



TARTU RIIKLIK ÜLIKOOL

Geneetika ja tsütoloogia kateeder

Ene Asu

MÖNEDE MUTAGEENIDE (NMK ja NEK)
TSÜTOGENEETILISEST TOIMEST HERNELE
(*Pisum sativum* L.)

Diplomitöö

*Subatnd koostanud
Kallak*

*Artimaid
13. vi 80*

Juhendaja: dots. H. Kallak

TARTU 1980

S I S U K O R D

S I S S E J U H A T U S.....	3
I K I R J A N D U S E Ü L E V A A D E.....	4
1. Alkүүлühendite üldiseloostus ja kasutamine.	4
2. N-nitroso-N-alkүүлkarbamiidide toime mehha- nismist.....	6
3. NMK ja NEK bioloogilisest toimest.....	8
II M A T E R J A L J A M E T O O D I K A.....	11
III T Ö Ö T U L E M U S E D.....	13
1. Mitootiline aktiivsus ja aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus NEK toimel saadud mutan- tide (M ₅ ja M ₆) idujuurte rakkudes.....	13
2. NMK vahetust toimest mitootilisele aktiivsu- sele ja aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedusele herne idujuurte rakkudes.....	22
IV A R U T E L U.....	29
V K O K K U V Ö T E.....	31
K A S U T A T U D K I R J A N D U S.....	33
Резюме.....	39
Summary.....	41

S I S S E J U H A T U S

Keemiliste mutageenide hulgas on erilise koha leidnud supermutageenid- ained, mis indutseerivad geneetilisi muutusi ilma oluliste kahjustusteta elutegevuses. Supermutageenne õpiti sünteesima aastail 1946-1948. NSVL TA Keemilise Füüsika Instituudis juhtis neid töid Rapoport. Supermutageenideks on näiteks N-nitrosoalküülkarbamiidid, N-nitrosouretaanid, N-nitrosoalküülamiinid, N-nitrosoalküülamiidid ning mõningad etüleenimiini derivaadid.

N-nitroso-N-alküülkarbamiididest on N-nitroso-N-metüülkarbamiid (NMK) ja N-nitroso-N-etüülkarbamiid (NEK) leidnud laialdlast kasutust taimede sordiaretuses. Mõjutades taimede seemneid kemikaalidega on võimalik saada esimeses ja järgnevatel põlvkondades selektsiooni seisukohalt väärtuslike muutustega taimevorme. Kemikaalide abil saadud mutante on iseloomustatud eelkõige morfoloogiliste, füsioloogiliste ja biokeemiliste näitajate alusel. Kemikaalide tsütogeneetilist efekti on aga suhteliselt vähem uuritud.

Käesoleva töö ülesandeks oli iseloomustada tsütogeneetiliselt NEK toimel saadud herne mutantide viiendat ja kuendat põlvkonda ning uurida ka NMK vahetut tsütogeneetilist efekti herne idujuurtele.

Töö on tehtud TRÜ geneetika ja tsütoloogia kateedris aastatel 1978-1980.

I K I R J A N D U S E Ü L E V A A D E

1. Alküülühendite üldiseloomustus ja kasutamine

Mitmed autorid (Epstein, Legator, 1971; Gottschalk, 1977; Malling, Wassom, 1977; Ayəpɔax, 1978) on klassifitseerinud keemilisi mutageene. Malling ja Wassom (1977) jaotavad mutageenid seitsmesse rühma, nende toime järgi DNA-sse. Nende poolt koostatud mutageenide nimistusse kuulub 128 keemilist ühendit, 49 neist on alküülivad. Alküülivad ühendid on Auerbach (Ayəpɔax, 1978) jaganud üheksasse rühma, võttes klassifitseerimisel aluseks alküülrühmade tüübi (metüül-, etüül-) ja alküülgruppide arvu, mida võib anda ära üks alküülühendi molekul. Alküülühendeist on tähtsamad nitrosoühendid, mille mutageenne toime avastati esmakordselt Rapoporti poolt (Рапопорт, 1948). Esimeste katsetatavate nitrosoühendite hulgas oli efektiivseim N-nitroso-N-metüüluretaan. Uute otsingute tulemusena avastati Rapoorti poolt N-nitroso-N-alküülkarbamiidide (NAK) - N-nitroso-N-metüülkarbamiidi ja N-nitroso-N-etüülkarbamiidi tugev mutageenne toime äädikakarbsele (Рапопорт, 1962; 1963).

Nii NMK kui ka NEK on füsioloogiliselt aktiivsed ained struktuurvalemitega
$$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} - \text{C} - \text{N} - \text{CH}_3 \\ \parallel \quad | \\ \text{O} \quad \text{NO} \end{array} \quad \text{ja} \quad \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} - \text{C} - \text{N} - \text{C}_2\text{H}_5 \\ \parallel \quad | \\ \text{O} \quad \text{NO} \end{array}$$
 Nikolovi ja kaasautorite (Николов и др., 1978) poolt tuvastati NO-rühma osatähtsus NAK-de tugevas mutageenses toimes.

N-nitroso-N-alküülkarbamiidid avaldavad mutageenset toimet inimesele, loomadele (Раджабли и др., 1966) ja mikroorganismidele (Бартошевич, 1966).

Käesoleval ajal kasutatakse keemilisi mutageene laialdlaselt taimede sordiaretuses. Taimede selektsioonitöös on täht-

sateks probleemideks saagikuse tõstmine, valgusisalduse suurendamine tera- ja kaunviljadel, lühivarreliste vormide saamine kõrrelistel, külma- ja haiguskindlate sortide kujundamine.

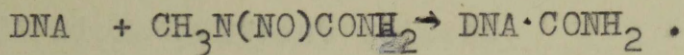
Keemilise mutageneesi alaseid töid alustati hernel 60-ndatel aastatel. 1962. aastal töödeldi herne seemneid esmakordselt NEK-ga (Колотенков и др., 1966). 1963. aastal mõjutati herne seemneid NMK-ga ning võrreldi NMK toimet teiste füüsikaliste ja keemiliste mutageenidega (Шарма, 1966). Võrreldud on γ -kiirguse ja mutageenide toimet hernel (Сидорова, 1968; Дебелый, Бежанидзе, 1972; Гриченко, Сереева, 1974; Ахундзаде, 1977). Uuritud on mutatsioonide spektri sõltuvust herne sordist ja kasutatud mutageenist (Колотенков, 1968). Kindlaks on tehtud keemiliste mutageenide toime erisugune efektiivsus herne sortidel (Сидорова, 1971). Kasutades keemilisi mutageene on hernel saadud selektsiooni tarvis väärtuslike tunnustega taimevorme (Тарасенков, Долгих, 1971; Темин, Попова, 1976) ja mutantseid liine (Попова, 1977) ning perspektiivseid sorte (Дебелый и др., 1977). Hernē mutantidel on uuritud morfoloogilisi tunnuseid ja klorofüllmutatsioone (Колотенков и др., 1966; Тарасенков, Долгих, 1968; Ахундзаде, 1977), biokeemilisi (Дебелый и др., 1972; Шифрин, 1973; 1974) ja füsioloogilisi (Ушаков, Зоз, 1972; Шифрин, 1972 b, c; 1974) näitajaid.

2. N-nitroso-N-alküülkarbamiidide toimemehhanismist

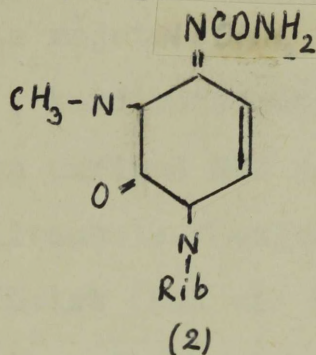
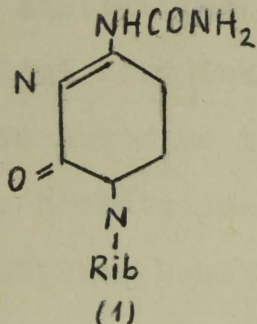
N-nitroso-N-alküülkarbamiidide toime realiseerub kahe mehhanismi- alküülimis- ja karbomüülimisreaktsiooni kaudu (Соффер, 1969; Абрамов и др. , 1972; Смотряева и др. , 1972).

Esimesel juhul toimub alküülgruppide lisandumine DNA komponentidele, kas vaba aatomiga ühinemise või asendamise teel. Alküülitakse fosfaatjääke ja lämmastikaluseid. Fosfaatgruppide alküülimise tulemusena moodustub triester, mis on ebastabiilne ja mis hüdroolüüsib, vabastades alküülgrupi (Alexander, Stacey, 1958; Mikaelson, Ahnström, 1969; Natarajan, 1976). Bautzi ja Freese poolt peeti guaniini alküülimist seitsmendas positsioonis oleva lämmastikuaatomi kohal primaarseks reaktsiooniks, mis põhjustab mutatsioonide teket (Соффер, 1969). Viimasel ajal rõhutatakse aga guaniini alküülimist kuuendas ja tüümiini alküülimist neljandas positsioonis oleva hapnikuaatomi kohal (Lijinsky, 1976; Natarajan, 1976; Mallin, Wasson, 1977; Ayerbach, 1978). Peetakse võimalikuks veel tüümiini alküülimist kolmandas ja neljandas ning adeniini esimeses ja kolmandas positsioonis oleva lämmastikuaatomi kohal (Natarajan, 1976; Ayerbach, 1978). Lämmastikaluste alküülimine põhjustab nende depuriinimist, mille tulemuseks on kas N-aluste vale paardumine, mis viib transitsioonidele ja transversioonidele, või DNA ahelate katkemine (Ayerbach, 1978).

Toimides NMK-ga DNA-le võib NMK karbomüülgrupp $O=C-NH_2$ lülituda DNA molekuli depuriinitud ossa, s.t. toimub karbomüülimisreaktsioon. Serebrjanõi (Серебряный, 1972) andmetel võivad kõik karbamiidid, millel on aktseptorasendajad R RNHC(=O)NH₂, (milles R=NO₂ või R=CH₃CO), karbomüülida reaktsioonivõimelisi substraate:



Karbomüülimise kohtadeks DNA-s on fosfaatgrupid ja N-aluste aminogrupid. Uurides NMK reaktsiooni tsütidiiniga eraldas Serebrjanõi karbomüültsütidiini (1) ja 1-metüültsütidiini (2):



Need ühendid hüdrolüüsuvad vastavalt uridiiniks ja 1-metüüluridiiniks.

3. NMK ja NEK bioloogilisest toimest

Raske on teha üldist kokkuvõtet NMK ja NEK bioloogilisest toimest, sest erinevad autorid on kasutanud erisuguseid testobjekte, kontsentratsioone ja mõjutusaegu, uurides nendel kemikaalidel kord toksilist, kord mutageenset toimet.

Mitmete autorite töödes on uuritud NMK ja NEK toimet taimerakkude mitootilisele aktiivsusele. Seejuures on täheldatud mõju sõltuvust kemikaali tüübist (NMK või NEK). NMK kontsentratsioonis $4,2 \cdot 10^{-5}$ M inhibeerib koertubaka idujuurte rakkude jagunemist, NEK samas kontsentratsioonis ei kutsu esile mitootilise aktiivsuse langust, võrreldes kontrollvariandiga (Dimitrov, 1976).

NMK ja NEK toksiline toime sõltub taime liigist. Kontsentratsioonis 0,025% avaldab NEK sibula idujuurte rakkude jagunemisele tugevat toksilist toimet kui kuuse idujuurte rakkude jagunemisele (Терасмаа, 1976; Водянова, 1976).

NMK ja NEK toksiline toime sõltub kontsentratsioonist. Sobolevi (Соболев, 1966) andmeil avaldab NMK kontsentratsioonides 0,063%, 0,125%, 0,25% herne idujuurte rakkude jagunemisele stimuleerivat toimet. Kontsentratsioonides 0,5% ja 1% inhibeerib NMK herne idujuurte rakkude jagunemist. NEK kontsentratsioonides 0,063%, 0,125% ja 0,25% inhibeerib osaliselt, kontsentratsioonides 0,5% ja 1% aga täielikult herne idujuurte rakkude jagunemise.

On uuritud ka NMK ja NEK mutageenset toimet taimedele. NMK ja NEK põhjustavad klorofüll- ja morfoloogiliste mutatsioonide teket (Тарасенков, Долгих, 1968; Ахунд-заде, 1977).

J. Schifrin on uurinud oma töödes (Шифрин, 1972 a, b, c;

1973; 1974) NEK stimuleerivate ja pidurdavate kontsentratsioonide mutageenst ja füsioloogilist toimet hernele. NEK madalad kontsentratsioonid (0,1 ja 0,25 mM) suurendavad seemnete idanevust, kõrged kontsentratsioonid (8 ja 10 mM) pidurdavad taimede kasvu. J. Schifrin on uurinud valgusisaldust ja aminohappelist koostist mutantide seemnetes. Sage-damini muutub asendamatute aminohapete (metioniini, leut-siini, lüsiini) sisaldus mutantide seemnetes. J. Schifrin on uurinud veel taimede hingamisintensiivsust ja klorofüllisaldust lehtedes. Mutageeni keskmised kontsentratsioonid suurendavad taimede hingamisintensiivsust. Hingamisintensiiv-suse tõus põhjustab idujuurte kasvu aeglustumist. NEK mada-lad kontsentratsioonid suurendavad klorofüllisaldust tai-mede lehtedes, kõrged kontsentratsioonid aga vähendavad.

NMK ja NEK indutseerivad peale geenmutatsioonide ka kro-mosoomaberratsioone.

Mutageenide tsütogeneetiline toime sõltub nende tüübist. NMK põhjustab suuremal hulgal kromatiidaberratsioone koer-tubaka idujuurte rakkudes kui NEK (Dimitrov, 1976).

NMK tsütogeneetiline toime sõltub taime liigist. Kontsent-ratsioonil 0,01% indutseerib NMK herne idujuurte rakkudes aberratiivseid ana- ja telofaase sagedusega 25% (Шарма, 1966). Sibula idujuurte rakkudes on aberratsioonide sagedus sama NMK kontsentratsiooni korral 5,4% (Водянова, 1976).

NMK tsütogeneetiline toime sõltub kontsentratsioonist. Sharma (Шарма, 1966) andmetel indutseerib NMK kontsentrat-sioonis 0,0125% aberratiivseid ana- ja telofaase sagedusega 36,8%, kontsentratsioonides 0,00625 ja 0,01% aga vastavalt 7,6% ja 25,0%.

Uurides NMK ja NEK tsütogeneetilist toimet on leitud, et kemikaalid indutseerivad erinevat tüüpi aberratsioonide: kromatiidseid ja kromosoomseid sildu ja fragmente; on täheldatud ka mahajäänud kromosoomide esinemist (Водянова, 1976; Терасмаа, 1976). Sobolev (Соболев, 1966) tuvastas ka polüploidsete rakkude moodustumist NMK toimel. Uurides aberratsioonitüüpide vahetõrka on leitud, et fragmentiga rakkude arv ületab sildadega rakkude arvu (Шарма, 1966; Мамалыга, 1975; Терасмаа, 1976; Моргул, Ларченко, 1978).

NMK tsütogeneetiline toime oleneb keskkonna happelisusest. NMK tsütogeneetiline toime on tugevam happelises keskkonnas kui neutraalses ja aluselises (Тавил, Шкварников, 1979).

NMK toimet on modifitseeritud mitmete ühenditega. Naatrium-nitriid (Na_3N) vähendab NMK tsütogeneetilist toimet happelises keskkonnas, neutraalses ja aluselises keskkonnas ühend mõju ei avalda (Тавил, Шкварников, 1979). Seemnete hoidmisel pärast etüleenimiini ja NMK kombineeritud töötlemist avastati NMK modifitseeriv toime, mis väljendub etüleenimiini toime vähendamises (Шамаева, Мамедов, 1977).

Aberratsioonide sagedust mõjutab seemnete vanus, nende hoidmise kestvus. Orlova ja Soldatova (Орлова, Солдатова, 1975) andmeil oli 6 aastat hoitud rukki seemnetest kasvatatud idujuurte rakkudes aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus 18,5%. Esimesel aastal oli aberratsioonide sagedus 1,9%, teisel, kolmandal ja neljandal aastal vastavalt 9,8%, 9,2%, 15,7%.

II M A T E R J A L J A M E T O O D I K A

Katsematerjalina kasutati hariliku herne (Pisum sativum L.) sordi "Torstag III" 1974.aasta mutantide ja kontrolli seemneid, mis saadi ENSV TA Eksperimentaalbioloogia Instituudist ja 1979.aasta seemneid, mis saadi Jõgeva Sordiaretusjaamast.

ENSV TA Eksperimentaalbioloogia Instituudis mõjutati J. Schifrini poolt herne õhkuivi seemneid 12 tundi N-nitroso-N-etuülkarbamiidi vesilahustega kontsentratsioonides 1, 2, ja 5 mM, pesti 1,5 tundi kraanivees ja külvati põllule (Шифрин, Зоз, 1971; Шифрин, 1974).

Käesolevas töös uuriti viienda põlvkonna mutante (M_5) liinidest 2-359, 5-315 ja 10-42 ning kuuenda põlvkonna mutante (M_6) liinidest 2-229 ja 5-330. Esimene number mutandi arvulises tähises näitab NEK lahuse kontsentratsiooni (mM), millega herne seemneid töödeldi.

Esimesel aastal (1978.a.) uuriti mutante liinidest 2-359 ja 5-315, teisel aastal (1979.a.) võeti vaatluse alla peale nende veel mutandid liinidest 2-229, 5-330 ja 10-42. 2-359 ja 10-42 on klorofüllmutandid flavoviridis, kusjuures mutandil 10-42 on rohelised seemned. 2-229 on morfoloogiline, nn. kõrendiline mutant ja 5-330 samuti morfoloogiline (kääbusjakasvuga) mutant. Mutant 5-315 on varavalmiv. Viiendas põlvkonnas õitses 7 ja viljus 10 päeva varem kui lähtesort.

Mutantide ja kontrolli seemneid leotati 1,5 tundi kraanivees ja idandati termostaadis Petri tassidel. Seemneid idandati seni, kuni idujuured saavutasid pikkuse 2-3 cm. Idujuurte tippusid fikseeriti 24 tundi 96% etanooli ja jää-äädikhape segus (3:1) ja säilitati 70% etanooli lahuses. Juuretippest valmistati surupreparaadid standardsel atsetoort-

seiini meetodil. Igast mutantsest liinist uuriti 7...16 idujuurt.

Jõgeva Sordiaretusjaamast saadud seemneid leotati 1,5 tundi kraanivees, idandati 72 tundi termostaadis, mõjutati 12 tundi N-nitroso-N-metüülkarbamiidi vesilahustega kontsentratsioonides 0,01%, 0,02% ja 0,05%, pesti 1,5 tundi kraanivees ning seejärel idandati veel 24 tundi termostaadis. Kontrollvariandina kasutati NMK-ga mõjutamata seemneid. Edasine töö käik on sama, mis mutantide idujuurte puhul. Tsütogeneetilisel uuriti iga erineva kontsentratsiooniga mõjutatud 7...9 idujuurt. Herne idujuuri ei saadud mõjutada NEK-ga, sest seda mutageeni ei olnud käepärast.

Kemikaalide tsütogeneetilise toime iseloomustamiseks määrati idujuurte rakkude mitootiline aktiivsus ja aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus. Tulemuste statistilisel töötlemisel kasutati Fischeri χ^2 -meetodit. Leiti usalduspiirid, millesse saadud tulemus jääb 95% tõenäosusega.

Laboratooriumis töötamisel jälgiti rangelt töö- ja tuloohutuse eeskirju. Jää-äädikhappe ja atseetoortseiini lahuste kasutamisel välditi nende sattumist nahale, silma ja riietele. Piirituslambi kasutamisel hoiti tagavarapiiritus leegist eemal. Kemikaale hoiti selleks ettenähtud kapis (ОЧОБ-ННЕ ..., 1965). Enne elektriseadmete kasutamist kontrolliti nende korrasolekut vastavalt eeskirjadele. (Tarbijate..., 1972). Töö lõpetamisel lülitati elektriseadmed välja. Eriti rangelt jälgiti ohustetehnika nõudeid NMK-ga töötamisel. Juhinduti eeskirjadest (Ohustetehnika ..., 1973). Kemikaali lahustamine ja seemnete töötlemine viidi läbi selleks ettenähtud ruumis tõmbekapis. Kanti kaitseriietust. Mutageeniga töötamisel kasutati ainult selleks ettenähtuid esemeid, mida pärast töö lõpetamist pesti rohke veega.

III T Ö Ö T U L E M U S E D

1. Mitootiline aktiivsus ja aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus NEK toimetel saadud herne mutantide (M_5 ja M_6) idujuurte rakkudes

Mitootilise aktiivsuse iseloomustamiseks määrati mitoosiindeks herne mutantide idujuurte algkoe rakkudes. Saadud tulemused on esitatud tabelites 1 ja 2 ning joonisel 1.

1978. aasta tulemuste järgi mutantide 2-359 ja 5-315 mitoosiindeksid ei erine olulisel määral kontrollvariandi mitoosiindeksist.

1979. aastal saadud töötulemuste põhjal herne mutandi 2-229 idujuurte rakkude jagunemise aktiivsus ületab kontrollvariandi rakkude jagunemise aktiivsuse. Teiste mutantide (2-359, 5-330, 5-315 ja 10-42) idujuurte rakkude mitootiline aktiivsus ei erine olulisel määral kontrollvariandi omast. Võrreldes 1978. aastal saadud tulemusi 1979. aastal saadutega, ilmneb, et mutandi 5-315 idujuurte rakkude jagunemise aktiivsus on langenud (8,0...4,4%). Kontrolli ja mutandi 2-359 idujuurte rakkude jagunemise aktiivsus on ka langenud, kuid mitte olulisel määral.

Herne mutantide idujuurte rakkudes määrati ka aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus (tabel 1 ja 2; joon. 2). Aberratiivseteks loeti ainult sildadega, ainult fragmentidega või fragmentide ja sildadega ana- ja telofaasid (joon. 3-7).

1978. aasta töötulemuste põhjal on mutantide 2-359 ja 5-315 idujuurte rakkudes kontrolliga võrreldes kõrgem aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus.

1979. aastal seda erinevust enam ei täheldatud. Teiste mutantide idujuurte rakkudes oli aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus

Tabel 1

MITOOTILINE AKTIIVSUS JA ABERRATIIVSETE ANA- JA TELOFAASIDE SAGEDUS
 HERNE MUTANTIDE IDUJUURTE RAKKODES (1978.a.a.)

Variant	Loetud rakkude arv	Mitoosi-indeks (%)	Ana- ja telofaaside üldarv	Aberratiivsete ana- ja telofaaside arv	$\frac{\text{Aberratiivsete ana- ja telofaaside arv}}{\text{sagedus(\%)}}$	Fragmentidega ja sildadega rakkude suhe
kontroll	1500	6,3 ± 1,3 1,2	1310	96	7,3 ± 1,4	0,7
2-359	2000	6,3 ± 1,1 1,0	243	51	21,0 ± 5,4 4,7	2,1
5-315	5500	8,0 ± 0,8 0,7	790	210	26,6 ± 3,0 2,8	2,1

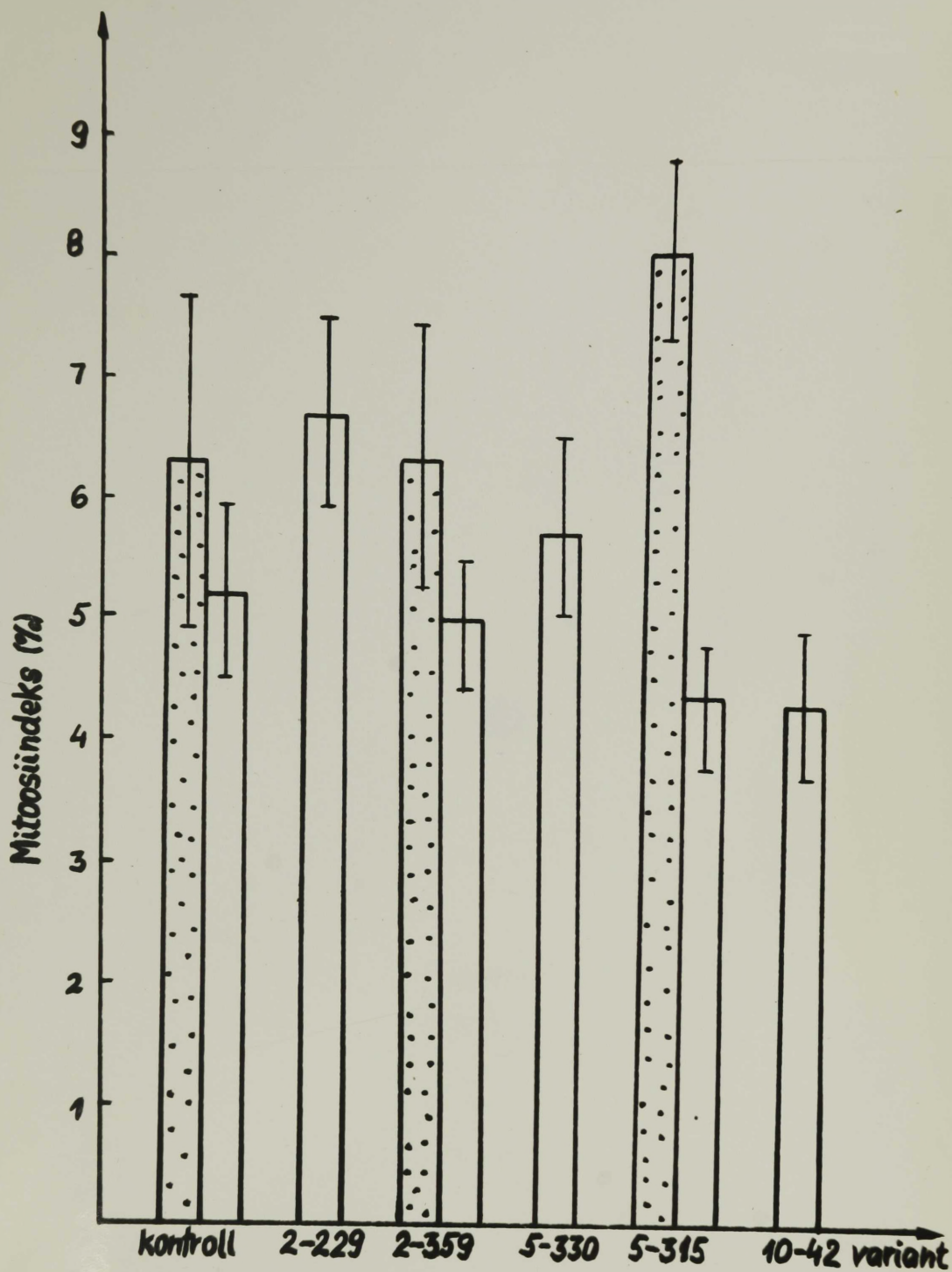
** P < 0,01

Tabel 2

MITOOTILINE AKTIIVSUS JA ABERRATIIVSETE ANA- JA TELOFAAASIDE SAGEDUS
HERNE MUTANTIDE IDUJUURTE RAKKODES (1979.a.)

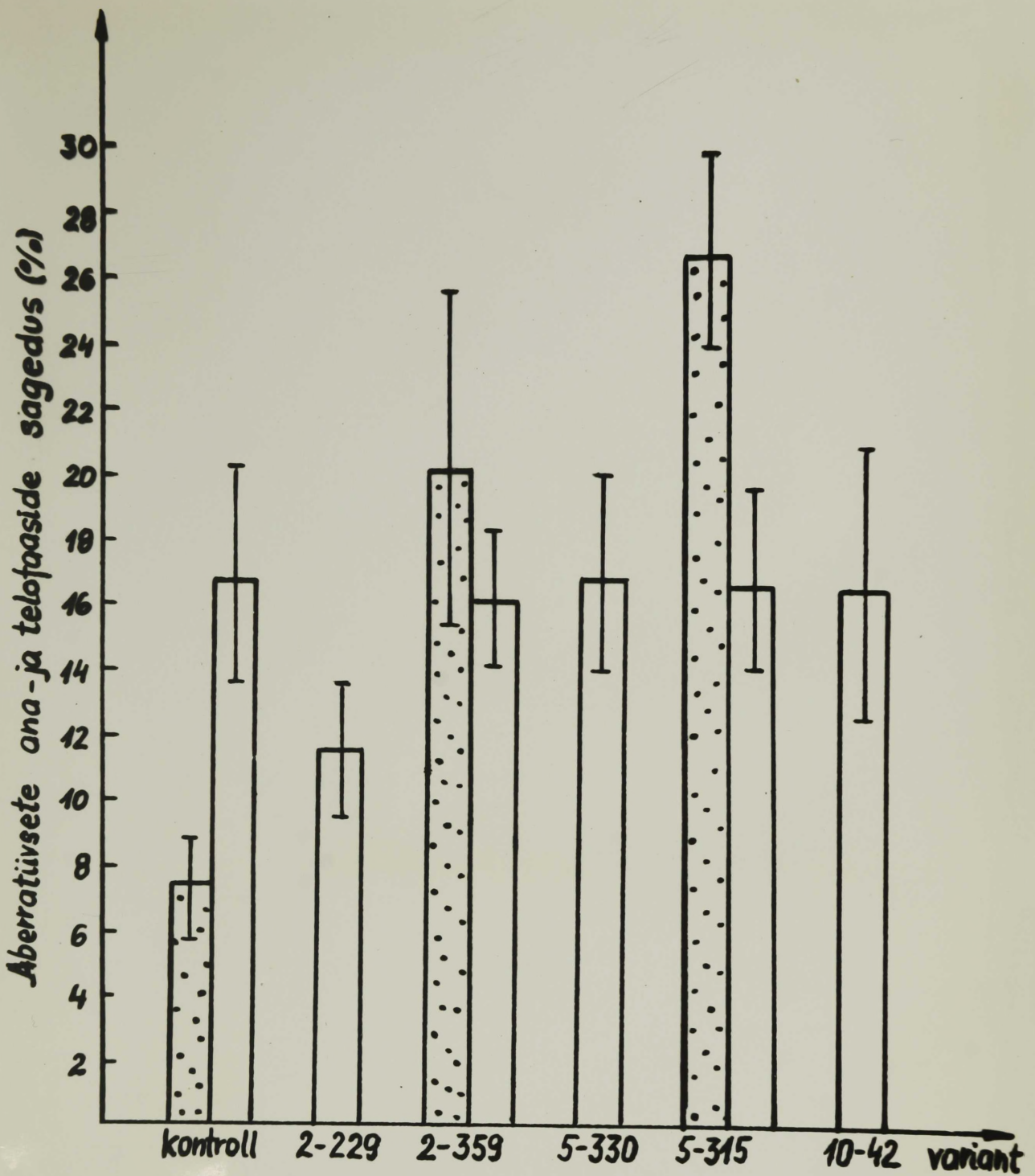
Variant	Loetud rakkude arv	Mitoosi-indeks (%)	Ana- ja telofaaside üldarv	Aberratiivsete ana- ja telofaaside arv	$\frac{\text{Aberratiivsete ana- ja telofaaside arv}}{\text{sagedus(\%)}}$	Fragmentidega ja sildadega rakkude suhe
kontroll	3500	5,2 ± 0,7	616	104	16,9 ± 3,4 3,1	2,1
2-229	4000	6,7 ± 0,8 *	899	105	11,7 ± 2,3 2,2	1,1
2-359	6000	5,0 ± 0,6 0,5	1492	238	16,0 ± 2,1 2,0	3,8
5-330	3500	5,7 ± 0,8 0,7	645	108	16,8 ± 3,2 3,0	3,2
5-315	5000	4,4 ± 0,6	752	124	16,5 ± 3,0 2,8	3,2
10-42	3000	4,3 ± 0,8 0,6	354	58	16,4 ± 4,4 4,0	3,2

* P < 0,05





Joan. 1. Mitootiline aktiivsus herne mutantide idujuurte rakkudes

- 1978.a. t otulemused
- 1979.a. t otulemused



Joon. 2. Aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus herne mutantide idujuurte rakkudes

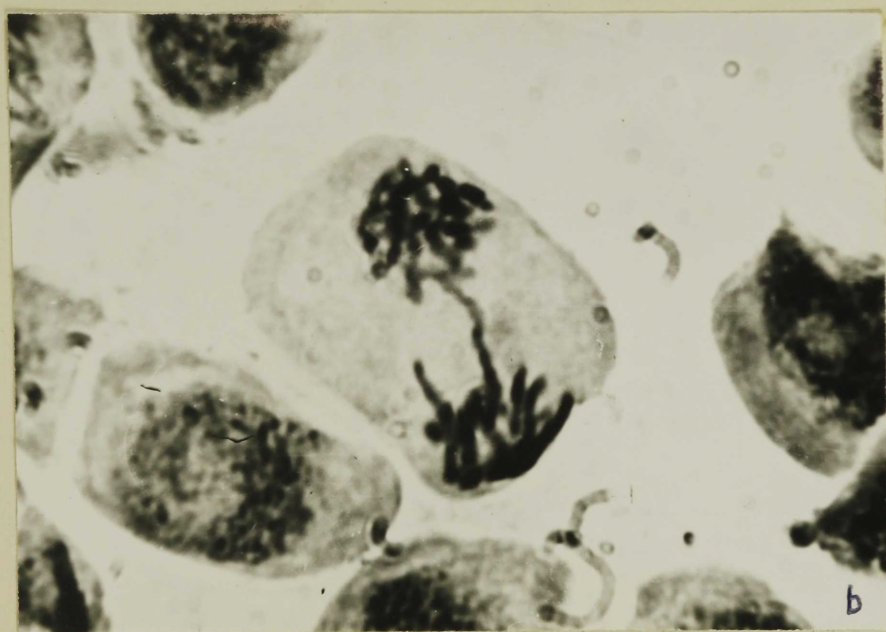
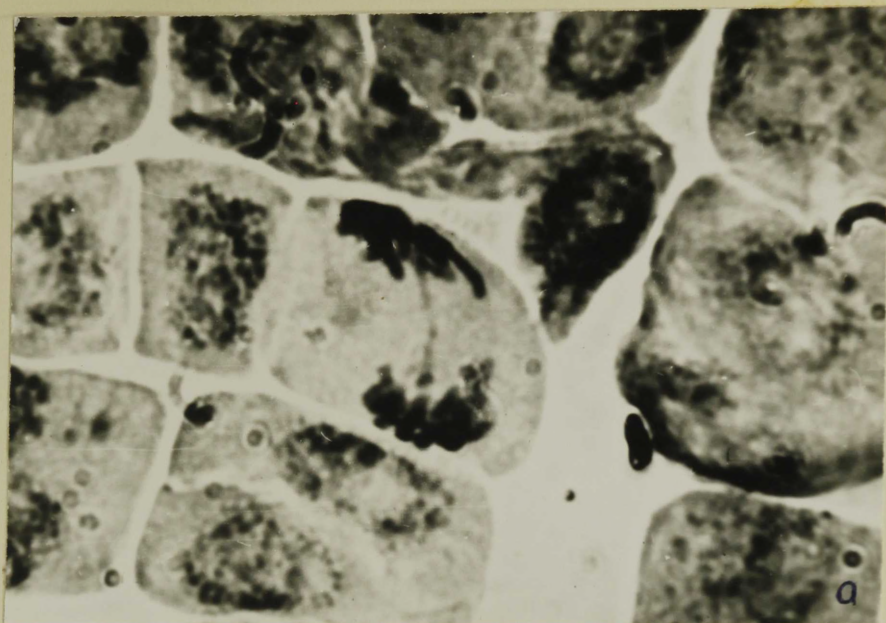
-  1978. a. t otulemused
-  1979. a. t otulemused



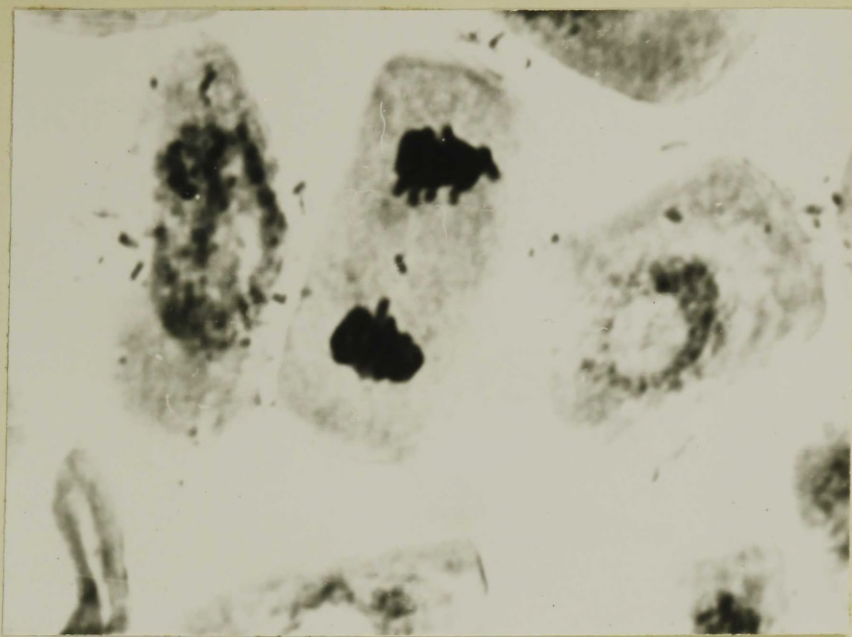
Joon. 3. Fragmenteerunud kromosoomidega anafaas herne mutandi 2-359 idujuure rakus. $\times 2630$.



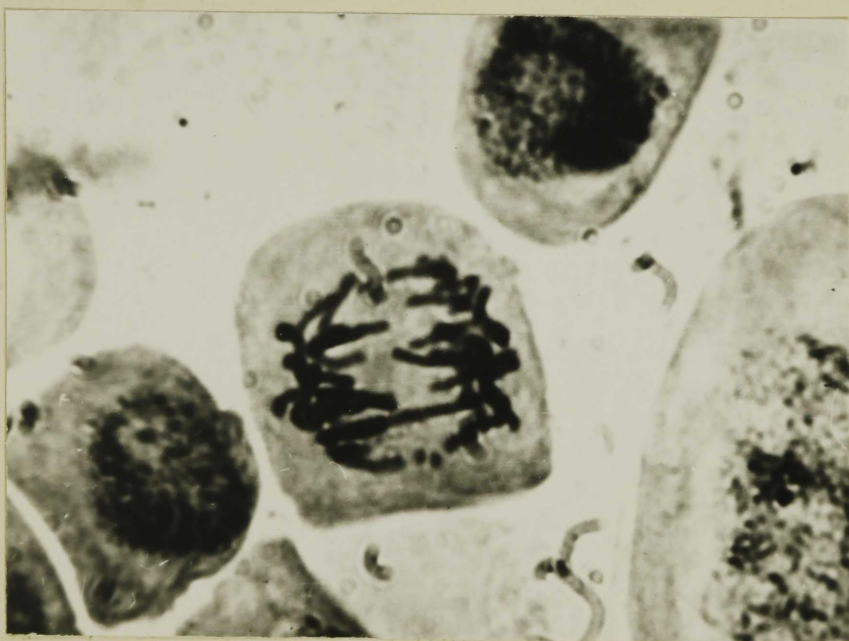
Joon. 4. Fragmentide ja rõngaskromosoomiga telofaas kontrolli idujuure rakus. $\times 2630$.



Joon.5. Sillaga telofaasid herne mutandi
2-229 idujuurte rakkudes: a) kroma-
tiidsild, b) kromosoomsild. × 2630.



Joon. 6. Fragmendiga telofaas herne mutandi
10-42 idujuure rakus. × 2630.



Joon. 7. Silla ja fragmentidega anafaas her-
ne mutandi 2-229 idujuure rakus. ×
2630.

faaside sagedus samuti sarnane kontrollvariandi aberratsioonide sagedusega. Mutandi 2-229 idujuurte rakkudes oli aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus isegi madalam kui kontrollvariandis. Võrreldes 1978.a. ja 1979.a. tulemusi, ilmneb, et mutantide idujuurte rakkudes on aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus langenud, kontrollis aga tõusnud.

Arvutati fragmentidega ja sildadega rakkude (tabel 1 ja 2)^{suhe}. Suhtest on välja jäetud rakud, milles esinesid nii sillad kui fragmendid, sest selliste rakkude arv oli väga väike.

1978.a. tulemuste järgi mutantide 2-359 ja 5-315 idujuurtes fragmentidega rakkude arv ületab sildadega rakkude arvu. Kontrollis on sildadega rakke enam kui fragmentidega rakke.

1979.a. töötulemuste järgi kõigi mutantide ja kontrolli idujuurte rakkudes ületab fragmentidega rakkude arv sildadega rakkude arvu, v. a. mutant 2-229, mille idujuurtes on sildadega rakkude arv võrdne fragmentidega rakkude arvuga. 1979.aasta töötulemuste põhjal on mutantide ja kontrolli idujuurtes fragmentidega rakkude arv suurem kui 1978.aasta tulemuste põhjal.

2. NMK vahetust toimest mitootilisele aktiivsusele ja aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedusele herne idujuurte rakkudes

NMK toksilise toime iseloomustamiseks määrati mitoosiindeks herne idujuurte rakkudes. Tulemused on esitatud tabelis 3 ja joonisel 8.

NMK inhibeerib rakkude jagunemist herne idujuurtes kõikide kasutatud kontsentratsioonide (0,01, 0,02, 0,05%) puhul; seejuures ilmneb kemikaali toksilise efekti sõltuvus kontsentratsioonist. NMK 0,01%-line lahus pidurdab rakkude jagunemist vaid vähesel määral, mitte olulisel määral, võrreldes kontrollvariandiga. Seevastu kontsentratsioonis 0,02% vähendab NMK järsult rakkude jagunemise aktiivsust. Kontsentratsioonis 0,05% on rakkude jagunemine herne idujuurtes oluliselt pidurdatud, kuigi mitte täielikult blokeeritud.

NMK tsütogeneetilise toime iseloomustamiseks määrati aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus herne idujuurte rakkudes.

NMK indutseerib aberratsioonide, mis avalduvad mitoosis sildade, fragmentide ja mahajäänud kromosoomidena (joon.10-13). NMK suurendab herne idujuurte rakkudes aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedust kõikide kasutatud kontsentratsioonide korral (tabel 3, joon. 9). Aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus suureneb mõnevõrra võrreldes kontrollvariandiga 0,01%-lise NMK lahuse kasutamisel. 0,02%-lise lahuse puhul kasvab aberratsioonide hulk järsult, kuid kontsentratsiooni edasisel tõstmisel 0,05%-ni aberratiivsete ana- ja telofaaside hulk oluliselt enam ei suurene.

NMK tsütogeneetilise toime iseloomustamiseks leiti frag-

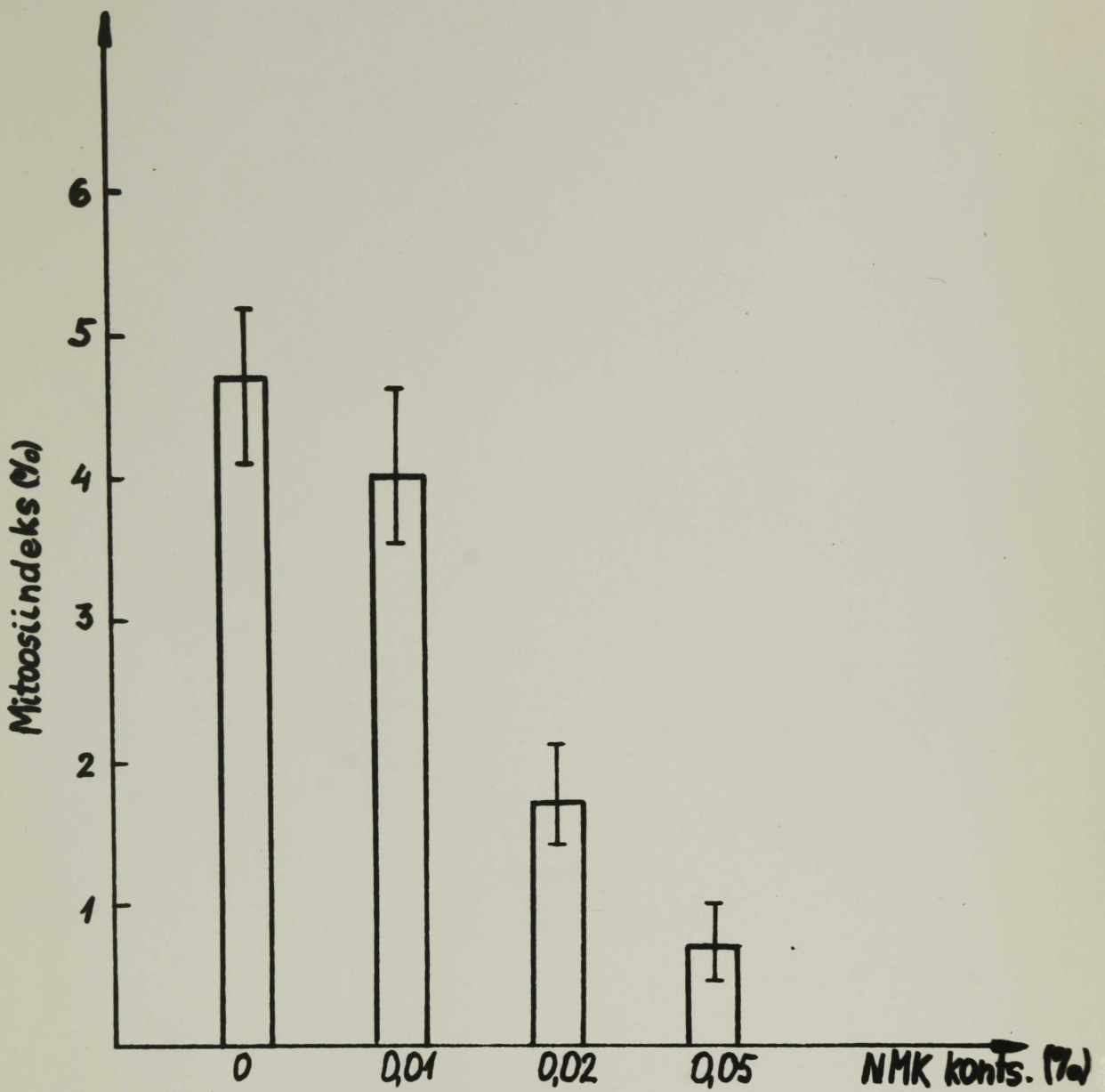
Tabel 3

NMK TOKSILISEST JA TSÜTOGENEETILISEST TOIMEST HERNE IDUJUURTE RAKKODES

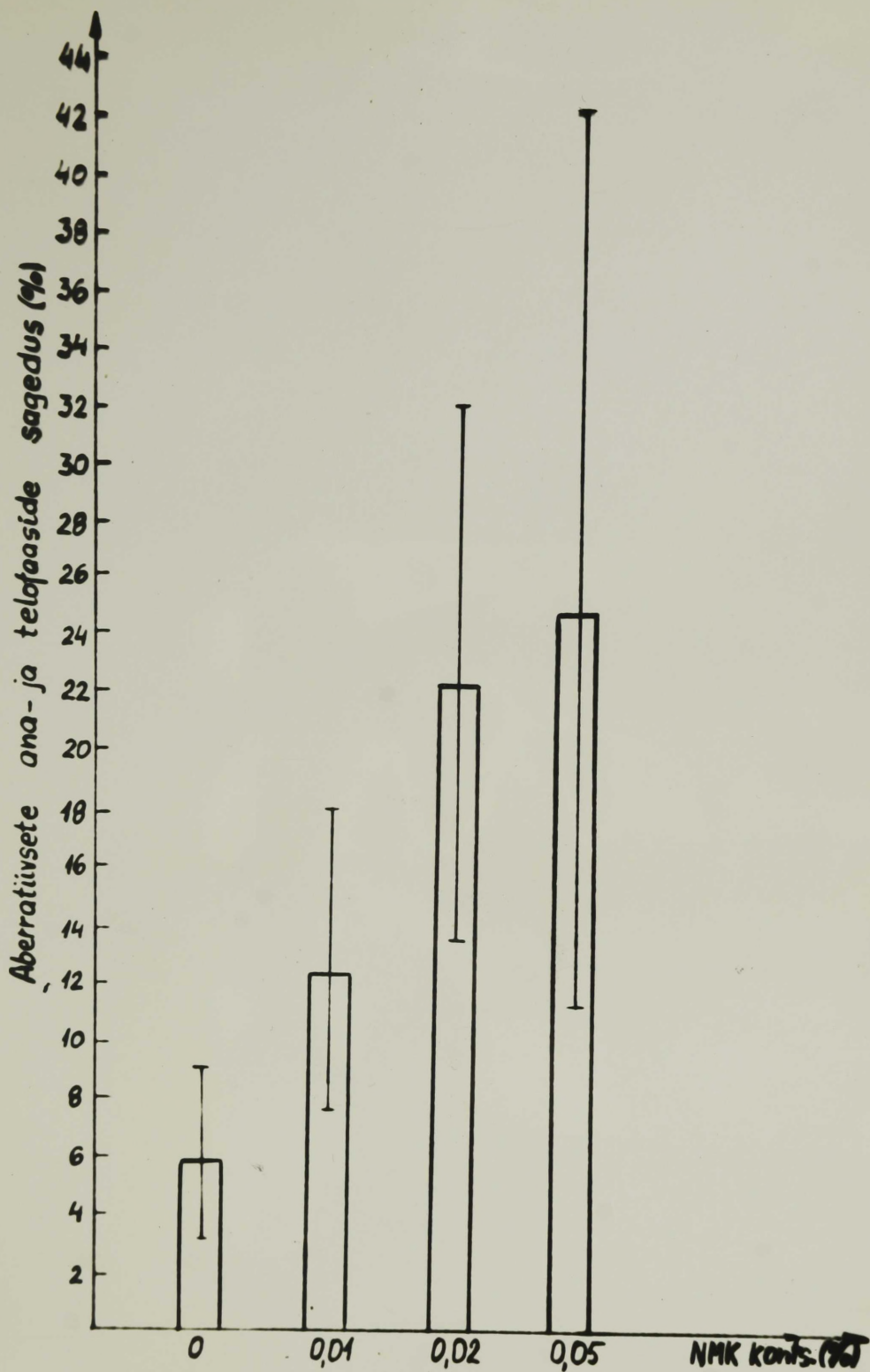
Konts. (%)	Loetud rakkude arv	Mitooosi- indeks (%)	Ana- ja telofaaside üldarv	Aberratiivsete ana- ja telofaaside arv	$\frac{\text{Aberratiivsete ana- ja telofaaside arv}}{\text{sagedus(\%)}}$	Fragmentidega ja sildadega rakkude suhe
0	4500	4,7 ± 0,6	226	13	5,8 ± 3,7 2,7	3,0
0,01	4500	4,0 ± 0,6 0,5	153	19	12,4 ± 5,8 4,6	3,5
0,02	4500	1,7 ± 0,4 0,3	71	16	22,5 ± 9,8 8,5	3,7
0,05	3500	0,7 ± 0,3 0,2	28	7	25,0 ± 17,3 14,0	2,5

* P < 0,05

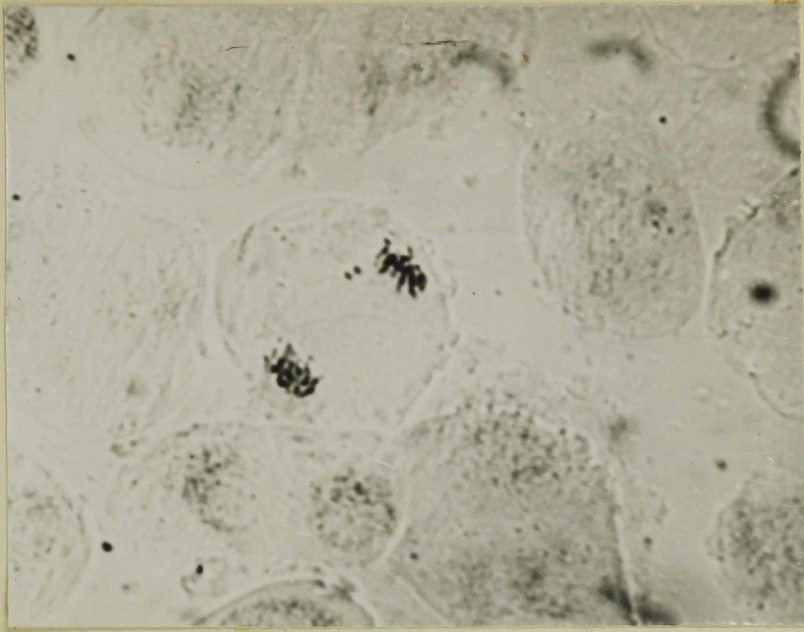
** P < 0,01



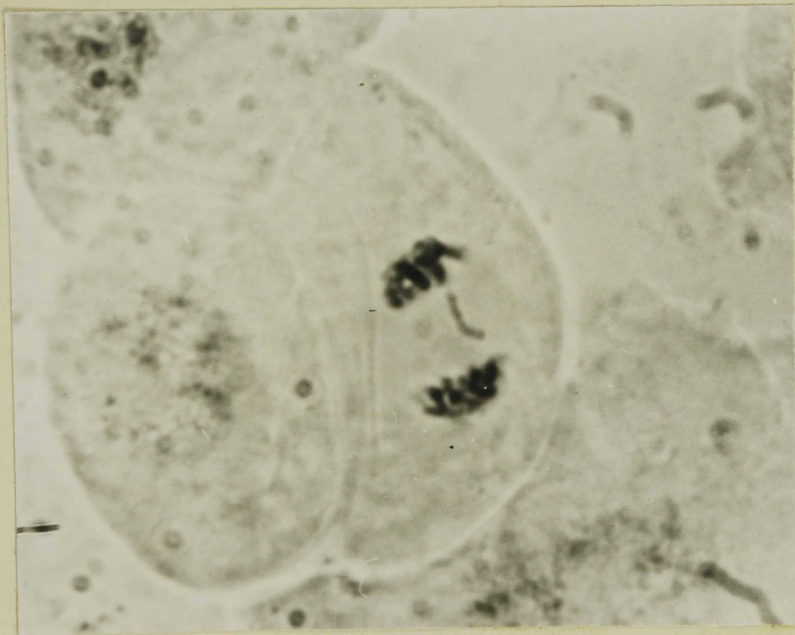
Joon. 8. NMC toimest herne idujuurte rakkude mitootilisele aktiivsusele



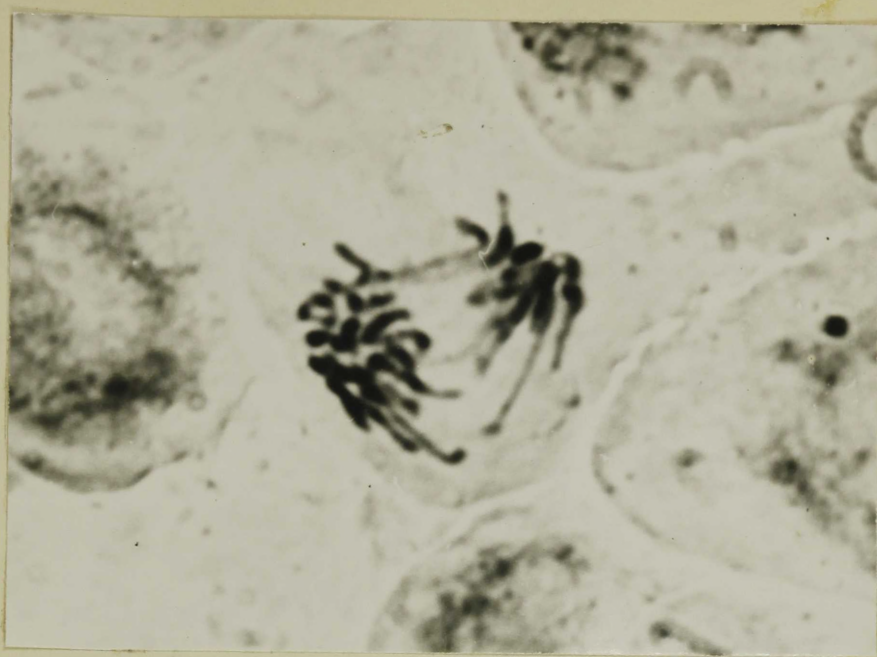
Joon. 9. NMK toimest aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedusele herne idujuurte rakkudes



Joon. 10. Fragmentidega telofaas herne idujuure rakus. $\times 1000$.



Joon. 11. Mahajäänud kromosoomiga telofaas herne idujuure rakus.
 $\times 2240$.



Joon. 12. Kromatiid- ja kromosoomsillaga anafaas herne idujuure rakus. \times 3480.



Joon. 13. Kromosoomsillaga telofaas herne idujuure rakus. \times 3280.

mentidega ja sildadega rakkude suhe (tabel 3). Nii kontrollis
kui ka kõigi kasutatud NMK kontsentratsioonide korral
ületab fragmentidega rakkude arv sildadega rakkude arvu.

1974.a. ja 1979.a. kontrollvariandi seemnetest kasvata-
tud idujuurte tsütogeneetiline võrdlus võimaldas analüüsida
seemnete vanuse (s. t. säilitamisaja) mõju aberratsioonide
sagedusele (tabel 1, 2, 3 ja joon. 2, 9). Kui 1974.a. seem-
netest kasvatatud idujuurte rakkudes oli aberratiivseid
ana- ja telofaase 1978.a. ja 1979.a. töötulemuste järgi vas-
tavalt 7,3% ja 16,9%, siis 1979.a. seemnetest kasvatatud
idujuurte rakkudes oli neid 5,8%. Nagu arvata võis, osutus
vanematest seemnetest kasvatatud idujuurte rakkudes aberrat-
sioonide sagedus kõ^rgemaks.

IV A R U T L U S

Käesolevas töös uuriti NMK vahetut tsütogeneetilist efekti herne idujuurtele ning võrreldi saadud tulemusi kirjanduse andmetega. Ilmnes, et NMK pidurdab rakkude jagunemist herne idujuurtes kõikide kasutatud kontsentratsioonide (0,01%; 0,02% ja 0,05%) korral. Sobolevi (Соболев, 1966) andmetel inhibeerib NMK herne idujuurte rakkude jagunemist alles kontsentratsioonis 0,5%, kontsentratsioonides 0,063%, 0,125% ja 0,25% aga stimuleerib rakkude jagunemist. Erinevused tulemustes võivad olla tingitud erinevatest mõjutusobjektidest: käesolevas töös mõjutati mutageeniga idujuuri, Sobolev allutas mõjutamisele seemneid. Kõigis kasutatud kontsentratsioonides NMK suurendas aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedust herne idujuurte rakkudes. 0,01%-lise NMK lahuse puhul oli aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus 12,4%. Sharma (Шарма, 1966) sai oma töös sama kontsentratsiooni puhul aberratsioonide sageduseks 25%. Erinevused aberratsioonide sagedustes võivad olla tingitud sellest, et mõjutamiseks kasutati erinevaid objekte: Sharma töötles herne õhkkuiivi seemneid mutageeni lahustega, käesolevas töös mõjutati aga idujuuri. Üldiselt on teada, et seemned on tundlikumad mõningate mutageenide tsütogeneetilise toime suhtes kui idujuured. Aberratsioonide sagedusele avaldavad veel mõju mutageeniga töötlemise aeg ja mõjutamiseks kasutatud taimesort.

Käesolevas töös uuriti aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedust viienda ja kuuenda põlvkonna herne mutantide idujuurte rakkudes. 1978. aasta töötulemuste põhjal saadi olulised erinevused kontrolli ja mutantide idujuurte rakkude aber-

ratiivsete ana- ja telofaaside sageduses. Võis oletada reparatsioonisüsteemide häireid mutantides. 1979.aasta põhjal aga ei saadud enam olulisi erinevusi kontrolli ja mutantide idujuurte rakkude aberratiivsete ana- ja telofaaside sageduses. Mutandi 2-229 idujuurte rakkudes oli aberratsioonide sagedus koguni madalam kontrollvariandi aberratsioonide sagedusest. Asjaolu, et aberratsioonide sagedus viiendas ja kuuendas põlvkonnas ei erine oluliselt kontrollvariandi aberratsioonide sagedusest seletub ilmselt reparatsioonisüsteemide olemasoluga, mis pidevalt parandab^{vad} potentsiaalseid aberratsioone.

Erinevused kahe aasta (1978.a. ja 1979.a.) töötulemustes on küllalt suured, nii kontrolli kui ka mutantide tsütogeneetilise iseloomustuse osas. Need erinevused võivad olla põhjustatud nii seemnete idandamise kui ka säilitamise erinevatest tingimustest neil aastatel.

V K O K K U V Ö T E

Töö ülesandeks oli uurida mõnede mutageenide (NMK ja NEK) tsütogeneetilist efekti hernel (Pisum sativum L.), võrreldes vahetut toimet mõjustatud idujuurtes ja võimalikku vahendatud toimet viienda ja kuuenda põlvkonna mutantide idujuurtes. Katsematerjalina kasutati ENSV TA Eksperimentaalbioloogia Instituudist saadud mutantide (2-229, 2-359, 5-330, 5-315, 10-42) 1974.a. seemneid ja Jõgeva Sordiaretusjaamast saadud sordi "Tortag III" 1979.a. seemneid. Mutageenide tsütogeneetilise toime iseloomustamiseks määrati mitootiline aktiivsus ning aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus idujuurte rakkudes. Uurimused viidi läbi aastatel 1978 ja 1979.

NMK lahustega vahetult mõjustatud idujuurte rakkudes langes mitootiline aktiivsus vastavalt mutageeni kontsentratsiooni tõusule: kui kontrollvariandi mitoosiindeks oli 4,7%, siis katsevariantides (0,01%, 0,02% ja 0,05% NMK lahusega mõjustamisel) oli see vastavalt 4,0%, 1,7% ja 0,7%. Kõikide kasutatud NMK kontsentratsioonide mõjul suurenes idujuurtes ka aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus: kontrollvariandis oli see 5,8%, katsevariantides vastavalt 12,4%, 22,5%, 25,0%.

NEK toimel saadud mutantide viienda ja kuuenda põlvkonna idujuurte rakkude mitootiline aktiivsus ei erinenud oluliselt kontrollvariandi mitootilisest aktiivsusest. Aberratiivsete ana- ja telofaaside sagedus mutantide 2-359 ja 5-315 idujuurte rakkudes (vastavalt 21,0% ja 26,6%) osutus 1978.a. andmeil kõrgemaks kontrollvariandi omast (7,3%). 1979a. analüüs aga ei kinnitanud neid andmeid: enamiku mutantide (ka 2-359 ja 5-315) idujuurte rakkude aberratiivsete

ana- ja telofaaside sagedus ei erinenud oluliselt kontrollvariandi aberratsioonide sagedusest, mutandil 2-229 õsutus see isegi madalamaks kontrollvariandi omast.

1974.a. ja 1979.a. saagist pärinevatest mõjustamata seemnetest kasvatatud idujuurte tsütogeneetiline analüüs näitas seemnete vanuse (S.T. säilitamisaja) mõju aberratsioonide sagedusele: 1974.a. materjalis oli see 7,3% (1978.a. andmeil) ja 16,9% (1979.a. andmeil), 1979.a. materjalis- 5,8%.

K A S U T A T U D K I R J A N D U S

Aleksander, P., Stacey, K.A. Comparison of the changes produced by ionizing radiation and by the alkylating agents: evidence for a similar mechanism at the molecular level.- "Ann. N. Y. Acad. Sci.", 1958, 68, 1225-1237.

Dimitrov, B. Comparative study of the mutagenic activity of N-methyl-N-nitrosourethane at the induction of chromosomal aberrations in Crepis capillaris .- Докл. Болг. АН , 29, 7, 1067-1070.

Gottsoalk W. Mutation.- "Progress in Botany" ,1977, 39, 153-172.

Lijinsky W. Carcinogenetic and Mutagenic N-Nitroso Compounds .- "Chem. Mutagen. Princ. and Methods for their Detection", 1976, 4, 193-217.

Malling H.V., Wassom J.S. Action of Mutagenic Agents.- "Handbook of Teratology", 1977, 1, 99-152.

Mikaelsen, K., Ahnström, G. Genetic Effects of Alkylating Agents in Barley. Influence of post storage Metabolic State and pH of Mutagen Solution.- "Hereditas", 1968, 59, 2-3, 353-374.

Natarajan, A.T. Molecular Aspects of the Origin of Chromosome Structural Changes.- "Biol. Zbl.", 1976, 95, 139-156.

Ohutustehnika juhend laboratoorseteks töödeks geneetika ja darvinismi kateedris.-1973, 3 lk.

Tarbijate elektriseadeldiste eksploatatsioonieskirjad. Tarbijate elektriseadeldiste eksploatatsiooni ohutuseeskirjad. Kinnitatud Riikliku Energeetika Järelevalve Inspektsiooni poolt 12.apr. 1969., täiendatud 3.veebr. 1971. ja 17.mai 1971. - Tln.; Valgus.- 360 lk.

Абрамов В.И., Серебряный А.М., Зоз Н.Н. К механизму мутагенного действия N-нитрозо-N-метилмочевины. Цитогенетический эффект изоцианата калия. - "Цитология и генетика"¹⁹⁷², 6, 6, 525-528.

Ауербах Ш. Проблемы мутагенеза. - М. "Мир", 1978, 464с.

Ахунд-заде А.И. Генетические эффекты супермутагенов и гамма-лучей у гороха. - В сб.: "Химический мутагенез и создание сортов интенсивного типа". М. "Наука", 1977, 143-150.

Бартошевич Ю.Э. Сравнительное изучение генетической активности N-нитрозоэтилмочевины с физическими и химическим мутагенами. - В сб.: "Супермутагены". М. "Наука", 1966, 23-33.

Водянова О.С. Реакция сортов репчатого лука при действии химических мутагенов. - В сб.: "Эффективность химических мутагенов в селекции". М. "Наука", 1976, 277-280.

Гриценко Р.И., Сергеева С.И. Сравнительное изучение на горохе мутагенного действия γ -лучей с частичными снятием повреждающего эффекта и химических мутагенов. - В сб.: "Успехи химического мутагенеза в селекции". М. "Наука", 1974, 129-135.

Дебелый Г.А., Бежанидзе О.И. Влияние химических мутагенов и γ -лучей на изменчивость гороха в M_1 и частоту мутаций в M_2 . - В сб.: "Химический мутагенез и создание селекционного материала". М. "Наука", 1972, 264-268.

Дебелый Г.А., Бежанидзе О.И., Рыжков Т.Ф. Результаты испытания и биохимического исследования мутантов гороха. - В сб. "Успехи химического мутагенеза в селекции". М. "Наука", 1974, 227-231.

Дебелый Г.А., Бежанидзе О.И., Калинина Л.В., Пташенчук В.Н. Перспективные сорта - мутанты гороха и яровой вики. - В сб. "Химический мутагенез и создание сортов интенсивного типа". М. "Наука", 1977, 54-56.

Колотенков П.В. Зависимость спектра мутаций гороха от мута-

гена и сорта.- В сб.: "Спечивичность химического мутагенеза". М. "Наука", 1968, 216-223.

Колотенков П.В., Зоз Н.Н., Макарова С.И. Экспериментальные мутаций гороха.- В сб.: "Супермутагены". М. "Наука", 1966, 135-138.

Мамалыга В.С. Действие нитрозоалкилмочевин^и /диазокетонов^и на частоту aberrаций хромосом (ростовые процессы Triticum durum Desf.- В сб.: "Химические супермутагены в селекции". М. "Наука", 1975, 222-227.

Моргун В.В., Ларченко Е.А. Изучение мутагенной активности нитрозоалкилмочевин и диазокетонов на кукурузе.- "Цитология и генетика", 1978, 8, 4, 331-338.

Николов Н.Н., Хубавенска Н.Б., Велев Ч.К. Роль NO-группы в проявлении высокого мутагенного эффекта N-нитрозо-N-алкилмочевины у Scenedesmus acutus. "Генетика", 1978, 14, 4, 673-677.

Орлова Н.Н., Солдатов О.П. Цитогенетическое изучение мутационного процесса в семенах популяций и чистых линий ржи (Secale cereale L.) при хранениях.- "Генетика", 1975, II, II, 9-14.

Основные правила безопасности работы в химической лаборатории. Утверждены Гос. комитетом химической промышленности при Госплане СССР 10 февраля 1964 г.- В кн.: "Техника безопасности и производственная санитария в химической промышленности.- М. Химия, 1965, 705-733.

Попова И.А. Получение хозяйственно-ценных признаков³ овощного гороха под действием НЭМ.- В сб.: "Химический мутагенез и создание сортов интенсивного типа" М. "Наука", 1977, 98-101.

Раджабли С.И., Целлариус С.Ф., Бакуменко Н.Г. Действие N-нитрозометилмочевины на клетки млекопитающих и человека.-

В сб.: "Супермутagens". М. "Наука", 1966, 85-89.

Рапопорт И.А. Алкилирование геной молекулы.- Докл. АН СССР, 1948, 59, 6, 1183-1186.

Рапопорт И.А. 85% мутаций в половой хромосоме под влиянием нитрозоэтилмочевины.- Докл. АН СССР, 1962, 146, 6, 1418-1421.

Рапопорт И.А. Преодоление универсального мутационного барьера с мутациями X-хромосом более, чем 100%.- Докл. АН СССР, 1963, 148, 3, 696-699.

Серебряный А.М. К механизму мутагенного действия N-нитрозо-N-алкилмочевины.- В сб.: "Молекулярные механизмы генетических процессов". М. "Наука", 1972, 135-138.

Сидорова К.К. Влияние химических мутагенов и гамма-лучей на мутационную изменчивость у разных сортов гороха.- В сб.: "Специфичность химического мутагенеза". М. "Наука", 1968, 204-216.

Сидорова К.К. Сравнительная эффективность химических мутагенов у разных сортов гороха.- В сб.: "Химический мутагенез и селекция". М. "Наука", 1971, 248-255.

Смотряева М.А., Серебряный А.М., Круглякова К.Е. Физико-химические изменения в ДНК при действии N-нитрозо-N-метилмочевины.- В сб.: "Химический мутагенез и создание селекционного материала". М. "Наука", 1972, 81-86.

Соболев Н.А. Применение химических мутагенов в селекций зерновых бобовых культур.- В сб.: "Супермутagens". М. "Наука", 1966, 178-184.

Сойфер В.Н. Молекулярные механизмы мутагенеза. М. "Наука", 1969, 512^Мстр.

Тавил М.В., Шкварников П.К. Комбинированное действие

нитрозометилмочевины и азида натрия на хромосомные пере-
стройки у пшеницы.- "Цитология и генетика", 1979, 13, 12,
107-109.

Тарасенков И.И., Долгих С.Т. Спектр мутаций у гороха
и томатов, полученный в M_2 под действием химических мута-
генов.- В сб.: "Специфичность химического мутагенеза". М.
"Наука", 1968, 238-249.

Тарасенков И.И., Долгих С.Т. Хозяйственно-ценные формы
овощного гороха и томатов, полученные при воздействии хими-
ческими мутагенами.- В сб.: "Химический мутагенез и селекция".
М. "Наука", 1971, 295-301.

Терасмаа Т.А. О цитогенетическом действии некоторых
химических мутагенов на ель обыкновенную.- "Цитология и
генетика", 1976, 10, 1, 61-63.

Темин Н.И., Попова И.А. Использование индуцированных му-
тантных форм овощного гороха и салата в селекционно-гене-
тических исследованиях.- В сб.: "Эффективность химических
мутагенов в селекции". М. "Наука", 1976, 268-272.

Ушаков В.А., Зоз Н.Н. Влияние N-нитрозо-N-этилмочевины
на метаболические процессы у гороха.- В сб.: "Химический
мутагенез и создание селекционного материала". М. "Наука",
1972, 104-107.

Шамаева Н.Н., Мамедов К. Изучение цитогенетического
эффекта совместного действия этилмина и N-нитрозо-N-метил-
мочевины на клетки семян хлопчатника.- "Цитология и гене-
тика", 1977, 11, 2, 119-123.

Шарма Б. Сравнение действия N-нитрозометилмочевины с
различными физическими и химическими мутагенами на горохе
Pisum sativum.- В сб.: "Супермутагены". М. "Наука",
1966, 143-159.

Шифрин Ю.Ф. а Особенности дыхания гороха после обработки
семян N-нитрозо-N-этилмочевинной.- В сб.: "Химический мута-
генез и создание селекционного материала". М. "Наука", 1972,
108-110.

Шифрин Ю.Ф. б Влияние N-нитрозо-N-этилмочевины на содер-
жание хлорофилла в листьях гороха в M_1 , M_3 и M_4 .- В сб.: "
Химический мутагенез и создание селекционного материала".
М. "Наука", 1972, 148-150.

Шифрин Ю.Ф. с Влияние N-нитрозоэтилмочевины на зерно-

вой горох.- В сб.: "Индукцированный мутагенез у растений. Таллин, 1972, 314-318.

Шифрин Ю.Ф. Содержание сырого протейна в семенах мутантов гороха.- В сб.: "Применение химических мутагенов в сельском хозяйстве и медицине". М. "Наука", 1973, 245-246.

Шифрин Ю.Ф., Зоз Н.Н. К вопросу о дозовой зависимости действия N-нитрозоэтилмочевины на горох.- В сб.: "Теория химического мутагенеза". М. "Наука", 1971, 181-184.

Käsikirjad:

Шифрин Ю.Ф. Генетическое и физиологическое действие N-нитрозо-N-этилмочевины на горох. Автореферат диссертаций к.б.н. Тарту, 1974, 24 стр.

О воздействии некоторых мутагенов
(НММ и НЭМ) на горох (Pisum sativum L.)

Э.Асу

Резюме

Целью данной работы было изучение цитогенетического воздействия некоторых мутагенов (НММ и НЭМ) на горох (Pisum sativum L.), сравнивая непосредственное воздействие на зародышевые корешки и возможное отдаленное воздействие на зародышевые корешки пятого и шестого поколений мутантов. Материалом исследований пользовались семена мутантов (2-229, 2-359, 5-330, 5-315, 10-42) 1974 года, полученные из Института Экспериментальной Биологии АН ЭССР и семена сорта "Торстаг III" 1979 года, полученные из Ягеваской селекционной станции. Для характеристики цитогенетического воздействия мутагенов определили митотическую активность и частоту аберративных ана- и телофаз в клетках зародышевых корешков. Исследования проводились в 1978 и 1979 г.

В результате непосредственного воздействия растворами НММ в клетках зародышевых корешков гороха митотическая активность понизилась соответственно повышению концентрации мутагена: митотический индекс у контрольного варианта был 4,7%, а в подопытных вариантах (при 0,01%, 0,02% и 0,05% НММ) соответственно 4,0%, 1,7% и 0,7%. При всех концентрациях НММ увеличивалась также частота аберративных ана- и телофаз, соответственно повышению концентрации мутагена: в контрольном варианте - 5,8%, при 0,01% НММ - 12,4%, при 0,02% НММ - 22,5% и при 0,05% НММ - 25,0%.

Митотическая активность в клетках зародышевых корешков

пятого и шестого поколений мутантов, полученных при воздействии НЭМ, достоверно не отличалась от митотической активности контрольного варианта. По данным 1978 года частота абберративных ана- и телофаз в клетках зародышевых корешков у мутантов 2-359 и 5-315 (21,0% и 26,6% соответственно) превысила частоту абберративных ана- и телофаз у контрольного варианта (7,3%). Анализ 1979 года не подтвердила этих данных: в клетках зародышевых корешков всех мутантов (включая 2-359 и 5-315) частота абберративных ана- и телофаз не отличалась от той же у контрольного варианта. У мутанта 2-229 она оказалась даже ниже, чем у контрольного варианта.

Цитогенетический анализ зародышевых корешков прорастающих от семян урожая 1974 и 1979 годов показал, что возраст семян (т.е. продолжительность хранения) влияет на частоту абберративных ана- и телофаз: в корешках от семян 1974 года эта частота была 7,3% (по данным 1978 года) и 16,9% (по данным 1979 года), а в корешках от семян 1979 года - 5,8%.

On the Effects of Some Mutagens
(NMU and NEU) on Pea (Pisum sativum L.)

E. Asu
Summary

The aim of the present work was to study the cytogenetical effects of some mutagens (NMU and NEU) on Pea (Pisum sativum L.) and to compare immediate influence of mutagens in primary roots of treated seeds and possible mediated influence in primary roots of the fifth and sixth generation of pea mutants. The experimental material used were the 1974 year seeds of mutants (2-229, 2-359, 5-330, 5-315, 10-42), which were got from Institute of Experimental Biology A. S. ESSR and 1979 year seeds, which were got from Jõgeva Plant Breeding Station. For the characterization of cytogenetical effect of mutagens the mitotic activity and frequency of aberrative ana- and telophases in meristematic cells were determined. Studies were carried out in years 1978 and 1979.

In the case of immediate influence of NMU the mitotic activity in cells of primary roots falls accordingly with the increase of mutagen concentration: whereas mitotic index in the control variant was 4,7%, in test variants (using of 0,01%, 0,02% and 0,05% NMU) it was 4,0%, 1,7% and 0,7% respectively. The frequency of aberrative ana- and telophases increase of mutagen concentration (control variant- 5,8%, 0,01% NMU- 12,4%, 0,02% NMU- 22,5% and 0,05% NMU- 25,0%) in the cells of primary

Mitotic activity of roots of the fifth and sixth generations of the mutants, which were got, when seeds were treated with NEU, did not differ markedly from that of control variant. On the ground of 1978 year data the frequency of aberrative

ana- and telophases in cells of primary roots of mutants 2-359 and 5-315 (21,0% and 26,6% accordingly) appeared higher than that of control variant (7,3%). Analysis of 1979 year did not attach these data: in cells of primary roots of mutants (including 2-359 and 5-315) frequency of aberrative ana- and telophases was similar to the frequency of aberrative mitoses of control variant. In the case of mutant 2-229 frequency of aberrative mitoses appeared even lower than frequency of aberrative mitoses of control variant.

Cytogenetical analysis of primary roots from seeds, which were germinated from yields of 1974 and 1979 year, showed that age of seeds (storage time) exerts influence on the frequency of aberrative ana- and telophases: in the 1974 year yield it was 7,3% (1978) and 16,9% (1979), in 1979 year yield it was 5,8%.