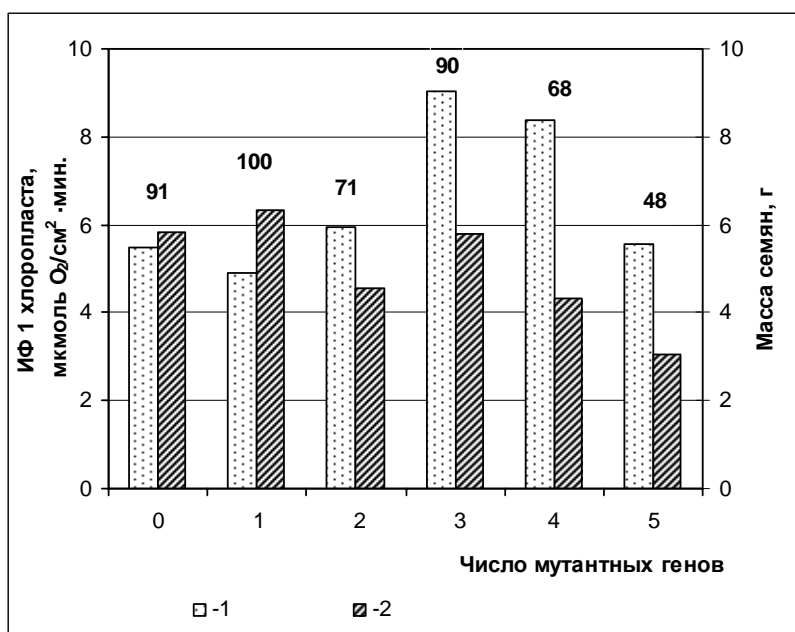


Рис.3. Влияние числа мутантных генов на индекс фотосинтеза единичного хлоропласта (1) и массу семян (2). Цифрами над столбцами указана плодовитость (%).

Известно, что фотосинтез единичного хлоропласта служит информативной характеристикой при эколого-физиологических исследованиях фотосинтеза, т.к. активность хлоропласта наряду с численностью пластид на единицу поверхности определяет потенциальную возможность активности листа (Мокроносов, 1981).

В целом, показано, что ген *tr*⁻, детерминирующий морфологический признак - тройные плоды, оказывает влияние на структурную организацию и функциональную активность хлоропластов и, по-видимому, на регуляторные системы на уровне организма, которые приводят к повышению интенсивности фотосинтеза. Его сочетание с другими сигнальными генами приводит к резкому возрастанию индекса фотосинтеза единичного хлоропласта, а если усреднить данные по *tr*⁻ в комбинации с другими генами, то получится закономерность, показанная на рис.3, т.е. с увеличением числа мутантных генов в генотипе (больше 4-х) наблюдается понижение индекса фотосинтеза и резкий спад массы семян с одного растения арабидопсиса.

Глава 5. Влияние рецессивных эмбрионально-летальных мутаций типа *al*, *xa* и *ch* в гетерозиготном состоянии и условий выращивания на рост, развитие и семенную продуктивность растений арабидопсиса

В генетических исследованиях выделяют гаметические (гаплофазные) и зиготические (диплофазные) летальные факторы. Под летальными факторами подразумевают менделирующие единицы, вызывающие гибель организма на различных стадиях его онтогенетического развития (Hadam, 1955). По причинам, обуславливающим гибель растений, летальные мутации условно подразделяются на две группы: истинные эмбрионально-летальные мутации, приводящие к полной утрате способности семян к прорастанию, и проростковые условно-летальные хлорофилльные мутации, вызывающие гибель проростков в фазе формирования семядольных листьев. Существенная разница между ними заключается в том, что в первом случае летальное действие мутантного гена обнаруживается всегда (абсолютно летальные мутации), т.к. из-за нарушения функций ферментов блокируются

жизненно важные звенья в цепи биохимических реакций, а во втором, менее распространённом – объединяются классы мутаций, летальное действие которых проявляется только в процессе развития растения под влиянием таких внешних факторов как интенсивность света, температура воздуха, фотопериодизм (Авдеев, 1983).

В этой главе приводятся результаты физиолого-генетического изучения рецессивных летальных хлорофилльных мутаций, выявляемых на эмбриональных и ранних постэмбриональных стадиях развития семян гетерозиготных растений.

5.1. Фенотипическое проявление летальных хлорофилльных мутаций в гетерозиготном состоянии

Используя большую коллекцию гетерозиготных растений, расщепляющихся по летальным хлорофилльным мутациям типа *al*, *xa* и *ch*, представилось возможным исследовать действие названных мутаций на плодовитость арабидопсиса. Следует отметить, что гетерозиготные растения по внешнему виду и стручкам совершенно не отличались от исходной расы (в данном случае Enkheim - *En*). Однако по окраске кожуры незрелых эмбрионов в стручках (использовали известный метод эмбрион-теста - Усманов, Мюллер, 1970) и, соответственно, сформировавшихся семядольных листьев были чётко выделены следующие группы: альбина (*al*) – эмбрионы и семядоли белого цвета, в них полностью отсутствуют зелёные и жёлтые пигменты; ксанта (*xa*) – эмбрионы и семядоли светло-жёлтого или жёлтого цвета; хлорина (*ch*) – гетерогенная группа, включающая в себя мутанты с бледно-зелёной, жёлто-зелёной и светло-зелёной окраской эмбрионов и семядольных листьев.

Для оценки относительной жизнеспособности летальных хлорофилльных мутаций семенное потомство гетерозиготных по летальным хлорофилльным мутациям растений высевали на поверхность агара в пробирки и проращивали при круглосуточном освещении люминесцентными лампами в фотостате. Затем, незадолго до наступления фазы созревания гетерозиготных растений при помощи пинцета вскрывали стручки. Из них извлекали только мутантные эмбрионы и высевали на поверхность агара в чашки Петри. Со времени появления всходов ежедневно проводили фенологические наблюдения, устанавливая точную дату гибели проростков.

Опыты показали, что летальные факторы блокируют развитие проростков на фазе семядольных листьев. В этой фазе летальные проростки, в зависимости от природы возникновения мутаций, сохраняют свою жизнеспособность от двух до восемнадцати дней после посева семян, а затем все без исключения погибают.

5.2. Действие летальных генов хлорофилльной недостаточности в гетерозиготном состоянии на рост и развитие растений арабидопсиса

Как следует из данных табл.10, по количеству сформировавшихся семяпочек в стручке, по росту, развитию и плодовитости гетерозиготные растения существенно отличались не только от нормы (исходная раса *En*), но и друг от друга. По ряду изученных показателей некоторые линии превосходили норму, что указывает на эффект моногибридного гетерозиса.

Таблица 10

Показатели роста, развития и продуктивности гетерозиготных растений арабидопсиса, расщепляющихся на летальные хлорофилльные мутации типа *al*, *xa* и *ch*

Шифр линий	Высота закладки первого стручка, см	Среднее число семян		Время вступления в фазу цветения, дни
		в стручке	на одном растении	
En	9.5	377	2696	14
9al	9.5	172	1204	18
19al	9.4	435	4360	18
119al	8.6	377	3393	18
93/211al	10.0	430	3440	16
P10/43xa	9.6	447	2682	16
72xa	8.8	557	4456	18
36xa	9.0	437	4370	20
127xa	7.5	331	2317	19
79xa	8.2	559	3354	19
27xa	7.7	381	2286	19
99xa	8.5	322	2576	18
53xa	9.4	206	1236	20
140xa	5.9	177	885	18
24/45xa	9.5	382	3056	16
D1xa	10.4	705	5640	16
28xa	8.5	484	3388	22
122xa	8.7	258	2580	18
P10/53xa	9.5	334	2672	19
84xa	10.8	575	4600	19
P20/31xa	8.6	242	2178	17
57xa	7.8	577	3462	18
18xa	12.5	285	1710	22
91xa	10.3	83	996	23
P10/82xa	10.2	275	1650	18
P10/5xa	9.0	259	2072	17
107xa	9.6	507	4563	18
9xa	10.0	63	504	19
120xa	9.5	199	2388	20
8xa	9.5	243	1215	22
104xa	9.4	503	4024	19
C1xa	9.5	306	2754	14
Q10ch	10.0	82	410	19
23xa	8.9	252	2520	18
Di160ch	10.5	124	868	22
29ch	8.4	199	1592	16
19ch	9.4	422	4200	18
20ch	8.5	257	3855	23
92ch	9.0	102	816	20
70xa	8.6	342	3420	21

Проявление моногибридного гетерозиса на уровне ростовых функций, вероятно, связано с изменением фитогормонального баланса под влиянием мутантных генов у гетерозиготных растений, а также в значительной степени зависит от генотипической среды (Беляев и др., 1968; Gottschalk, 1970; Сидорова, 1981).

Результаты изучения действия летальных хлорофилльных мутаций в различное время года на фенотипическое проявление эффекта моногибридного гетерозиса, полученные при изучении пробирочных культур (табл.11), показали, что действие мутантного гена в гетерозиготном состоянии существенно зависит от условий среды.

Таблица 11

Среднее число семян на одном растении в зависимости от времени года

Шифр линий	Февраль	Июль	Ноябрь
En	264	224	288
9 al	200	68	208
127 ха	224	213	630
P20/31 ха	261	150	765
19 ch	300	216	546
29 ch	375	113	618

Один и тот же мутантный ген в гетерозиготном состоянии в одних условиях может приводить к повышению семенной продуктивности, в других – к снижению её. Эти результаты хорошо согласуются с имеющимися литературными данными (Беляев и др., 1968; Шумный и др., 1971; Сидорова и др., 1972; 1977; Сидорова, 1981; Авдеев, 1983; Усманов, 1984). Относительно эффекта гетерозиса существует мнение, что он в основном наблюдается у гетерозигот по таким генам, которые в гомозиготном состоянии вызывают существенную депрессию развития. К ним относятся мутации карликовости и хлорофилльные (Шумный и др., 1971; Шумный, 1973; Вершинин, 1977; 1979; Сидорова, 1981; Авдеев, 1983). Наши экспериментальные данные вполне согласуются с результатами указанных авторов. Однако следует заметить, что эффекты моногибридного гетерозиса, обнаруженные нами на арабидопсисе, можно отнести к исследованию действия летальных хлорофилльных мутаций, у которых мутантный ген находится в гетерозиготном состоянии.

Выводы

1. Создана экспериментальная модельная система, состоящая из 32-х по-разному маркированных различными сигнальными генами генетически чистых линий арабидопсиса, полученных путём многократных скрещиваний между собой и с исходной расой *Columbia* маркерных линий *tr`*, *vc`er* и *gl`an*, позволяющая изучать действие мутантных генов в различной генотипической среде на рост, развитие и продуктивность растений.
2. Получена полная фенотипическая характеристика 32-х по-разному маркированных различными сигнальными генами генетически чистых линий арабидопсиса, которая выявила большой потенциал генотипической изменчивости вида *A. thaliana* по плодовитости – интегральному показателю активности физиологических реакций растительного организма.
3. Показано, что различная генотипическая среда по-разному влияет на проявление генов *tr`*, *vc`*, *er`*, *gl`* и *an`*, если оценивать их действие по различным параметрам признака плодовитости (масса семян, число семян в плоде или же на одном растении). Обнаружено закономерное уменьшение величин этих показателей в зависимости от числа мутантных генов, вводимых в генотип арабидопсиса. Максимальные величины массы семян и числа семян в стручке и на одном растении наблюдались в том случае, когда в генотип арабидопсиса вводили единичные гены *tr`*, *vc`*, *er`*, *gl`* и *an`*, а минимальные – при введении в генотип арабидопсиса всех пяти мутантных генов.
4. Установлено, что мутантные гены и их различные сочетания в генотипе арабидопсиса по-разному изменяют массу одного семени и число семян, формирующихся на одном растении. Масса семян, получаемая с одного растения, является величиной константной при условии введения в генотип арабидопсиса от одного до трёх генов, при введении в генотип арабидопсиса четырёх и пяти генов масса семян с одного растения резко падает.
5. Показано, что ген *tr`*, детерминирующий морфологический признак – тройные плоды, приводит к повышению интенсивности фотосинтеза единичного хлоропласта. Сочетание гена *tr`* с другими сигнальными генами приводит к резкому возрастанию индекса фотосинтеза единичного хлоропласта. Максимальные величины индекса фотосинтеза зарегистрированы в том случае, когда мутантный ген *tr`* присутствует в одном генотипе вместе с сигнальными генами *vc`*, *an* и *er`*.
6. Обнаружено усиление действия «гена плодовитости» - *tr* на фотосинтетическую продуктивность растений в определённой генотипической среде - *tr`vc`an*. Следовательно, открывается перспектива селекционно-генетического конструирования высокопродуктивных форм растений путём подбора генов плодовитости.

7. Показано, что мутантные гетерозиготы, в стручковом потомстве которых выщеплялись рецессивные эмбрионально-летальные хлорофилльные мутации типа *al*, *xa*, и *ch*, статистически достоверно превосходили исходную расу *Enkheim* по показателям роста, развития и семенной продуктивности, что указывает на эффект моногибридного гетерозиса. Фенотипическое проявление моногибридного гетерозиса зависит как от действия мутантных генов в гетерозиготном состоянии, так и от условий среды.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Усманов Т.П., Усманова О.В. Множественно маркированные различными сигналами линии арабидопсиса для решения научных и практических задач генетики и радиобиологии высших растений // Биосфера и человечество. Материалы конф., посвящённой 100-летию со дня рождения Н.В. Тимофеева-Ресовского. Обнинск, 2000, с. 140-143.

2. Усманов П.Д., Усманова О.В., Усманов Т.П. Феногенетические исследования плодovitости *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // В кн.: Международная конференция, посвящённая 100-летию со дня рождения Н.В. Тимофеева-Ресовского. Мн. 2000, с. 116-118.

3. Усманов Т.П. Феногенетика плодovitости *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Тр. науч. конф. молодых учёных АН РТ, посвящённой 50-летию АН РТ. Душанбе, 2001, с. 70-75.

4. Т.П. Усманов, О.В. Усманова, П.Д. Усманов. О действии летальных и витальных мутаций на плодovitость *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Материалы юбилейной науч. конф., посвящённой 100-летию А.Р. Жебрака и 70-летию образования кафедры генетики в Тимирязевской Академии. Москва, 2002, с. 334.

5. П.Д. Усманов, Т.П. Усманов, О.В. Усманова. Влияние летальных и жизнеспособных мутаций на плодovitость *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Актуальные проблемы и перспективы развития физиологии растений. Материалы науч. конф., посвящённой 40-летию Ин-та физиологии растений и генетики АН РТ и 80-летию г. Душанбе. Душанбе, 2004. с. 120-121.

6. Usmanova O.V., Usmanov T. P. Phenogenetic study of fertility in the line *tr`vc`er`gl` an Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. multiple with different signal genes // Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution. The second Inter. Conf. dedicated to 105th anniversary of the birth of N.V. Timofeeff-Ressovsky. Yerevan, 2005, p. 94.

7. Т.П. Усманов, О.В. Усманова. Влияние мутантных генов и их различных сочетаний на плодovitость *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Изв. АН РТ. Отд. биол. и мед. наук. 2007, №3 (156), с. 36-42.

8. Усманова О.В., Усманов Т.П., Шакирзянова Г.С., Бободжанова Ф.Х. Влияние маркерных генов и их различных сочетаний на морфофизиологические параметры *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Материалы VI съезда Общества физиологов России. Межд. конф. «Современная физиология растений от молекул до экосистем». (18-24 июня 2007, г. Сыктывкар), с. 216-217.