



Академия наук Эстонской ССР
Институт экспериментальной биологии

Ю. Ф. Ш и ф р и н

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ
N -НИТРОЗО- N -ЭТИЛМОЧЕВИНЫ НА ГОРОХ

(Специальность 03.00.15 - генетика)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Доктор биологических наук
Н. Н. З О З

Таллин, 1974 г.

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	I
ЧАСТЬ ПЕРВАЯ	
ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	3
1. Краткий исторический обзор исследований по индуцированному мутагенезу	3
2. Индуцированный мутагенез у гороха	9
3. Понятие "мутация" и классификация мутаций	13
4. Основные группы мутагенов	16
5. Особенности действия нитрозоалкилмочевин	20
6. Специфичность в индуцированном мутагенезе	28
7. Факторы, модифицирующие действие мутагенов ...	33
8. Действие различных факторов на физиолого-биохимические процессы растений M_1 и получение биохимических мутантов	39
9. Использование индуцированного мутагенеза в селекции	44
ЧАСТЬ ВТОРАЯ	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	49
ГЛАВА I	
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ N-НИТРОЗО-N-ЭТИЛМОЧЕВИНЫ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ГОРОХА И НА РОСТ ПРОРОСТКОВ И КОРЕШКОВ	
1. Материал и методика	50
2. Результаты и обсуждение	52

ГЛАВА II

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ N-НИТРОЗО-N-ЭТИЛМОЧЕВИНЫ НА ЧАСТОТУ И СПЕКТР МУТАЦИЙ У ГОРОХА

1. Материал и методика	54
2. Исследование влияния химических мутагенов на растения M_1	56
3. Частота и спектр мутаций в M_2	60
4. Частота мутаций в M_3	65
5. Изучение мутантных линий в M_4 и M_5	78
6. Мутантные линии, представляющие практический интерес	80

ГЛАВА III

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАБОТАННЫХ МУТАГЕНАМИ РАСТЕНИЙ ГОРОХА И МУТАНТОВ

I Изучение изменений в физиолого-биохимических показателях у растений M_1 после действия N-нитрозо-N-этилмочевинной	82
I. изучение содержания хлорофилла в листьях	
а) Материал и методика	82
б) Результаты и обсуждение	83
2. изучение активности дыхания проростков и корешков	
а) Материал и методика	85
б) Результаты и обсуждение	86
II Физиолого-биохимические показатели мутантов в M_3 и M_4	88
I. Изучение содержания хлорофилла в листьях хлорофильных мутантов гороха	
а) Материал исследований	89
б) Результаты и обсуждение	89

2. Изучение активности дыхания листьев	
а) Материал исследований	92
б) Результаты и обсуждение	93
3. Изучение содержания белка и его аминокислотного состава в семенах	
а) Материал и методика	96
б) Результаты и обсуждение	97

ГЛАВА IV

АНАЛИЗ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАСТЕНИЙ ГОРОХА M_1 и M_2

1. Изучение морфометрических показателей	102
2. Корреляционный анализ	110
3. Анализ корреляционных плеяд	116
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	119
ВЫВОДЫ	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	130

ВВЕДЕНИЕ

Решениями XXIV съезда КПСС перед работниками сельского хозяйства поставлены большие и ответственные задачи. Среднегодовой объем производства сельскохозяйственной продукции в данной пятилетке необходимо увеличить на 20-22% в сравнении с предыдущим пятилетием. Одним из главных средств прогресса в растениеводстве является современная селекция. Почетный долг селекционеров и генетиков - обеспечить ускоренное создание и испытание высокоурожайных и ценных по качеству сортов культурных растений. Большой вклад в решение этой задачи может внести метод экспериментального мутагенеза. Этот метод дает генетике ценную информацию для понимания природы наследственности живых организмов и решения других биологических проблем.

Основными проблемами, стоящими перед исследователями, в области экспериментального мутагенеза являются:

- а) отыскание эффективных методов воздействия мутагенами для получения высокого выхода мутаций;
- б) исследование специфических особенностей действия мутагенных факторов и специфичности организма с целью получения определенных типов изменений;
- в) изучение природы индуцированных мутантов и разработка эффективных методов мутационной селекции.

Одним из наименее изученных вопросов индуцированного мутагенеза является исследование действия мутагенных факторов на физиологические и биохимические процессы у растений M_I и связи их с генетическим действием мутагенов.

Исходя из указанного, в настоящей работе была поставлена следующая цель:

1. выяснение концентраций N -нитрозо- N -этилмочевины и методов обработки, при которых у гороха выявляется возможно большее количество мутаций, в первую очередь селекционно ценных;

2. изучение специфичности генотипа к данному мутагенному фактору;

3. изучение качества полученных мутантов, в том числе и содержания белка и его аминокислотного состава в зерне;

4. изучение действия разных концентраций N -нитрозо- N -этилмочевины на некоторые физиологические процессы в растениях гороха в год воздействия, а также выяснение их связи с генетическим действием данного мутагена.

Работа проводилась с 1967 по 1972г. при секторе генетики Института экспериментальной биологии Академии наук Эстонской ССР.

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

I. Краткий исторический обзор исследований по индуцированному мутагенезу

Исследователи, первыми начавшие эксперименты по искусственному изменению наследственности, в качестве мутагенных агентов использовали как разные виды излучений, так и химические соединения. Первые данные о влиянии рентгеновых лучей на живые организмы приведены в работах ученых прошлого века - в 1896 году Шобером, 1898 году Мальдынеем и Тувененом (по Бреславец, 1946). В начале XX века интерес к использованию облучения для получения наследственно измененных свойств и признаков организмов заметно возрос, причем объектами исследования служили разные виды растений и некоторые виды животных организмов (Пертс, Евлер, Кернике и др. ; цит. по Бреславец, 1946). В этих первых работах по изучению действия излучения на организмы не вскрывалась его сущность и рентгеновые лучи рассматривались прежде всего как повреждающий фактор.

На возможность повышения частоты мутирования искусственным путем впервые указал Х. Де-Фриз, а первое обобщение работ сделал немецкий ученый Е. Баур (Baur, 1925), который проводил опыты по выяснению действия высоких температур,

монохроматического света и химических соединений на чистые линии львиного зева. В 1918 году его сотрудниками в качестве источника облучения был использован радий. Впервые наследственные изменения под действием излучений были получены Г.А. Надсоном и Г.С. Филиповым (1925).

О получении наследственных изменений под действием ионизирующих излучений сообщил Х. Мюллер (Müller, 1927) на У международном конгрессе генетиков в Берлине, отмечая значительное повышение количества мутаций у Drosophila melanogaster по сравнению с естественной частотой мутирования.

В 20-е и 30-е годы появились многочисленные, более глубокие и теоретически обоснованные работы в этой области. Прежде всего следует отметить труды Г. Штуббе (Stubbe, 1929, 1930). Классическими стали исследования, проводимые с 1930г. под руководством Х. Нильсона-Эле и О. Густафссона (Nilsson-Ehle, 1939; Gustafsson, 1940, 1947; Gustafsson, Mac Key, 1948), в результате которых в 1950 г. был получен первый радиомутантный сорт 'Сфалефская белая горчица'.

В 1928 г. были начаты опыты по радиационной генетике на пшенице А.А. Сапегиным и Л.Н. Делоне (Сапегин, 1934, 1936; Делоне, 1932, 1934). Изучением индуцированного мутагенеза у растений занимался ряд исследователей: Н.В. Чехов (1934) проводил опыты с бобовыми и злаковыми, С.Н. Краевой (1935) - с горохом, Г.В. Ассеева, М. Благовидова (1935) - с картофелем, А.Н. Лутков (1937 а,б) - с ячменем и горохом и др.

В Эстонии опыты по радиационной генетике с ячменем и пшеницей проводил Т.А. Орав (1960).

Началом развития химического мутагенеза можно считать

тридцатые годы XX века. Экспериментальные работы, в которых был получен мутагенный эффект под действием химических агентов, впервые осуществлены на Drosophila melanogaster В.В. Сахаровым в 1932 г. с использованием йода (Сахаров, 1932) и М.Е. Лобачевым в 1934 г. с аммиаком (Лобашев, Смирнов, 1934). К этому периоду относятся также исследования по воздействию химических мутагенов И.А. Рапопорта. В начале для индуцирования мутаций у дрозофилы он использовал формальдегид (Рапопорт, 1936, 1946). В 1934 г. ученые Ш. Ауэрбах (Auerbach, 1943) и Ф. Элкерс (Oehlkers, 1943, 1945) независимо друг от друга установили, что иприт у плодовой мушки и уретан в клетках растений вызывают изменения клеточного ядра, проявляющиеся в виде мутаций. Ф. Элкерс впервые отметил, что под воздействием химических веществ возникает большое количество хромосомных aberrаций. В работах Ш. Ауэрбах (Auerbach, Robson, 1944, 1947; Auerbach, 1951, 1958, 1960) выработаны теоретические основы химического мутагенеза. С. Дарлингтон и П. Коллер (Darlington, Koller, 1947) также обнаружили и подробно изучили способность иприта индуцировать хромосомные aberrации в клетках пыльцы традесканции. Хромосомные нарушения после воздействия этиленмином на Crepis capillaris наблюдал П.К. Шкварников (1948), который отметил появление до 9,5% хромосомных перестроек. Большое значение имеют работы Р. Герриота (Herriott, 1948), в которых показано, что чувствительным к действию иприта субстратом при инактивации бактерий и вирусов является ДНК. Однако в то время еще не была выяснена роль ДНК в наследственности.

Более широкое использование химических соединений в ка-

честве мутагенных факторов стало возможным только после открытия ряда эффективных мутагенов. И.А. Рапопорту принадлежит приоритет открытия мутагенного действия таких соединений как диметил- и диэтилсульфаты (1947а), этиленимин (1947б), диазотметан и различные эпоксиды (1948и). Этиленимин до сих пор является одним из широко распространённых химических мутагенов (Рапопорт, 1947б, 1962а, б; Зоз, 1961, 1962, 1963; Эйгес, Валева, 1961; Эйгес, 1966; Бартошевич, 1966а; Ehrenberg и др. 1958, 1959; Gustafsson, Ehrenberg, 1959).

Наряду с этиленимином перспективным считается воздействие диэтилсульфатом и этилметансульфонатом (Heiner и др., 1960; Neslot, 1960; Neslot и др., 1961; Gaul, 1962). По мнению П.К. Шкварникова, в индуцированном мутагенезе наиболее широкое применение нашёл этилметансульфонат как менее токсичный и генетически более эффективный препарат (Шкварников и др., 1965).

В последние годы особый интерес представляют разные нитрозосоединения. Впервые мутагенный эффект N-нитрозосодержащих соединений был описан И.А. Рапопортом (Рапопорт, 1948б). Наиболее обширное использование из них нашли N-нитрозо-N-этилмочевина и N-нитрозо-N-метилмочевина (Рапопорт, 1960; Рапопорт, Зоз, 1962; Зоз, Дубинин, 1961; Зоз, 1961, 1962, 1964 и др.). В работах на дрозофиле N-нитрозо-N-этил- и N-метилмочевины показали очень сильный мутагенный эффект, который не сравним с эффектом ни одного другого мутагена (Рапопорт, 1962б, 1963). У различных сортов пшеницы нитрозоалкилмочевины вызывают появление до 100% изменённых растений и дают более широкий спектр мутаций, чем этиленимин (Зоз и

др., 1964б; Сальникова, Зоз, 1965). Нитрозоалкилмочевини оказались высокоэффективными и при ряде других объектов - частота возникновения мутантных семей у сои после воздействия N -нитрозо- N -этилмочевинной была равна 21-38%, после действия этилметансульфоната - 6% (Енкен, Чекуров, 1968), высокий мутагенный эффект нитрозоалкилмочевин отмечен также у ячменя (Никифорова, 1968), чины (Чекалин, 1968), вики (Штанько, 1968), картофеля (Першутина, Яшина, 1968), льна (Шаров, 1968), плодовых культур (Каск, 1972; Ряднова и др., 1968). N -нитрозо- N -этилмочевина является наиболее эффективным мутагеном и по частоте индуцирования полезных мутаций у томата (Тарасенко, Долгих, 1968а,б).

Вопрос о характере действия N -нитрозосоединений на клетки млекопитающих и человека представляет большой интерес в связи с использованием химических мутагенов в онкологической практике для изменения свойственного популяционного состава клеток, а также цитостатиков (Раджабли и др., 1966; Рапопорт, 1970 и др.).

Работами по сравнительному исследованию действия различных химических факторов доказано, что наиболее активное и генетически эффективное действие на растительные объекты имеют алкилирующие соединения (Шкварников и др., 1965; Зоз, 1966; Зоз и др., 1964а,б; Гуманов и др., 1966а). Подробный список соединений, обладающих алкилирующей активностью, дан в работах Э. Фриза (Greese и др., 1964) и А. Лавлеса (1970). В книге Лавлеса изложены также основы молекулярного механизма мутагенеза.

За последние годы нашли применение и новые мутагены -

производные этиленмина (Суйкова, 1966; Бартошевич, Костяновский, 1965), а также другие алкилирующие соединения. В работах с горохом N-нитрозодиметилмочевина оказалась еще более эффективной, чем N-нитрозо-N-метилмочевина (Бейсенбаев, 1971).

Химические мутагены значительно превосходят физические по частоте индуцируемых мутаций. Н.С. Эйгес и С.А. Валева (1961; Эйгес, 1964) обнаружили, что у озимой пшеницы этиленмин вызывает в 5-6 раз больше мутаций, чем гамма-облучение. О. Густафссон и Л. Эренберг (Ehrenberg и др., 1959; Gustafsson, 1963) показали, что количество жизнеспособных мутаций в потомстве ячменя после облучения нейтронами и X-лучами составляет лишь 4 и 5%, а после воздействия окисью этилена и этиленмином соответственно 9 и 20%. В работах с микроорганизмами показано, что химические мутагены, в частности N-нитрозо-N-этилмочевина, на актиномицетах превосходят мутагенные индексы рентгеновых лучей более чем в 500 раз, а ультрафиолетовых лучей - в 150 раз (Бартошевич, 1966). Этиленмин оказался у актиномицетов значительно эффективнее, чем рентгеновые и ультрафиолетовые лучи (Алиханян, Жданова, 1960).

Весь потенциал действия химических мутагенов в настоящее время, разумеется, не реализован, но по результатам многочисленных работ можно уже заключить, что применение химических мутагенов открывает огромные перспективы для селекции. По мнению И.А. Рапопорта (1971), мутагенный эффект супермутагенов в сотни и тысячи раз превосходит мутагенный эффект коротковолновой радиации.

2. Индукцированный мутагенез у гороха

Горох считается одним из наиболее глубоко и давно изученных растительных объектов. Уже в монографии С. Велленсика (Wellensiek, 1925) описано 53 гена гороха.

Первые исследования по экспериментальному мутагенезу у гороха с использованием ионизирующих излучений были начаты в нашей стране в 30-е годы. Уже в вышеупомянутой работе С.Я. Краевого (1935) положительно оценена возможность получения хозяйственно-ценных мутаций в результате облучения. Данные о влиянии рентгеновых лучей на рост и развитие проростков гороха приведены в работе А.И. Атабековой (1936). Т.К. Един (1936) говорит о рентгеномутантах вики и гороха. А.Н. Лутков (1937) изучал выявление факториальных мутаций у гороха после облучения пыльцы.

За рубежом первые опыты по облучению гороха рентгеновыми лучами были проведены И. Расмуссоном (Rasmussen, 1938) и Г. Росеном (Rosen, 1942). В 50-е годы интенсивное изучение мутационных процессов у гороха началось во многих странах, прежде всего в Германии, Швеции и Голландии. В качестве фактора воздействия использовались рентгеновые лучи (Gelin, 1954, 1955, 1956; Gelin, Blixt, 1956; Lamprecht, 1956, 1957a, b, 1958; Blixt, Ehrenberg, Gelin, 1958; Gottschalk, 1960a, b, c, 1961, 1962; Gottschalk, Scheibe, 1960) или нейтроны (Gelin, Ehrenberg, Blixt, 1958; Wellensiek, 1959, 1961; Jones, 1965, Klein, 1969). В Советском Союзе работы по изучению радиочувствительности различных сортов гороха и по получению наследственных изменений в результате их облучения,

особенно расширились в 1960-е годы (Дебелый, 1963; Хангильдин, 1965; Чернов, 1965; Гребенникова, 1969; Преображенская, 1969; Царапкин, Царапкина, 1970). Интересно отметить, что при сравнении радиочувствительности пяти различных сортов гороха, самым радиоустойчивым оказался сорт 'Торсдаг' (Оре, 1965).

В течение довольно длительного времени главным методом получения индуцированных мутаций было облучение. Работы по изучению генетического действия химических факторов на горох особенно распространились в последние десятилетия.

Широкое применение нашел этиленимин. Впервые он испытан на горохе шведскими учеными и вызвал в шесть раз больше мутаций, чем ионизирующие излучения (Vlixt и др., 1960, 1963). Обновательную работу с горохом в течение многих лет провел немецкий ученый Г. Лампрехт. В своих первых работах с химическими мутагенами он также использовал этиленимин (Lamprecht, 1962). Теоретически и практически ценные результаты по изучению мутагенеза гороха после воздействия этиленимином получены в Институте цитологии и генетики СО АН СССР (Шкварников, 1964; Енкен, Сидорова, 1966; Сидорова, 1966, 1969; Сидорова и др., 1969а, б и др.), в Институте химической физики АН СССР (Зоз и др., 1964а; Колотенков и др., 1966; Кожанова и др., 1966), а также в других научных учреждениях (Шарма, 1965а, б, в, 1967; Шарма, Рапопорт, 1965а, б; Ростимский, 1965 и др.). Высокая мутагенная активность этиленимина на ряде сортов гороха и фасоли показана исследователями Всесоюзного научно-исследовательского института зернобобовых культур (Соболев, 1966, 1968 и др.).

Действие этилметансульфоната на горох изучали многие исследователи, из которых прежде всего следует назвать С. Бликста (Blåxt, 1965; Blåxt и др., 1966), В.Б. Енкена, К.К. Сидорову (Енкен, Сидорова, 1964, 1966; Сидорова, 1965, 1971а; Сидорова и др., 1965, 1969а,б). В опытах К.К. Сидоровой, судя по частоте и спектру видимых мутаций, выделенных в M_2 и после проверки наследственного характера изменений в M_3 , наиболее эффективным мутагеном для гороха оказался этилметансульфонат, следовали *N*-нитрозо-*N*-этилмочевина, *N*-нитрозо-*N*-метилмочевина и этиленимин (Сидорова, 1973). Менее эффективными мутагенами, на ее взгляд, по отношению к гороху являются диметилсульфат, гидроксилламин и 1,4-бисдиазоацетилбутан. В сравнительных исследованиях действия диэтилсульфата и этилметансульфоната на горох румынскими учеными обнаружены более широкие спектры хлорофильных и морфологических мутаций под воздействием этилметансульфоната (Piric, 1968). Преимущества этилметансульфоната при получении мутаций у гороха отмечены и в работах чехословацких исследователей (Fierlinger и др., 1966).

Предпочтение диэтилсульфата наблюдается в многочисленных трудах Б. Шарма (Шарма, 1965а,б,в,г, 1966б; Шарма, Колесников, 1965). По мнению Г.А. Дебелого (1966, 1971), диэтилсульфат и диметилсульфат на горохе менее эффективны, чем этилметансульфонат и *N*-нитрозо-*N*-этилмочевина. Нитрозоалкилмочевина использован в работах с сортами зернового гороха (Матвиенко, 1968а, 1971; Колотенков и др., 1966, 1968; Быковец, Васякин, 1971) и овощными сортами (Попова, 1968, 1971; Рыбаков, Балашов, 1971). Повышение всхожести семян томатов, гороха и

редиса под влиянием химических мутагенов отметили С.Г. Долгих и И.И. Тарасенков (1968). У гороха показано стимулирующее действие химических соединений, аналогичных этилен-биснитроуретану (Vogel и др., 1966). Отмечен факт стимуляции роста у гороха во втором поколении при воздействии 1,4-бисдиазоацетилбутаном (Сафин, Зозимович, 1968). После воздействия N-нитрозо-N-этилмочевиной выделены растения с заметно повышенной продуктивностью (Жарикова, 1968).

Доказано, что устойчивости сорта к ионизирующим излучениям и к химическим мутагенам не совпадают (Gelin, Blixt, 1963; Сидорова и др., 1967, 1969а,б). Сравнительное изучение действия излучений и химических мутагенов на горохе проведено многими учеными (Heringa, 1964; Wellensiek, 1964; Ахунд-Заде, 1965, 1966, 1967; Назаров, Егорова, 1969а,б; Хвостова, 1966; Шарма, 1966а,б). В работах Л. Монти (Monti, 1966, 1968) показано, что мутагенная эффективность диэтилсульфата при почти равном уровне выживаемости превосходит мутагенный эффект X-лучей в 3-4 раза. И.И. Тарасенков (1969), используя гамма-лучи, быстрые нейтроны и ряд химических мутагенов, самый широкий спектр изменений получил под действием N-нитрозо-N-этилмочевины и N-метилмочевины. Число типов мутаций составляло соответственно 40 и 44, а при воздействии этиленимином - 23, этилметансульфонатом - 23. Самым эффективным фактором, вызывающим возникновение полезных мутаций у гороха, по мнению автора, является диметилсульфат в концентрации 0,016% и этиленимин в концентрации 0,01 и 0,005%.

Многие работы, касающиеся специальных вопросов индуцированного мутагенеза гороха, будут освещены в соответствующих

главах литературного обзора.

3. Понятие "мутация" и классификация мутаций

Основным методом познания гена является его мутационное изменение. Таким образом, получение мутаций - один из серьезных инструментов генетического анализа.

Изменения живых организмов классифицируются по-разному. Уже после вторичного открытия в начале XX века законов Менделя научились отличать ядерную наследственность от внеядерной - цитоплазматической наследственности. Термин "мутация" впервые был предложен в 1900 г. голландским ботаником Х. Де-Фризом, использовавшим этот термин для обозначения спонтанных наследственных изменений, обнаруженных у Oenothera. Однако в настоящее время "мутация" имеет гораздо более узкий смысл, чем первоначально, и под мутацией понимается стойкое изменение генетических структур организма, передающееся из поколения в поколение.

Мутации различаются по характеру изменений наследственного материала и по результатам этих изменений, т.е. по характеру изменений фенотипа.

Одной из наиболее распространенных классификаций мутаций является разделение всех мутаций на три главных типа: 1) геномные мутации, 2) хромосомные мутации и 3) генные мутации.

Х. Гауль (Gaul, 1961) разделяет все мутации на макро- и микромутации (следует отметить, что первым термин "микромутация" использовал Е. Баур в 1922 г. /Baur, 1922/). Под макромутациями Гауль понимает резкие изменения морфологических и

и хозяйственных признаков. Макромутации, в свою очередь, Гауль разделяет на межвидовые и внутривидовые, отмечая в то же время, что они различимы уже на единичных растениях. Некоторые макромутации затрагивают признаки, имеющие очень важное селекционное значение: раннеспелость, стойкость против грибов, неполегаемость и др. Под микромутациями Гауль в основном имеет в виду изменения в количественных признаках - урожайность, высота растений, величина семян и др. Микромутации он разделяет на явные и скрытые и они различимы лишь в группе растений.

После открытия природы генетического кода в 1961 г. (Ниренберг, 1964; Nirenberg, Leder, 1964; Leder, Nirenberg, 1964) принципы, характеризующие изменения триплетного кода, были разработаны Э. Фризом и Ф. Криком (Freese, 1959a,b; Крик, 1964). Ими было доказано, что любое изменение в генетической записи, осуществляемой чередованием нуклеотидов в молекулах нуклеиновых кислот, должно приводить к мутациям. В своем первоначальном анализе Э. Фриз (Freese, 1959a,b; Freese, E.V., 1961) рассмотрел только такие типы мутаций, которые обуславливаются заменой одного нуклеотида другим. Эти замены могут быть простыми, т.е. типа транзиции или трансверсии. В своих последующих трудах он доказал, что многие химические мутагены обладают в этом отношении специфичностью - одни приводят к заменам типа транзиций, а при действии других, например алкилирующих соединений, возникают главным образом замены типа трансверсий (Фриз, 1962, 1964).

После завершения опытов по выяснению более точной структуры всех кодонов мутации по их функциональным особенностям были разделены на три класса (по Сойферу, 1970) : I) миссенс-

мутации или мутации, изменяющие смысловое значение кодона; 2) нонсенс-мутации, при которых возникает бессмысленный кодон; 3) замены оснований на кодонах, не приводящие к изменению смысла кодонов.

При изучении мутационного процесса в культуре тканей в изменениях фенотипа клетки выявлено три вида мутаций: 1) морфологические мутации, 2) биохимические мутации и 3) мутации резистентности (Варшавер, 1965).

При изучении мутационного процесса пользуются и терминами прямые и обратные мутации. В условном смысле прямые мутации - это мутации, приводящие к изменению дикой формы гена. Обратными называют мутации, которые приводят мутантный фенотип к дикому типу. Когда реверсия к дикому типу наступает за счет мутации в другом гене, такую обратную мутацию называют супрессорной.

Ш. Ауэрбах (Auerbach, 1958) приводит следующую классификацию мутационных изменений:

I. Изменения саморазмножающихся цитоплазматических структур (хлоропласты, некоторые эписомы микроорганизмов).

II. Изменения, затрагивающие ядерный аппарат, в том числе:

- 1) изменение целого геномного набора,
- 2) изменение числа отдельных хромосом,
- 3) разнообразие изменения макроструктуры хромосомы,
- 4) внутригенные изменения.

Подводя итог сказанному о классификации мутаций, следует отметить, что в настоящее время проблемы мутагенеза исследуются на двух уровнях: 1) в генетических системах первого по-

рядка сложности - у микроорганизмов и бактериофагов - на уровне ДНК, 2) в более сложных генетических системах на уровне хромосом. По мнению С.И. Алиханяна (1967), в системах первого порядка сложности мутации возникают в результате:

- а) замена пар оснований в молекуле ДНК;
- б) делений одной пары или группы пар оснований;
- в) вставок одной пары или группы пар оснований;
- г) изменения в соотношениях частей хромосомы.

В системах второго порядка сложности мутации связаны:

- а) с изменениями числа полных наборов хромосом;
- б) с изменениями числа отдельных хромосом в диплоидном наборе;
- в) с изменениями частей хромосом;
- г) с изменениями в соотношении частей хромосом;
- д) с точковыми мутациями.

На основании приведенной классификации можно сделать заключение, что мутацией называется любое изменение в генетическом аппарате клетки.

4. Основные группы мутагенов

Все физические и химические агенты, резко увеличивающие частоту мутаций, называются мутагенами (Гершкович, 1968). В данной главе освещены вопросы, касающиеся действия химических мутагенов.

Химические мутагены - биологически активные химические соединения, вызывающие наследственную изменчивость у живых организмов, классифицированы по-разному. По эффективности их действия самые мощные принято называть супермутагенами. При

воздействии супермутагенами у растений и животных отмечено 100 и больше процентов мутаций (100% - появление 100 мутаций на 100 хромосом дрозофилы) (Рапопорт, 1963). Следует отметить, что большинство супермутагенов открыто в 60-е годы в Институте химической физики АН СССР под руководством И.А. Рапопорта.

В работах Э. Фриза (Фриз, 1964) все химические мутагены разделены на две группы, исходя из состояния ДНК в момент воздействия мутагеном. К первой группе относятся агенты, воздействующие на ДНК только при ее репликации. Первичное действие второй группы направлено на ДНК, находящуюся в состоянии покоя, но для закрепления мутаций и в этой группе может оказаться необходимой ее репликация. Естественно, что в данный момент развития изучения индуцированного мутагенеза, когда действие большей части мутагенов изучено только на уровне организма или клетки, это разделение не применимо для всех случаев.

Более распространены и общеприняты среди исследователей химического мутагенеза являются классификации мутагенов по их структуре и способу действия. Следует отметить две из них. По схеме Г. Рорборна (Rohrborn, 1960) все химические мутагены распределены на 9 классов: 1) алкилирующие вещества, 2) перекиси, 3) альдегиды, 4) гидроксилламин, 5) азотистая кислота, 6) антиболиты, 7) соли тяжелых металлов, 8) основные красители и 9) разнообразные вещества, в основном вещества ароматического ряда - алкалоиды, гербициды, инсектициды.

В. Никифоров (1965) выделил 5 основных групп химических мутагенов:

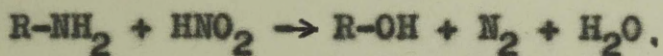
1) ингибиторы предшественников нуклеиновых кислот, 2) аналоги азотистых оснований, включающиеся в нуклеиновые кислоты, 3) алкилирующие соединения, 4) окислители, восстановители и свободные радикалы, 5) акридиновые красители.

I. В группу ингибиторов предшественников нуклеиновых кислот входят соединения, являющиеся структурными аналогами естественных субстратов, которые блокируют активный центр фермента и не дают ему осуществлять свою функцию. Так, 5-аминоурацил, 8-этоксикофеин подавляют синтез тимина; этилкарбамид, кофеин, азасерин - синтез пуринов. Азасерин является в то же время алкилирующим агентом (Хандшумахер, Велч, 1962).

2. Аналоги азотистых оснований включаются в ДНК на места обычных азотистых оснований, содержащихся в молекуле нуклеиновой кислоты. К ним относятся, например, галогенсодержащие аналоги тимина - 5-хлор-, 5-йод- и 5-бромурацил, среди которых наиболее подробно изучено мутагенное действие последнего. В случае кето-формы, изометрически сходной с тимином, 5-бромурацил составляет пару с аденином, а энольная форма - с цитозином (Greene, 1959a). В результате этого происходит и дальнейшая замена пар оснований в ДНК.

3. К классу алкилирующих соединений принадлежит большинство мутагенов, используемых в практике химического мутагенеза. Роль алкильных групп могут играть разнообразные органические радикалы как метил, этил, пропил и т.д. и по числу этих радикалов, способных вступать в реакцию алкилирования, различают моно-, би- и полифункциональные алкилирующие соединения. Так как в данной работе изучено действие разных концентраций N-нитрозо-N-этилмочевины, вопрос о механизме действия алкилирующих соединений более подробно будет освещен ниже.

4. В четвертую группу входят окислители, восстановители и свободные радикалы. Химический механизм действия некоторых соединений, относящихся к этому классу, например азотистой кислоты, довольно хорошо изучен. Сущность реакции окисления нуклеиновой кислоты состоит в окислении аминогруппы до азота:



Основания, возникшие в результате этого дезаминирования, отличаются от исходных по способности образовывать специфические комплементарные пары. Предполагается, что такая замена является причиной многих точечных мутаций. Следует отметить, что не каждая замена оснований при дезаминировании нуклеиновых кислот может привести к мутациям - после дезаминирования гуанина образуется ксантин, который, как и гуанин, составляет комплементарную пару с цитозином. Дезаминирование гуанина дает преимущественно инактивирующий эффект (Freese . 19596; Vielmetter . Schuster . 1960).

Кроме дезаминирования оснований азотистая кислота препятствует расхождению комплементарных нитей ДНК, так как она образует специальные шивки между ними (Geiduschek . 1961).

Действие мутагенов этой группы характеризуется высокой неспецифичностью. Вследствие этого они могут вступать в разнообразные реакции. Многие из этих мутагенов являются естественными метаболитами и в то же время источниками спонтанных мутаций.

5. Акридиновые красители.

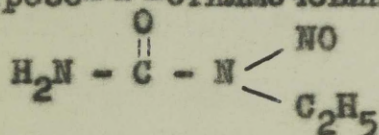
Мутагенное действие акридиновых красителей обуславливается их способностью легко образовывать комплексы с нуклеиновыми кислотами. Рентгеноструктурными и оптическими исследовани-

ями доказано, что молекулы акридина проникают между парами пурин-пиримидиновых оснований, нить ДНК вытягивается и репликация ДНК нарушается. Опытами Крика с сотрудниками доказано, что акридины вызывают мутации, осуществляя вставки или потерю, утрату одной или нескольких пар оснований (Crick и др., 1961).

Акридины способны присоединяться и к фосфатам ДНК.

5. Особенности действия нитрозоалкилмочевин

В данной работе в качестве фактора воздействия использовали N-нитрозо-N-этилмочевину



Ее мутагенное действие, как мы уже отметили, было открыто и всесторонне исследовано И.А. Рапопортом и его сотрудниками (Рапопорт, 19486). По мнению некоторых авторов, мутагенное действие нитрозосоединений обусловлено не самими этими соединениями, а какими-то их дериватами, образуемыми в клетке (Freeze, Freeze, 1966a, ; Сойфер, 1969), скорее всего алкилирующими производными (Schoentel, 1960; Drake - kegeu и др., 1963). В настоящее время широко известно, что нитрозосоединения обладают комбинированным действием. Им свойственно несколько реакций с ДНК, суммарный эффект которых значительно выше теоретически ожидаемого. На возможность получения суммарного эффекта от воздействия нитрозосоединениями и вторичными продуктами их, в частности диазоалканами, указано впервые И.А. Рапопортом (19486). Но нель-

зя провести равенства между механизмами действия диазометана и большой группы производных, образующихся под влиянием N-нитрозоалкилмочевин. При действии диазометана и диазоэтана получено в 2,5 раза меньше мутаций, чем при действии N-нитрозоалкилмочевин (Рапопорт, 1966). Высокое количество мутаций, полученное при изучении мутагенного эффекта N-нитрозометоксиметиламина, вообще неспособного образовывать диазометан в любых условиях, доказывает, что N-нитрозосоединения могут осуществлять свою мутагенную активность независимо от появления диазометана (Рапопорт, 1969).

По-видимому, о нитрозоалкилмочевинах следует говорить, как нитрозосодержащих алкилирующих соединениях, обладающих мутагенным действием, механизм которого может быть различным (Рапопорт, 1966; Veleminsky и др., 1970а).

Экспериментально доказано алкилирующее действие нитрозоалкилмочевин на ДНК и РНК и другими исследователями (Бедняк, 1970; Бедняк, Сизова, 1968; Бедняк, Дружков, 1971).

Возможность взаимодействия нитрозосоединений с компонентами клетки не только по механизму алкилирования, но и путем нитрозирования обеспечивается некоторым средством их по своим полярным группировкам к генному материалу. Предполагается, что нитрозосоединения взаимодействуют непосредственно с гистонами и нуклеиновыми кислотами (Рапопорт, 1962а). В клетке они образуют комплекс с химически инертными веществами и в этом комплексе они проходят через протоплазматические и нуклеоплазматические пространства, чтобы достигнуть прямого контакта с генетическим материалом для вступления в

реакцию с последним. Продукты замещения атома водорода на нитрозогруппу обладают высокой реакционной способностью.

Была высказана мысль (Рапопорт, Домрачева, 1971), что молекулы химических мутагенов в мутагенных реакциях выполняют роль моста между двумя родовыми уровнями состояния: химическим и генетическим. Есть данные о том, что нитрозосоединения понижают поглощение фосфора и тормозят синтез белка. По мнению И.А. Рапопорта (1966), это объясняется блокированием соответствующих ферментов и с этим механизмом связаны: 1) причины прямой гибели клеток и 2) истоки канцерогенеза. Необходимо отметить, что механизм действия нитрозосоединений окончательно не выяснен, но у соединений этой группы четко выражена триада сопутствующих свойств: канцерогенность, канцеролитичность и мутагенность (Рапопорт, 1966; Бартошевич и др., 1966; Домрачева, 1971).

Не вызывает сомнений, что нитрозосоединения являются алкилирующими агентами. Мутагенное действие их связано с алкилированием предшественников или непосредственно самой ДНК. Многие исследования (Бак, Александер, 1963; Росс, 1964; Фриз, 1964; Lawley, 1957a; Reiner, Zamenhof, 1957; Brookes, Lawley, 1961 и др.) посвящены изучению этих процессов. В работах одного из основателей теории химического мутагенеза, Ш. Ауэрбах (Auerbach, Robson, 1947; Auerbach, 1951, 1958 и др.) отмечен ряд специфических особенностей механизма действия алкилирующих соединений.

Местами атаки в нуклеиновых кислотах могут быть фосфатные группы и атомы азота пуринового или пиримидинового колец. Имеются данные, что алкилирующие агенты не реагируют с пен-

тозами нуклеиновых кислот (Stacey и др., 1958; Росс, 1964).

Наиболее широко в отношении как химического действия на ДНК, так и мутагенного эффекта, изучены метилирующие и этилирующие агенты (Alexander , 1952; Alexander , Stacey , 1958; Stacey и др., 1958; Brookes , Lawley , 1960 и др.). Действием этих агентов можно вызвать в ДНК изменения пяти различных типов (Фриз, 1964).

1. Наиболее активно алкилируются фосфатные группы. Образующийся в результате этой реакции фосфорный триэфир нестабилен и обычно гидролизуется, освобождая алкильную группу (Alexander , Stacey , 1958). Если к началу репликации ДНК значительное количество алкильных групп остается связанными, удвоение может быть подавлено. Это приводит к довольно грубым нарушениям.

2. Фосфорный триэфир иногда может гидролизиться, в результате чего нить ДНК оказывается разорванной. Разрыв цепи может индуцировать крупные перестройки. Гидролиз ДНК является наиболее вероятной причиной летальности при алкилировании (Loveless, 1959, Гуманов, 1969 и др.).

3. Алкилируются азотистые основания, главным образом гуанидин (Bautz, Freese, 1960, Reiner , Zamenhof , 1957). Заменгоф показал, что при алкилировании оснований происходит образование соответствующих алкильных производных пуринов и цитозина. Степень алкилирования падает в порядке $N-7$ гуанин $>$ $N-1$ аденин $>$ $N-3$ аденин $>$ $N-1$ цитозин (Lawley, 1957a; Brookes , Lawley , 1960b, 1961). Алкилирование тимина, по-видимому, в биологических экспериментах не учитывается, так как эта реакция осуществляется только в жестких условиях

(при очень высокой рН среды) (Reiner, Zamenhof, 1957, Lawley, 1957a.).

Александр с сотрудниками (Alexander и др., 1958) предполагают, что алкилирование оснований протекает не прямо, а путем переноса алкильной группы от фосфата к основанию. Летт доказал, что такой процесс трансалкилирования характерен не для всех алкилирующих агентов (Lett и др., 1962).

Алкилированное основание может, вероятно, препятствовать репликации ДНК или нарушать принцип комплементарности. Этот тип изменения ДНК обычно приводит к появлению точковых мутаций. Следует отметить, что после некоторых клеточных делений алкильная группа может отщепляться от основания и, оставаясь в ДНК, оно может опять функционировать как нормальное.

4. Депуринизация. Алкилирование пуринов приводит к перестройке электронов в основании, в результате чего азот, связанный сахаром, становится четвертичным, и связь между основанием и углеводом гидролизуеться. Пуриин, таким образом, освобождается (Bautz, Freese, 1960; Lett и др., 1962). Возникший при депуринизации пробел может мешать репликации ДНК или привести к включению несоответствующего основания.

5. Депуринизация может привести к разрыву цепи ДНК, так как в отсутствие основания легче происходит гидролиз сахаро-фосфатной связи. Эта лабильность может быть отнесена за счет присутствия некоторого количества альдегидной формы, в которой гидроксильная группа находится в β -положении к фосфоэфирной связи (Лавлес, 1970).

Следует указать еще на одну реакцию алкилирующих агентов с ДНК, хотя эта реакция, по-видимому, не играет существ-

венной роли в индукции мутаций. Предполагается, что би- и полифункциональные агенты вызывают сшивки молекул ДНК между собой (Росс, 1964; Бак, Александер, 1963). В связи с этим тормозится раскручивание нитей ДНК и их репликация, что препятствует делению клетки. Этой реакцией иногда объясняют тот факт, что именно полифункциональные алкилирующие агенты подавляют рост раковых клеток (Росс, 1964).

В последние годы экспериментами А.М. Серебряного с сотрудниками (Серебряный и др., 1969; Матвиенко, Серебряный, 1969) доказано, что кроме вышеупомянутых механизмов алкилирования и нитрозирования в реакциях между нитрозоалкилмочевинной и ДНК происходит и процесс карбамоилирования, который, может быть, вносит существенный вклад в общую мутагенную активность мутагена.

Среди нитрозоалкилмочевин наиболее активными являются метильные и этильные производные. *N*-нитрозо-*N*-этил- и *N*-нитрозо-*N*-метилмочевины, по-видимому, в настоящее время являются самыми эффективными мутагенами. Полученные И.А. Рапопортом результаты на дрозофиле показали превосходство мутационного индекса этильного производного (Рапопорт, 1962б; 1963). При обработке овсяной фазы возникало свыше 100% мутаций. Ни один из известных химических, а тем более физических факторов не вызвал такой высокой наследственной изменчивости у дрозофилы. При испытании на 145 сельскохозяйственных культурах шести алкилирующих мутагенов установлено, что уровень мутабельности различных культур в среднем был равен 30-50%, причем нитрозоэтилмочевина индуцирует у многих культур до 100% мутантных семей (Зоз, Рапопорт, 1971 и др.). Факт,

что этилирующие агенты обладают большим мутагенным эффектом, чем метилирующие, доказан и работами многих других исследователей (Bautz, Freese, 1960; Loveless, Howarth, 1959; Росс, 1964; Бартошевич, 1966б; Попова, 1968). Надо отметить, что более высокая мутагенная активность этилирующих агентов по сравнению с метилирующими может зависеть от их различной токсичности, поскольку первые могут, обычно, применяться в более высоких дозах, чем метилирующие (Росс, 1964).

Высокий эффект нитрозоалкилсоединений был подтвержден у животных, человека (Раджабли и др., 1966; Керкис, Столбова, 1966; Ostertag, 1968 и др.) и у микроорганизмов (Гуманов и др., 1965; Бартошевич, 1966б; Дачилите, 1969; Максимова, Рапопорт, 1967).

Кроме высокой мутагенной активности нитрозоалкилмочевин обладают рядом ценных качеств, которые придают им особое значение для использования их в селекционных работах.

Нитрозосоединения способны вызвать как точечные мутации, так и хромосомные aberrации с явным преобладанием первых (Зоз, 1966; Хвостова, Тарасенко, 1970). Б. Шарма (1966б, в) обнаружил у гороха в два раза меньше клеток с хромосомными aberrациями при действии N-нитрозо-N-метилмочевин, чем при действии γ -лучей и быстрых нейтронов. Следует отметить, что в некоторых исследованиях при действии нитрозоалкилмочевин наблюдался и довольно высокий процент хромосомных перестроек (Макарова, 1966).

Выход полезных мутаций под влиянием нитрозоалкилмочевин значительно выше, чем при действии других химических мутагенов (Рапопорт, 1966; Зоз, Рапопорт, 1971; Шарма, Колес-

ников, 1965). Из 106 мутантных признаков, полученных в работах Б. Шарма у гороха, около 20 оказались хозяйственно-ценными для селекции.

При воздействии нитрозоалкилмочевинами характерно появление большого количества видимых доминантных мутаций на фоне слабого летального действия (Зоз и др., 1964б; Сальникова, Зоз, 1966), например, в экспериментах Б. Шарма (1965г) с горохом.

В то время как в гомологических рядах диалкилсульфатов, эпоксидов и некоторых других мутагенов мутагенная активность определяется только первыми номерами ряда, N-нитрозо-N-алкилмочевины сохраняют сильную мутагенную активность вплоть до C₆ и выше (Рапопорт, 1966).

Положительным качеством алкильных соединений является и их способность индуцировать новые мутации, которые не образуются спонтанно и под действием облучения (Шарма, 1966в; Fahmy . Fahmy . 1956). В литературе имеются данные, что при экспериментальном получении мутаций новые признаки не возникают (Scholz . Lehmann . 1962 и др.), например, Г. Штуббе (1966) отмечает, что принципиально новые признаки почти никогда не возникают, наблюдаются только все переходы от очень частого до очень редкого мутирования локусов. В свете этого правильнее говорить не о новых мутациях, а о способности алкилирующих соединений вызывать изменения в потенциально редко мутирующих локусах.

Для нитрозоалкилмочевин был обнаружен своеобразный эффект преходящей, но очень сильной активации роста после обработки (Макарова, 1966; Рапопорт, 1968). Это отмечено и на-

ми в данной работе. Предполагается, что этот эффект вызван торможением ряда важных ферментативных реакций, причем накопившиеся промежуточные продукты обуславливают резкую активацию ростовых процессов гораздо выше нормы.

6. Специфичность в индуцированном мутагенезе

Специфичность действия мутагена может быть рассмотрена на разных уровнях: 1) на хромосомном уровне специфичность (региональная специфичность) выявляется в локализации аберраций; 2) межлокусная специфичность проявляется в дифференциальной мутабельности отдельных локусов; 3) внутрилокусная специфичность вызывает изменения в отдельных участках одного локуса и фенотипически они могут быть сходными; 4) последний тип специфичности касается особых фенотипов, имеющих разнообразное генетическое происхождение. Именно этот тип специфичности был доказан при действии алкилирующих агентов на растения.

Впервые проблема специфичности в мутагенезе экспериментально решалась В.В. Сахаровым (1935). Вопрос заключается в том, что при действии мутагенных факторов характер реакции организма зависит от внутренних особенностей его и от специфики воздействия агента.

Сравнивая действие ионизирующих излучений и химических мутагенов можно указать на некоторые наиболее важные различия. Как отмечалось выше, при воздействии химическими мутагенами возникает сравнительно меньше перестроек хромосом, чем при использовании излучений (особенно крупных перестроек и

транслокации /Хвостова и др., 1970; Эйгес, Валева, 1961/).
Химические мутагены с высокой частотой индуцируют появление мозаичных особей, которые при облучении возникают относительно редко (Auerbach, 1946, 1951; Browning, Altenberg, 1961).
Опытами на дрозофиле (Fahmy, Fahmy, 1956) и на растениях (Lundquist, Wettstein, 1962; Mac Kelvie, 1963) доказано, что разные локусы мутируют с разной частотой при физическом и химическом мутагенезе. Среди химических мутагенов один лишь кислород при высоком давлении дает мутагенный эффект, по спектру не отличающийся от эффекта при облучении (Gelin и др., 1959).

В противоположность прежним представлениям о ненаправленности индуцированного мутагенеза многими авторами показано, что химические мутагены отличаются по характеру действия не только от радиации, но и друг от друга. Отсюда и возникает вопрос о специфике действия каждого мутагена и получении направленных мутаций. Впервые стали известны достоверные случаи направленных мутаций у бактерий и грибов (Demerec, Cap, 1952; Křilmarck, 1953; Гуманов и др., 1966) и у фагов (Benzel, 1961; Freeze и др., 1961). Были получены доказательства ген-специфического эффекта ряда химических соединений. С. Бенцер и Э. Фриз составили точную карту мутаций, индуцированных аналогами азотистых оснований, азотистой кислотой и этилметансульфонатом (Benzel, Freeze, 1958). М. Демерецом (Demerec, Cap, 1952) выдвинута гипотеза, что ненаправленных генных мутаций совсем нет, все мутагенные факторы в большей или меньшей степени специфические. Предполагается, что высокая специфичность свойственна мутагенам, взаимодействующим одновременно с двумя или более основаниями (Фриз, 1962).

В исследованиях, проведенных на нейроспоре, было обнаружено, что специфичность мутагенов относительна. К действию определенного агента один ген был устойчив, а другой мутировал в сотни раз чаще (Алиханян, 1961).

Более подробные данные о специфике действия различных мутагенов приведены в работах Х. Смита (Smith, 1961), Ш. Ауэрбах (1966; Auerbach, Westergaard, 1960), Н.Н. Зоз (1966, 1968a), М.Г. Оганесяна (1969), В.К. Щербакова (1972). М.Г. Оганесян, например, отмечает, что специфичность мутагенеза определяется двумя основными процессами: индукцией и проявлением мутаций. Своеобразие индукции определяется свойствами мутагена и генотипической среды организма. Проявление мутаций протекает без участия мутагена и почти целиком определяется генотипической средой организма. По мнению Н.Н. Зоз (1966), специфичность действия мутагенов заключается прежде всего в том, что одни из них при высокой генетической активности в отношении морфологических и других мутаций индуцируют перестройки хромосом, другие же вовсе не вызывают структурных нарушений хромосом. Например 8-этоксикофеин, вызывая разрывы хромосомы, не дает видимых мутаций (Gustafsson, 1960); диэтилсульфат, 1,4-бис-диазоацетилбутан высокоэффективно индуцируют видимые мутации при незначительной частоте перестроек хромосом (Рапопорт, Зоз, 1962). Нитрозоалкилмочевини занимают в этом отношении промежуточное положение, индуцируя с высокой частотой как перестройки хромосом, так и видимые мутации (Зоз, 1968a). К такому выводу в отношении алкилирующих соединений пришли Л. Эренберг с сотр. на основании сопоставления процента стерильности и частоты хлорофильных мутаций,

индуцируемых разными мутагенами, у ячменя (Ehrenberg, 1960). О межлокусной специфичности действия мутагенов можно судить по фенотипическому разнообразию мутантов. Убедительные данные получены при изучении спектров хлорофильных мутаций, индуцированных облучением и воздействием химическими мутагенами. С. Бликст и соавт. (Blixt и др., 1963) отметили, что хлорофильный мутант типа *vasculata* возникает при облучении гороха в два раза чаще, чем при воздействии этиленимином. Этими же исследователями в экспериментах с этиленимином у гороха были получены три очень редких мутанта типа *albina*. Различия в спектре и частоте хлорофильных и морфологических мутаций проявляются и при воздействии различными химическими мутагенами. Используя в качестве критерия фертильность растений M_1 и частоту мутаций в M_2 у твердой пшеницы мутагены можно расположить по возрастанию их эффективности следующим образом: для хлорофильных мутаций - диэтилсульфат, X-лучи, быстрые нейтроны, этилметансульфонат, медленные нейтроны; для морфологических мутаций - X-лучи, диэтилсульфат, этилметансульфонат, быстрые и медленные нейтроны (Vozzini и др., 1970). В опытах К.К. Сидоровой (1968а) самый широкий спектр индуцированных мутантов у гороха отмечен в вариантах с этилметансульфонатом, при воздействии этим мутагеном получено и самое большое количество хозяйственно-ценных мутантов. У зерновых сортов при воздействии этилметансульфонатом выделено 8-9 типов подобных мутантов, при воздействии нитрозоэтилмочевиной - 6 типов, при воздействии другими мутагенами гораздо меньше. Высокая мутагенная активность этилметансульфоната и N-нитрозо- N-этилмочевины отмечена у гороха в трудах Г.А.

Дебелого (1966). П.В. Колотенковым (1968) показана специфичность действия мутагенов на примере двух нитрозосоединений - N-нитрозо-N-метилмочевины и N-нитрозометилпаратолуолсульфамида.

При воздействии алкилмочевинами выявляется довольно высокая частота таких мутаций, которые не возникают при действии других мутагенов, и высокая частота доминантных мутаций, что свидетельствует о чрезвычайно специфическом действии нитроалкильных агентов вообще, а N-нитрозо-N-этилмочевины особенно (Zetterberg, 1961; Marquardt и др., 1963; Зоз, 1966, 1969; Зоз, Макарова, 1964; Мальченко, 1968; Тарасенков, Долгих, 1968б).

Одной из специфических особенностей действия N-нитрозо-N-алкилмочевин является гибель всходов в фазе 3-4 настоящих листочков и в более поздние сроки вегетации. Это явление "отдаленной гибели" отмечено многими учеными - С.И. Макаровой (1966) у пшеницы, Б. Шарма (1965а) и К.К. Сидоровой (1971а) у гороха и др.

В экспериментах И.И. Тарасенкова и С.Г. Долгих частота и спектр как морфологических, так и хлорофильных мутаций у гороха после воздействия нитрозоэтил- и нитрозометилмочевинами оказались наибольшими, сравнительно с воздействием другими мутагенами, число типов мутаций составляло соответственно 40 и 44, а при воздействии этиленмином - 23, этилметансульфонатом - 24.

Как отмечено выше, в опытах К.К. Сидоровой частота и спектр мутаций у гороха оказались наивысшими при воздействии именно этилметансульфонатом. Отсюда и возникает вопрос о спе-

специфичности сорта и объекта. На важность проблемы сортовой специфичности обратили внимание Дж. Мак Кей (Mac Key, 1961) и В.Б. Енкен (1963, 1965а,б, 1966). Чем ближе сорта по своему генотипу, тем больше сходство в характере их мутационной изменчивости, но каждому сорту свойственны определенные черты и возможности фенотипического проявления мутаций. Изучая мутабельность овощных, зерновых и кормовых сортов гороха при воздействии некоторыми мутагенами, были выявлены четкие сортовые различия (Енкен, Сидорова, 1964; Сидорова, 1965, 1966, 1968а; Сидорова и др. 1965, 1966, 1967; Механджиев, Васильева, 1970; Гребенникова, 1971). К.К. Сидорова (1971а) отмечает, что о мутабельности сорта следует судить не только по общей частоте видимых мутаций, но и по частоте хозяйственно-ценных мутаций.

Очевидно, проблема специфичности действия мутагенных факторов должна решаться в связи с проблемой специфичности объекта в мутагенезе.

7. Факторы, модифицирующие действие мутагенов

Эффективность обработки химическими мутагенами зависит не только от характера мутагена и самого объекта, но и от концентрации мутагена, экспозиции воздействия и от целого ряда внешних факторов, модифицирующих результаты воздействия.

Отмечена линейная зависимость между количеством мутаций и дозой (Heiniger и др., 1960; Ehrenberg и др., 1958; Ehrenberg, 1960). Зависимость нарушалась лишь при наивысших концентрациях, когда мутации были, по-видимому, элиминированы в

результате вторичных эффектов.

Исследованиями коллектива Института химической физики АН СССР совместно с научно-исследовательскими, селекционными и другими учреждениями установлены оптимальные концентрации для шести наиболее часто употребляемых мутагенов применительно к 145 сельскохозяйственным культурам (Зоз, Рапопорт, 1971). В табл. I приведены данные об этих концентрациях, причем критерием чувствительности растений к действию мутагенов служила полевая всхожесть семян.

Т а б л и ц а I

Концентрации химических мутагенов (%), вызывающие наибольшее число хозяйственно-ценных мутаций у сельскохозяйственных культур

Мутаген	Чувствительные культуры	Средне-чувствительные культуры	Устойчивые культуры	Оптимальные концентрации
N -нитрозо-N-этилмочевина	0,01	0,012	0,025	0,025; 0,05
	0,012	0,025	0,05	
	0,025	0,05	0,07	
N -нитрозо-N-метилмочевина	0,006	0,01	0,012	0,01; 0,012
	0,01	0,012	0,025	
	0,012	0,025	0,05	
Этиленимин	0,008	0,01	0,02	0,01; 0,02
	0,01	0,02	0,03	
1,4-бис-диазо-ацетилбутан	0,07	0,1	0,2	0,1; 0,2
	0,1	0,2	0,3	
Диэтилсульфат	0,05	0,1	0,2	0,1; 0,2
	0,1	0,2	0,3	
Диметилсульфат	0,016	0,025	0,05	0,016; 0,025
	0,025	0,05	0,07	

Выход мутаций зависит и от длительности воздействия. Химические мутагены при растворении в воде довольно быстро разлагаются на вещества менее активные в генетическом отношении, но часто более токсичные. Опытами у гороха показано (Зоз, Колотенков, 1968; Колотенков, Зоз, 1968), что зависимость полевой всхожести в M_1 и частоты мутаций в M_2 от экспозиции выражена более четко, чем от концентрации *N*-нитрозо-*N*-этилмочевинны. На пшенице доказано (Зоз, 1971а), что с увеличением экспозиции частота мутаций возрастает до определенного уровня (при действии *N*-нитрозо-*N*-этилмочевинны и этиленимина до 12 ч, при *N*-нитрозо-*N*-метилмочевине до 16 ч, а затем снижается. Частота мутаций у одного и того же сорта зависит также от условий обработки. Важным фактором является влажность семян (Ehrenberg и др., 1961; Natarajan и др., 1965).

Естественно, что от степени набухания семян зависит проникновение мутагена. При предварительном замачивании семян частота мутаций во втором поколении после воздействия нитрозоэтилмочевинной увеличилась на 10-20% (Зоз, 1969). С Конзакком с сотр. (Конзак и др., 1964) обнаружено, что предварительное замачивание семян позволяет обеспечить постоянную скорость проникновения мутагена. У семян ячменя влажностью 8% при обработке их этилметансульфонатом количество перестроек хромосом было гораздо выше, чем у семян влажностью 20% (Сяморова, 1970).

В литературе имеются данные о том, что лучшим способом обработки является воздействие раствором мутагена на верхушечные почечки проростков (Тарасенко, 1968, 1971а; Сидорова,

1972). К.К. Сидоровой удалось таким способом получить высокую частоту мутации у сорта гороха, считавшегося ранее низкоmutableм.

И. А. Рапопортом был предложен метод воздействия химическими мутагенами в газовой фазе (1962в, 1965а,б). При изучении мутагенного эффекта уретана на дрософиле установлено, что в газовом состоянии его активность выше, чем в растворе. Работами А.Г. Павловой и Н.Н. Зоз у гороха и пшеницы (Зоз, 1969; Павлова, Зоз, 1971; Павлова, 1971, 1972а,б) показано, что воздействие химическими мутагенами в газовой фазе приводит к значительному снижению частоты стерильных растений по сравнению с применением водных растворов мутагенов.

Метод воздействия в газовой фазе имеет большое прикладное значение, так как позволяет избежать намачивания семян при обработке и расширяет границы применения химических мутагенов (Шведов, Соболев, 1972).

Эффективность действия мутагена определяется и временем и режимом хранения семян после воздействия (Milan, 1960; Динлер, 1971; Зоз, 1969). При хранении семян гороха после обработки их этиленимином наблюдалась волнообразная кинетика перехода потенциальных изменений в истинные мутации хромосом (Корытова, 1971). С Бликстом и соавт. (Blixt и др., 1966) показано, что высушивание и непродолжительное хранение семян гороха после обработки их растворами мутагенов не влияют на частоту мутаций, в то время как длительное хранение снижает выход мутаций.

Установлена взаимосвязь между степенью усиления повреждающего эффекта этиленимина и возрастом обрабатываемых семян

(Протопопова и др., 1969). Предполагается, что клеточные метаболиты, способные усиливать мутагенное действие этиленimina, постепенно исчезают при старении семян.

Во многих работах установлена зависимость мутагенного действия от pH обрабатываемого раствора. Для каждого химического мутагена существуют оптимальные pH раствора (Garret и др., 1965; Wagner и др., 1968; Mikaelson и др., 1968; Vele - m insky и др., 1970a, b ; Zimmermann и др., 1965; Mohan Rao, 1972; Corwin , Namratty , 1972). Для актиномицетов N -нитрозо-N -этилмочевина обладает наивысшей мутагенной активностью в области кислых pH (Гуманов и др., 1965). В модельных экспериментах на свободных основаниях, нуклеотидах и ДНК было обнаружено, что при pH от 4 до 7 проходят реакции дезаминирования и алкилирования оснований, в сильно-кислой среде происходит только дезаминирование (Гуманов, 1969). При воздействии на семена пшеницы N -нитрозо-N -этилмочевинной при pH 5,5 и 7,5 спектр мутаций различается. Частота мутаций оказалась выше при pH 5,5 (Зоз, 1971б). У фагов отмечается прямая зависимость увеличения мутагенного эффекта N -нитрозо-N -метилмочевинны от уменьшения кислотности среды (Кононова и др., 1968).

Немаловажное значение при формировании мутагенного эффекта имеет температурный режим (Шангин-Березовский и др., 1972; Neale , 1972).

Генетическое действие мутагенов модифицируется и рядом других факторов. Доказана важность стадии онтогенеза в момент обработки мутагенами (Питиримова, 1970; Батыгин, Питиримова, 1972; Тарасенко, Родионова, 1971). Наиболее чувствительной в отношении обработки этиленимином у Crepis capillaris оказа-

лась ранняя стадия G₂ (Дубинина, Дубинин, 1970). При обработке этилметансульфонатом проростков ячменя с частичной синхронизацией митозов было обнаружено, что частота и спектр хлорофильных мутаций зависят от стадии клеточного деления -- мутанты типа albina, viridis и striata появились при воздействии мутагеном в начале S-периода, в то время как мутанты типа chlorina возникали при обработке в конце S-фазы (Тарасенко, 1971б). В этом же исследовании удалось повысить частоту мутаций при совместном использовании ростовых веществ и химических мутагенов.

Мутационный процесс оказывается глубоко и специфически связанным с деятельностью сложной системы ферментативных реакций, обеспечивающих жизнь клетки и охраняющих генетические структуры (Дубинин, Соффер, 1970).

Доля полезных мутаций в потомстве колосьев от нормально плодовитых растений в M₁ выше, чем в потомстве растений с пониженной фертильностью (Gaul, 1958).

Спектр мутаций зависит также от условий выращивания растений M₁ (Зоз, 1969; Батнгин, Питиримова, 1969) и M₂ (Суйкова, 1968). При выращивании константных мутантных линий гороха в разных экологических условиях выявлены различия в степени выраженности отдельных мутантных признаков (Сидорова, 1969; Сидорова, Хвостова, 1971).

8. Действие различных факторов на физиолого-биохимические процессы растений M_7 и получение биохимических мутантов

Эффект обработки семян химическими мутагенами обуславливается не только генетическими причинами, большую роль в формировании конечного результата воздействия играют и изменения физиологических процессов объекта.

Каждый организм представляет собой сложную динамическую систему, находящуюся в непрерывном обмене веществ и энергии. У зеленых растений в этом процессе огромная роль принадлежит двум неразрывно связанным сторонам - дыханию и фотосинтезу. Известно относительно мало работ, в которых рассматриваются физиологические процессы у мутантов, полученных в результате химического и радиационного мутагенеза. Интенсивность дыхания мутантов изучена у ячменя (Калам, Майер, 1971), пшеницы (Богданова и др., 1969), кукурузы и огурцов (Концур, 1969), гороха (Матвиенко, 1968б; Ушаков, 1968; Ушаков, Ваз, 1972). Среди работ, посвященных хлорофильным мутантам гороха, следует выделить прежде всего работы Г. Лампрехта (Lamprecht, 1955, 1960с), С. Бликста (Blixt, 1961, 1965), В. Готшалка (Gottschalk, Müller, 1964), К.К. Сидоровой (1966), С.А. Гостимского (1966, 1971). Доказано, что в клетках мутанта гороха меньше ламелл в хлоропластах, чем в клетках нормального растения (Highkin и др., 1969). Известно также, что у мутантов, лишенных хлорофилла α , ламеллы в хлоропластах короткие (300 Å до 1, μ), и, наоборот, в присутствии большого количества хлорофилла α - ламеллы длинные и параллельно расположены (Оси-

пова, 1965). Отсюда следует, что хлорофилл^а обеспечивает определенное расположение ламелл в хлоропластах. Предполагается, что хлорофильные мутанты обусловлены дефицитом железа и, таким образом, аномальную структуру хлоропластов надо считать вторичным эффектом (Богорад и др., 1962). В результате опытов на ячмене К. Уоддингтон (1964) отмечает, что первичный эффект мутации заключается в воздействии на какое-нибудь вещество, от которого зависит конечное образование молекул хлорофилла. Ограничение метаболизма хлорофиллов у высших растений путем нарушения развития пластид иллюстрируется исследованиями на мутантах ячменя *albina-7* и *xantha-23* (Erikson, Kahn, Walles, Wettstein, 1961). Скорость образования порфиринов, в том числе хлорофиллов, зависит от активности соответствующих ферментов, от доступности субстратов и от концентрации ингибирующих соединений (Богорад, 1968). Л. Богорадом с сотрудниками доказано, что торможение образования белка или РНК ингибирует образование хлорофилла (Богорад и др., 1962; Smillie, 1962). В большинстве случаев хлорофильный дефект мутантов связан с генным изменением хромосомного материала. По С. Бликсту (Blixt, 1969) у гороха в терминальном конце хромосомы I имеется группа генов, контролирующая синтез хлорофилла: *chl 16*, *chl 17*, *chl 4*, *chl 3* и др. Большое число генов контролирует формирование пластидных структур. Установлено, что в зависимости от момента блокирования возникает определенный тип хлорофильных мутаций - блокирование в более ранних стадиях приводит к появлению мутанта типа *albina*, в более поздних - типа *xantha* и т.д. (Ветштейн, 1962).

Основным фактором в биосинтезе хлорофилла у покрыто -

семянных является свет. Но следует отметить, что имеются наблюдения об образовании небольшого количества хлорофилла и в полной темноте (Walker, 1964). Ферментативные системы, участвующие в биосинтезе хлорофилла, по-видимому, уже активированы светом и могут функционировать некоторое время после прекращения притока световой энергии (Годиев, 1963). Опытами с хлорофильными мутантами томата показано, что особое значение имеет не общее количество света, а интенсивность его (Sagromsky, 1954). Образование хлорофилла обычно сопровождается распадом части его молекул, и содержание пигмента в растении определяется соотношением скоростей обоих процессов. На табаке доказано, что быстрое разрушение хлорофилла определяется двумя независимо наследующимися доминантными генами W_b и Y_b (Škula, 1969). Изменения этих генов могут привести к мутационной изменчивости содержания хлорофилла. Количество хлорофилла в листьях модифицируется рядом факторов - кислородом (Слободская и др., 1970), азотным питанием (Гукова, Буткевич, 1941), наличием калия (Лукманов, 1969) и др. Зависимость образования хлорофильных мутаций от условий выращивания M_I является общеприродной закономерностью и имеет место при действии облучения и химических мутагенов (Батыгин, Питиримова, 1969). Известно, что содержание хлорофилла находится в зависимости от возраста объекта. Установлена также корреляция между фотосинтетической активностью и интенсивностью дыхания (Smillie, 1962).

Более подробно изучена белковость гороха. Горох, как и другие бобовые растения, содержит много белка во всех частях растения и поэтому является ценной пищевой и кормовой культу-

рой. Количество белка в семенах гороха в зависимости от сорта и условий выращивания составляет 21 - 34%, т.е. в 2-3 раза больше, чем в хлебных злаках (Макашева, Осипова, 1953; Пинеги-на, Клименко, 1959; Заиров, 1963). Белок гороха в значительной своей части растворяется в воде, вследствие чего относительно легко усваивается животными организмами (Макашева, Осипова, 1953). Многими исследованиями выявлено, что в процессе созревания изменяется белковый комплекс семян (Андреева, 1969; Клименко, Ткаченко, 1969; Enăchescu и др., 1959; Beevers и др., 1966 и др.). При уборке в более ранних стадиях, в фазе начала желтения, семена содержат относительно больше общего азота и меньше жира (Родин, 1967). В ходе созревания изменяются и некоторые физико-химические свойства белковых веществ семян - уменьшается показатель преломления, повышается оптическая активность, изоэлектрическая точка передвигается в щелочную сторону (Шеффер, 1967а,б). Этот последний факт объясняется изменением аминокислотного состава белка - при созревании повышается количество аминокислот, обладающих щелочными свойствами (лизин, гистидин). Однако следует отметить, что суммарные белки молочно-возрелого гороха беднее лизином, тирозином и гистидином по сравнению с белками зеленого горошка (Марх, Юрченко, 1965). Очевидно, изменение аминокислотного состава белка имеет волнообразный характер. Этот факт важно учитывать при консервировании зеленого горошка. Изменение количества и качества белка при созревании надо учитывать и при изучении наследования этих признаков - необходим хорошо выровненный по степени зрелости материал при достаточно больших выборках (Бурдун, 1969).

Установлена широкая изменчивость признака белковости внут-

ри рода Pisum (Милов, 1969). В большинстве случаев содержание протеина наследуется плохо (Неклюдов и др., 1970, 1973). Формы, отличающиеся высоким или низким содержанием белка, в большинстве случаев в следующих поколениях имеют потомство, содержание белка которого близко к стандарту данного сорта. На процесс синтеза белка существенное влияние оказывают два взаимосвязанных фактора - температура и влажность. От них зависит и величина урожая и, казалось бы, что содержание белка должно хорошо коррелировать^с продуктивностью. В действительности у гороха существует отрицательная корреляция между урожайностью и содержанием белка в зерне (Бурдун, 1969; Неклюдов и др., 1970), хотя известны и противоположные данные (Бенкен, 1966). В связи с этим особенно следует подчеркнуть большие возможности метода химического мутагенеза. Этим методом Н.А. Соболевым с сотрудниками получены высокобелковые урожайные формы гороха (Соболев, 1968; Соболев и др., 1971а, б; Володин и др., 1971).

Белковость гороха может быть связана с разнообразными факторами. Ряд исследователей связывает высокобелковость с позднеспелостью сортов, окраской семян, с мощностью развития растения, определенными ярусами растения и т.д. В исследованиях, проведенных на Горьковской сельскохозяйственной опытной станции у 144 коллекционерных образцов, ни одна из вышеупомянутых связей не нашла подтверждений (Неклюдов и др., 1970). Можно предположить, что в различных исследованиях могли участвовать и различные другие модифицирующие факторы, но определенную роль играла, безусловно, и сортовая специфичность.

Установлено влияние некоторых микроэлементов на продук-

тивность и качество семян. Бертраном с соавт. (Bertrand и др., 1964) доказана роль цинка. Куржановой (1969) изучена подкормка бором, молибденом и медью, причем существенного влияния на содержание форм азота в зерне не установлено. При воздействии регуляторами роста получены изменения в содержании сырого протеина в зерне (Маркин, 1969); на качество семян оказывают влияние пестициды (Яковлева, 1969). Экспериментально удалось увеличить содержание белка в семенах, облучая растения в фазе бутонизации (Жунусов, 1964). Биохимических исследований хемомутантов гороха нам известно относительно мало. Существенные достижения при изучении и выделении ценных по белковости мутантов гороха получены во Всесоюзном научно-исследовательском институте зернобобовых культур (работы, упомянутые выше) и в Научно-исследовательском институте сельского хозяйства центральных районов нечерноземной зоны (Дебелный и др., 1972; Ли, Бежанидзе, 1973).

9. Использование индуцированного мутагенеза в селекции

Индукцированный мутагенез становится одним из основных методов создания исходного материала для селекции растений. Разработанные генетиками способы искусственного получения мутаций представляют большой интерес для селекции во всем мире (Штуббе, 1966; Густафссон, 1968; Gottschalk, Chen, 1969; Hoffmann, 1959; Sigurbjörnsson, 1969). Обзор новых сортов ячменя, гороха, фасоли и др. культур, полученных путем облу-

чения и обработки химическими мутагенами в Швеции, США, ФРГ и на Яве, приведен Х. Шмальцом (Schmalz, 1962). Обширная библиография по вопросу практической селекции дана Р. Найленом с сотрудниками (Nilan и др., 1964).

Химические мутагены впервые были широко применены в практике шведскими учеными (Ehrenberg и др., 1958, 1959; Gustafsson, 1963; Blixt, 1965; Blixt и др., 1964). Перед селекционерами открылись новые резервы для ускоренного создания высокоурожайных и ценных по качеству сортов. Шведскими авторами был широко использован в качестве экспериментального объекта горох и, по данным С. Бликста (Blixt, 1960), уже в 1960 г. получено свыше 500 мутантов гороха. В результате проведенных ими работ, получен первый мутантный сорт гороха "Строль", превышающий по урожайности многие прежние сорта (Гелин, 1957).

В нашей стране широкое использование метода индуцированного мутагенеза начато с 1956 г. в Институте биологической физики АН СССР по инициативе Н.П. Дубинина (Дубинин и др., 1960, Дубинин, 1965, ^{Дубинин}Щербаков, 1964). В настоящее время центром работ по химической селекции является лаборатория химического мутагенеза растений Института химической физики АН СССР, руководимая И.А. Рапопортом и Н.Н. Зоз (Зоз, 1968б; Рапопорт, 1971). Совместные исследования по химическому мутагенезу проводятся более чем в 200 учреждениях нашей страны, в результате которых в государственное сортоиспытание передан ряд сортов, отличающихся принципиально новыми качествами, например, высоко зимостойкий сорт ячменя, позднеспелый сорт овса, дающий высокий урожай зеленой массы (Краснодарский на-

учно-исследовательский институт сельского хозяйства), светло-лиственный сорт табака (Всесоюзный институт табака и махорки), безалкалоидный сорт люпина (Украинский институт земледелия) и др. (по Рапопорту и др., 1972). Методом экспериментального мутагенеза в Молдавии получена большая коллекция мутантных линий кукурузы, которая заслуживает широкого внедрения и использования в практической селекции (Бляндур, Лысиков, 1970, 1972). По Н.Д. Тарасенко (1973), к 1972 г. было внедрено более 100 новых сортов, созданных на основе искусственных мутаций, в том числе гороха 4.

Х. Гауль (Gaul, 1963, 1965) выделяет следующие методы селекционной работы с мутациями у самоопылителей: 1) непосредственное использование мутантов, 2) скрещивание мутантов:

- а) скрещивание мутантов, полученных от одного и того же сорта или линий;
- б) скрещивание мутантов с другими сортами;
- в) получение мутаций в гибридной популяции как дополнительный источник изменчивости.

Естественно, что получение мутантов в настоящее время при наличии большого набора высокоэффективных мутагенов не представляет больших трудностей. Для селекции растений наиболее ценны генные мутации, так как они в большей степени определяют выход жизнеспособных, интересных в практическом отношении изменений (Gaul, 1958 b). На возможность получения практически ценных форм гороха при помощи индуцированного мутагенеза обратил внимание В. Готшалк (Gottschalk, 1960a, 1963).

В СССР большая работа по получению и выделению мутантов у зернобобовых культур проведена К.К. Сидоровой и Н.А. Собо-

левым с сотрудниками, в трудах которых приведена и основная методика индуцированного мутагенеза у зернобобовых. По мнению Н.А. Соболева (1968), при отборе мутантов целесообразно ограничиться вторым и третьим поколениями — в каждом последующем поколении количество новых мутаций прогрессивно уменьшается. Им предложен и отбор определенных типов мутантов по этапам развития растений. Подчеркивается необходимость получения малых мутаций, улучшающих некоторые свойства и признаки существующих сортов, особенно мутаций, затрагивающих количество и качество белка (Соболев, 1971). На основе закона гомологических рядов надо вести поиск таких мутантов, которые обладают свойствами и признаками, отсутствующими в мировом гено-фенофонде данной культуры. Важное направление в использовании химических мутагенов для практической цели является обработка объектов мутагенами, имеющими четко выраженную специфичность и менее грубое действие (Соболев, 1973).

В Институте цитологии и генетики СО АН СССР методами химической селекции получены мутантные линии гороха, превняющие по продуктивности исходные и широко районированные в нашей стране, например, зерновые сорта гороха 'Торсдаг', 'Рамонский 77' и кормовой сорт 'Фаленский 42' (Сидорова, 1968б, в). В результате многолетних опытов с индуцированными мутантами гороха предложены и основные принципы мутационной селекции (Сидорова, 1971б, 1972).

Мутанты, обладающие скороспелостью, устойчивостью к полеганию, высоким содержанием белка и другими хозяйственно ценными признаками, но уступающие исходному сорту по урожайности, представляют ценный исходный материал для гибридиза-

ции. Скрещивание мутантов с исходными сортами, а также мутантов, выделенных из одного и того же сорта, между собой, часто дает лучшие результаты, чем скрещивание разных сортов. При скрещивании разных сортов наблюдаются очень сложные расщепления. В ряде случаев хорошие результаты дает индивидуальный отбор внутри мутантных линий, выделенных по крупным мутациям, но затем расщепляющихся по малым мутациям.

Работы по индуцированию мутаций показали положительный эффект этого метода в селекционном процессе для устранения отдельных недостатков сорта (Хангильдин, Хангильдин, 1971). Для получения высокобелковых форм гороха среди других методов селекции более эффективным оказался метод химического мутагенеза (Дебелый, 1966, 1971; Дебелый и др., 1972б).

Метод химического мутагенеза нашел широкое использование в селекционной практике, но дальнейшие исследования по усовершенствованию его, разумеется, необходимы.

ЧАСТЬ ВТОРАЯ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Зернобобовые культуры являются высокобелковыми культурами, что определяет их важную роль в решении проблемы растительного белка. Горох — основная зернобобовая культура. Его белки являются полноценными в питательном отношении, их усвояемость человеческим организмом лишь немного ниже усвояемости белков животного происхождения (Федотов, 1960). При индуцированном мутагенезе одной из важнейших проблем является выделение мутантных форм гороха, отличающихся от исходных повышенным содержанием белка в зерне. В то же время горох — генетически хорошо изученная культура (составлена карта генов гороха; рис. I). Хлорофильные мутации, которые составляют группу наиболее легко и объективно определяемых изменений, у гороха относительно хорошо идентифицированы. Кроме того, горох является генетически гомогенным материалом, так как он клейстогамен. В литературе известны очень редкие случаи естественной гибридизации гороха (Tschermak, 1925; Wellensiek, 1959). В индуцированном мутагенезе вероятность перекрестного опыления у гороха меньше 0,5% (Gottschalk, 1964).

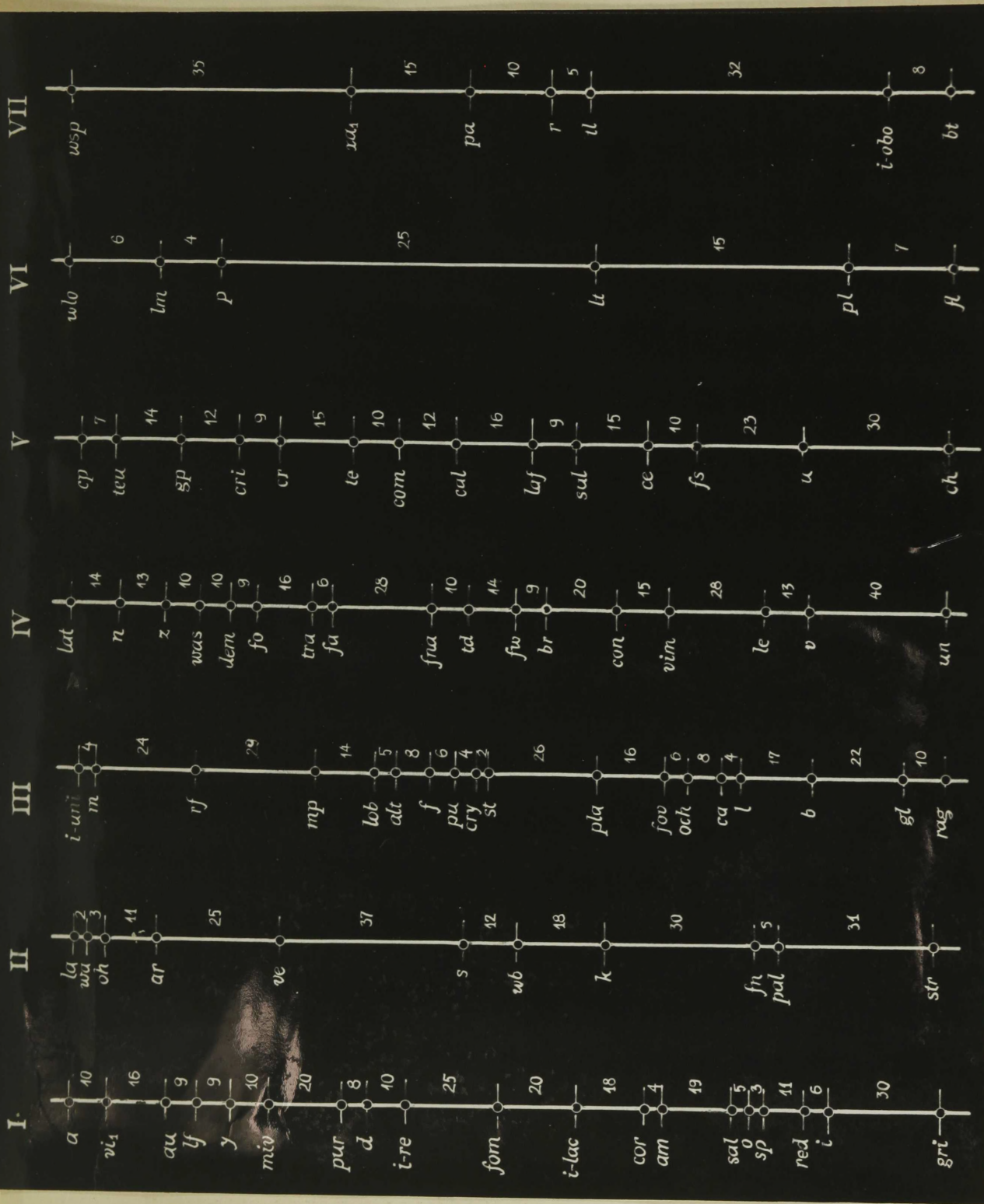


Рис. I. Карта генов гороха

/Lamprecht, 1964b/

Г Л А В А I

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ N-НИТРОЗО-И-ЭТИЛМОЧЕВИНЫ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ГОРОХА И НА РОСТ ПРОРОСТКОВ И КОРЕШКОВ

I. Материал и методика

В качества исходного материала были взяты два сорта зернового гороха - 'Торсдаг III' и 'Кийр'. Семена получены с Йыгеваской селекционной станции Эстонского научно-исследовательского института земледелия и мелиорации (урожай 1966 г.). Сорт 'Торсдаг III' (*Pisum sativum var. vulgatum*) завезен из Швеции. В СССР широко районирован, в Эстонской ССР с 1963 года. Сорт среднеспелый, в наших условиях считается раннеспелым. Засухоустойчивость средняя. Листья с 2-3 парами листочков округло-яйцевидной формы. Бобы прямые или слабо изогнутые с тупым концом. Семена желтоватобелые с гладкой поверхностью. Вес 1000 семян 140-200 г. Развариваемость хорошая. Содержание белка в зерне в среднем 22-26% (Федотов, 1960; Hindsaala, 1964). В некоторых работах по сравнению мутабельности разных сортов гороха сорт 'Торсдаг' оказался наиболее мутабельным (Сидорова и др., 1965).

Местный сорт 'Кийр' (*Pisum sativum var. vulgatum*) иногда относят к разновидности *grandisealium*. Этот перспективный сорт выведен недавно на Йыгеваской селекционной станции при скрещивании местного сорта 'Йыгева Йюд' с финским сортом 'Келлерво' с последующим отбором. Среднеспелый,

засухоустойчивый сорт. Стебель высокий (90-150 см), число междоузлий до первой завязи 10-14. Бобы прямые с тупым концом. Семена зеленоватые круглые с гладкой поверхностью, крупные. Вес 1000 семян 240-320 г. Содержание протеина в семенах 21-27%. Растения сорта 'Кийр' нередко ветвятся. Листочки эллиптические, большие, по 2 (редко 1,5-3) пары на черешке. Сорт 'Кийр' особенно подходит для консервирования, а вследствие высоких урожаев зеленой массы может быть успешно использован в качестве кормовой культуры (Hindcalla, 1967).

Первой задачей данной работы было выяснение подходящих концентраций *N*-нитрозо-*N*-этилмочевины (НЭМ) для проведения полевых опытов. Для этого в лабораторных исследованиях изучали воздействие девяти различных концентраций НЭМ на первые этапы развития растений.

Воздушно-сухие семена суперэлита обрабатывали растворами НЭМ в концентрациях: 1; 2; 3; 5; 6; 8; 10; 20; 40 мМ. Мутаген растворяли в дистиллированной воде. Отношение количества обрабатываемых семян к объему раствора мутагена 1:10. Температура при обработке 18-20°. Время экспозиции 24 ч. После окончания экспозиции семена промывались в течение 1,5 ч водопроводной водой. Контрольные семена находились 24 ч в дистиллированной воде, а затем также промывались в течение 1,5 ч водопроводной водой. Обработанные семена проращивали на фильтровальной бумаге во влажной атмосфере в чашках Петри в течение 48 ч. После этого семена переносили в кристаллизаторы таким образом, чтобы было возможно измерять высоту проростков и длину корешков непосредственно в посуде (рис. 2).

Кристаллизаторы с проростками помещали в лабораторные

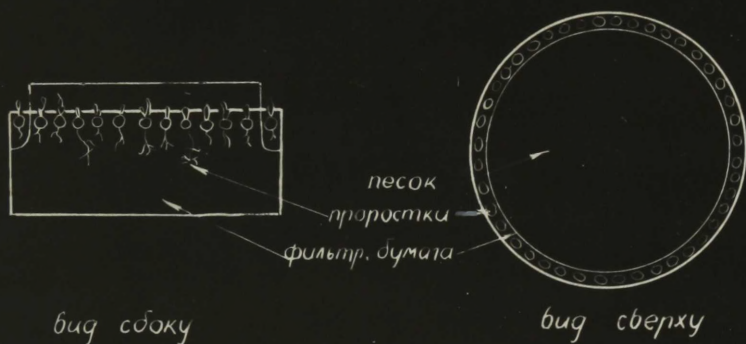


Рис. 2. Схема вырщивания проростков гороха в кристаллизаторах во влажной атмосфере

световые установки при интенсивности света 5 мвт на 1 см^2 листовой пластинки, режим - 16-часовой день, 8-часовая ночь.

За проращением и развитием проростков велись наблюдения в течение 10 дней, учитывался процент проращения семян через 4 дня после обработки и процент выживаемости через 10 дней. В каждом варианте измерялась высота 100-150 проростков и длина корешков через каждые 2 дня.

II Результаты и обсуждение

В течение первых четырех дней семена всех вариантов у обоих сортов развивались относительно равномерно (рис. 3). Семена прорастали даже при высоких концентрациях мутагена, причем длина корешков на 4-й день была у сорта 'Торсдаг III'

6-7 мм, у сорта 'Киёр' 3-4 мм. Только в варианте самой сильной обработки отмечена задержка роста - длина корешков соответственно 3 и 1,5 мм. В ходе дальнейшего роста у растений сорта 'Торсдаг III' отмечено два пика - при 2 мм и 8 мм. Корешки к 8-му дню и проростки к 10-му дню были в 1,5-2 раза длиннее, чем у контрольных растений. У сорта 'Киёр' такого стимуляционного эффекта при воздействии НЭМ не отмечено, и растения в обработанных вариантах росли медленнее, чем растения в контрольном варианте.

Для отражения воздействия НЭМ на темпы ростовых процессов определяли коэффициенты относительного роста - K_1 - корешков, K_2 - проростков, по формуле

$$K = \frac{I_M}{I_K} \quad , \text{ где} \quad (I)$$

K - коэффициенты относительного роста корешков (resp. проростков);

I_M - средняя длина первичного корешка (resp. проростка) в вариантах после обработки НЭМ;

I_K - средняя длина первичного корешка (resp. проростка) в контроле (рис. 3).

По сущности эти коэффициенты совпадают с коэффициентами подавления роста по Н.А. Соболеву и Г.Г. Шведову (1971б).

Известно, что многие химические мутагены обладают так наз. эффектом отдаленной гибели (Макарова, 1966; Шарма, 1966а; Рапопорт, 1965; Сидорова, 1971а). Так и в нашем эксперименте - начиная со второй недели развития растения в вариантах с концентрацией 40, 20 и 10 мМ стали массово гибнуть. На 14-й день количество выживших растений составляло соответст-

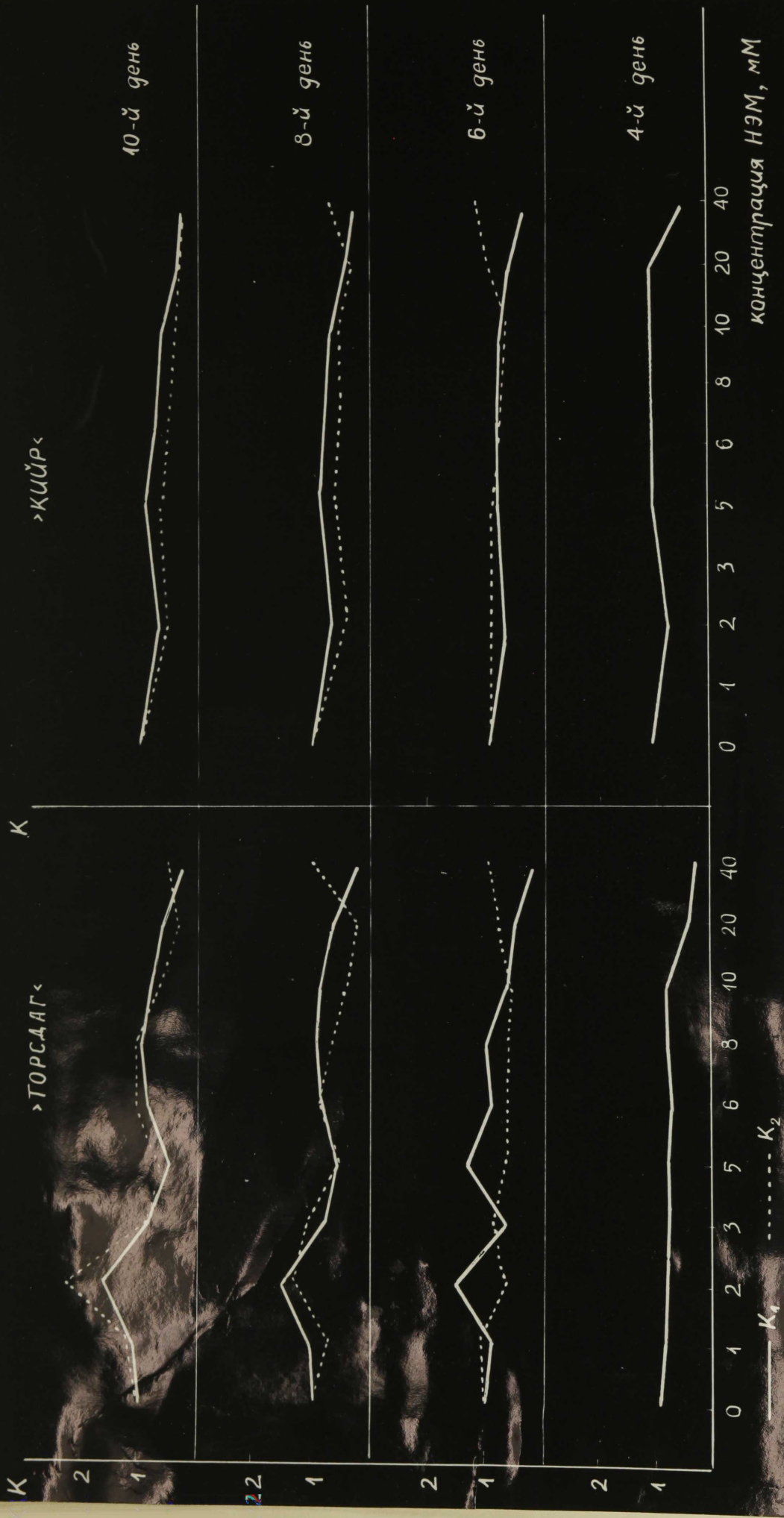


Рис. 3. Коэффициенты относительного роста первичных корешков K_1 и проростков K_2 гороха после воздействия НЭМ

венно у сорта 'Торсдаг III' 20, 42 и 69% и у сорта 'Кийр' 6, 28 и 54% от всеянных семян.

Таким образом, на основании предварительных лабораторных опытов установлены концентрации, необходимые для полевого опыта. С целью установления стимулирующей дозы НЭМ у гороха шкала концентраций в пределах более низких ценностей бралась густая (табл. I).

Г Л А В А II

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ N-НИТРОЗО-N-ЭТИЛМОЧЕВИНЫ НА ЧАСТОТУ И СПЕКТР МУТАЦИЙ У ГОРОХА

I. Материал и методика

Воздушно-сухие семена обрабатывали в соответствии со стандартным методом (Зоз, Макарова, 1964), описанным выше в данной работе. Время экспозиции сократили до 12 ч, так как при более длительной обработке нитрозоалкилмочевинами количество мутаций не увеличивается, а токсичное влияние мутагена за счет продуктов разложения увеличивается (Зоз, 1966). Все семена высевались в поле сразу после промывания, без подсушивания. Использовали общепринятую в селекционных работах агротехнику. Широкорядный посев проводили ручным способом, ширина междурядий 50 см, между растениями в рядке 8 см. Глубина заделки семян 5-6 см.

Так как целью данной работы было выяснение физиологического действия НЭМ, которое, по-видимому, играет большую

Т а б л и ц а I

Схема полевого опыта (1967 г.) *

Концентрация НЭМ, мМ	Количество семян, шт.	
	Торсдаг III	*Кийр*
10	1500	-
8	1500	1500
5	1200	1500
2	1200	1200
1	900	1200
0,5	900	900
0,4	-	900
0,25	900	900
0,1	900	900
Контроль	2000	2000
Всего	11000	11000

* Опыт заложен в 3-4 повторностях.

роль в формировании мутагенного эффекта, в 1968 году повторили опыт с M_I и обрабатывали семена сорта *Торсдаг III* концентрациями, представляющими для нас наибольший интерес, судя по результатам M_I поколения 1967 г., т.е. 0,25; 2,0 и 5,0 мМ.

В M_I , а также следующих поколениях проводились фенологические наблюдения по Руденко (1950), отмечали сроки появления всходов, время цветения и созревания. Чтобы охаракте-

ризовать темп прироста на ранних стадиях развития растений, измеряли высоту растений в течение 2 месяцев через каждые 10 дней. Определяли полевую всхожесть и выживаемость растений. На поле выделяли и подсчитывали растения с хлорофильными нарушениями и морфологическими изменениями, резко уклоняющиеся от исходной формы. После уборки в M_1 и M_2 проводили учет и измерения растений по десяти признакам. Учитывали растения с пониженной фертильностью и стерильные растения. В M_1 учитывали количество измененных растений, в M_2 - частоту мутантных растений и семей.

2. Исследование влияния химических мутагенов на растения M_1

При сравнении действия разных концентраций НЭМ в M_1 было установлено, что некоторые низкие концентрации мутагена увеличивают полевую всхожесть и выживаемость растений (табл. 2). Хотя это увеличение было статистически недостоверным, ясно, что эффект стимуляции следует ожидать именно при использовании относительно слабых доз мутагена.

Резкое снижение полевой всхожести семян и выживаемости растений наблюдалось после обработки семян НЭМ в концентрациях 5 и 8 мМ у сорта "Кийр" и 8 и 10 мМ у сорта "Торсдаг III" (данные в абсолютных цифрах приведены в табл. 3). Следует отметить, что при сравнении изученных двух сортов между собой по результатам выращивания M_1 и по многим другим физиологическим показателям у растений сорта "Кийр" отмечены более резкие отклонения от нормы, чем у растений сорта "Торсдаг III".

Т а б л и ц а 2

Влияние разных концентраций N-нитрозо-N-этил-мочевины на полевую всхожесть и выживаемость гороха в М_I.
% от контроля

Концен- трация, мм	*Торсдаг III*		*Кийр*	
	Всхожесть	Выживаемость	Всхожесть	Выживаемость
0,1	108,7±0,003	109,0±0,003	104,2±0,003	106,1±0,003
0,25	108,9±0,003	112,2±0,003	99,7±0,003	98,2±0,01
0,4	-	-	94,3±0,03	96,0±0,02
0,5	108,0±0,003	108,1±0,003	94,7±0,02	94,0±0,03
1,0	103,0±0,003	103,0±0,003	94,0±0,02	96,5±0,015
2,0	95,9±0,002	100,8±0,003	100,6±0,003	101,0±0,003
5,0	91,0±0,03	90,5±0,03	81,8±0,02	61,5±0,03
8,0	92,8±0,03	64,5±0,05	48,5±0,03	12,0±0,02
10,0	64,2±0,04	48,4±0,04	-	-

Более высокая чувствительность растений сорта *Кийр* к воздействию использованного мутагена наблюдалась и при изучении фертильности растений. Так, у сорта *Кийр* отмечено в 4-5 раз больше стерильных растений, чем у *Торсдаг III* в соответствующих вариантах (табл. 3).

Для характеристики физиологического действия НЭМ измерили и прирост растений. У обоих сортов отмечено заметное количество растений со значительным подавлением роста после обработки семян мутагеном, причем у растений сорта *Кийр* подавление роста было наиболее существенным (табл. 3 и рис. 4).

Таблица 3

Характеристика некоторых физиологических показателей растений гороха в M_1 после обработки семян

N -нитрозо-N -этилмочевиной

Показатель	Сорт	Концентрация НЭМ, мМ								Контроль
		0,1	0,25	0,5	1	2	5	8	10	
Всхожесть, %	*Торсдаг III*	91,3±0,04	91,5±0,05	90,7±0,08	88,0±0,06	82,0±0,12	74,1±0,19	79,4±0,16	55,8±0,26	83,8±0,04
	Кийр	94,6±0,11	90,4±0,08	87,1±0,14	84,9±0,16	90,8±0,19	73,7±0,26	<u>43,0±0,20</u>	-	89,5±0,07
Выживаемость, % от числа вы- сеянных семян	*Торсдаг III*	86,8±0,06	89,3±0,06	85,3±0,10	81,6±0,10	81,2±0,12	70,0±0,20	<u>49,1±0,18</u>	<u>41,1±0,17</u>	79,6±0,04
	Кийр	93,1±0,09	86,3±0,11	83,5±0,14	85,3±0,21	89,0±0,23	<u>53,6±0,19</u>	<u>10,6±0,11</u>	-	87,1±0,06
Частота стерильных растений, %	*Торсдаг III*	0	0	0	0	1,0±0,01	<u>8,2±0,01</u>	<u>11,7±0,01</u>	<u>26,4±0,03</u>	0,2±0,01
	Кийр	0,3±0,02	0	0	0	1,1±0,01	<u>44,7±0,03</u>	<u>56,6±0,07</u>	-	0,3±0,01
Частота растений с сильным подав- ленным ростом, %	*Торсдаг III*	2,4±0,01	1,2±0,01	2,2±0,02	3,4±0,01	10,1±0,02	<u>31,8±0,08</u>	<u>60,1±0,12</u>	<u>63,0±0,21</u>	2,0±0,01
	Кийр	0	0,5±0,01	2,4±0,01	2,4±0,02	3,3±0,01	<u>53,5±0,17</u>	<u>84,2±0,31</u>	-	0,5±0,01

Примечание. Подчеркнутые данные существенно отличаются от контроля (t -тест, $P < 0,01$).

>ТОРСДАГ<

>ЖИЙР<

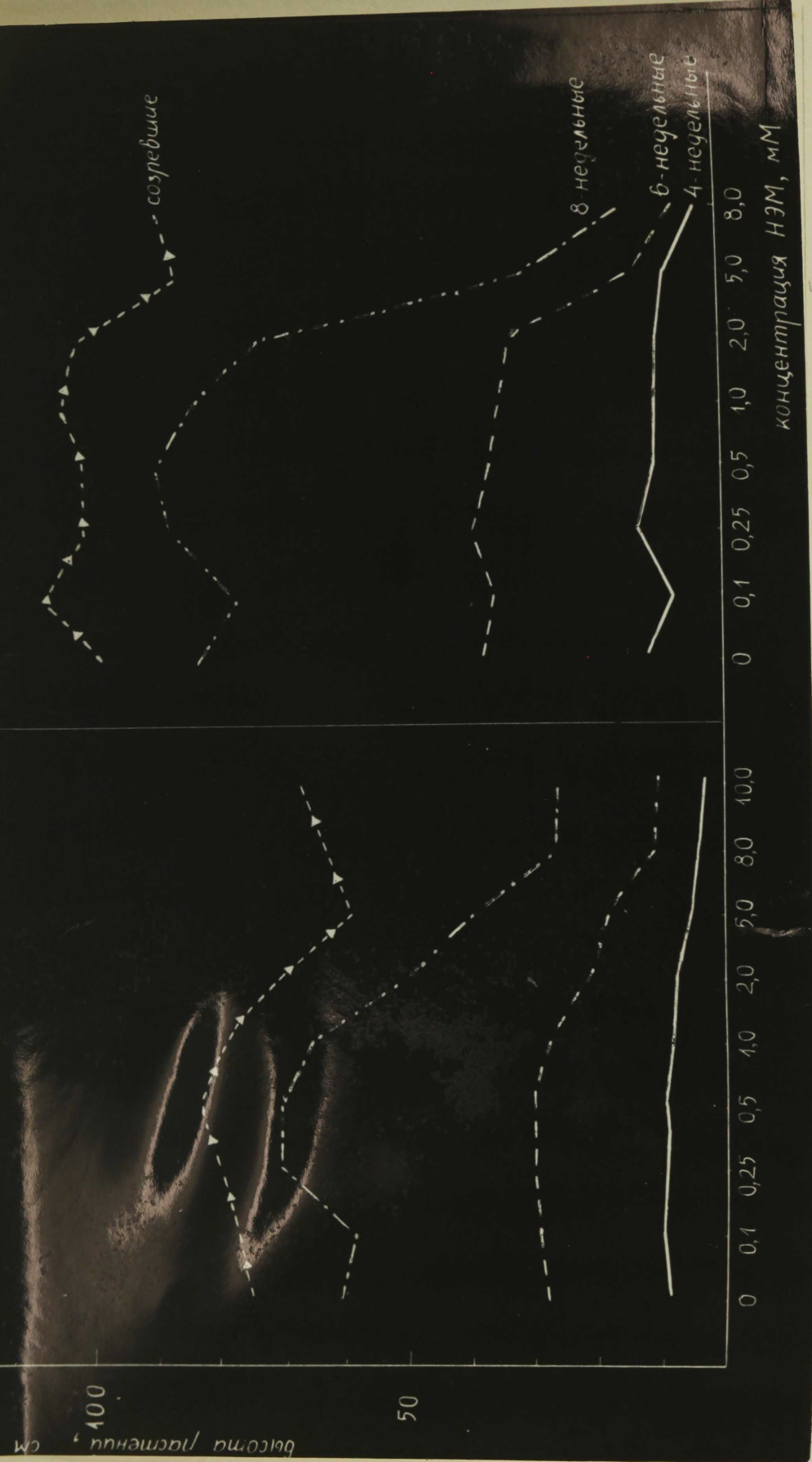


Рис. 4. Рост растений гороха М₁ после воздействия НЭМ

По времени наступления фаз у опотных растений резких отклонений от контроля не обнаружено. Семена, обработанные низкими концентрациями НЭМ (0,1-0,5 мМ), взошли на 2-3 дня раньше контроля, все остальные фазы эти растения проходили на 2-3 дня раньше контроля или в те же сроки. Более сильные дозы (5, 8, 10 мМ) вызвали запаздывание фаз, особенно созревания. Много позднеспелых, а также так называемых вечнозеленых растений, у которых верхушки были зелеными еще 2-3 недели после уборки других растений, наблюдалось у обоих сортов после воздействия концентрацией 5 мМ.

Растения с хлорофильными изменениями в большинстве появлялись при концентрации 8 мМ у обоих сортов (табл. 4). Было обнаружено несколько явных типов хлорофильных нарушений, в частности xantha-формы; все они были летальными и погибли на ранних стадиях развития.

Среди морфологических изменений наблюдалось непарное или асимметричное расположение листочков, морщинистые листовые пластинки, растения с измененными бобами. У многих растений встречалось дихотомное разветвление стебля. Как известно, большинство мутаций, вызванных химическими мутагенами, рецессивные и выявляются в M_2 или в более поздних поколениях. Так и в наших опытах, в M_1 было обнаружено лишь одно растение с резко измененными признаками, которые наследовались в M_2 . Мутантное растение имело короткие междоузлия, зигзагообразный стебель, неправильное расположение листьев и плодоножек, мелкие бобы с измененной формой, пониженную фертильность. Изменения, наблюдавшиеся в M_1 у всех остальных растений, оказались морфозами.

Т а б л и ц а 4

Частота растений с хлорофильными изменениями в M_I
у гороха при воздействии N-нитрозо-N-этилмочевинной (%)

Концентрация, мм	По типам изменений				Всего
	пестро- листные	желтые	мозаич- ные	бледно- зеленые	
0	0/0	0/0	0/0,2	0/0	0/0,2
0,1	0/0	0,6/0	0/0,4	0/0,4	0,6/0,8
0,25	0/0	0/0,3	0/0	0/0	0/0,3
0,4	-/0	-/0	-/1,4	-/0	-/1,4
0,5	0/0	0/0	0/0,3	0/0	0/0,3
1,0	0/0,2	0,6/0	0/1,1	0,5/0	1,1/1,3
2,0	2,6/8,6	0,4/0	0,9/5,9	0/0	3,8/14,5
5,0	23,5/65,9	0,5/0,9	3,1/2,8	0,2/0,1	27,3/69,7
8,0	59,3/81,6	1,1/0	1,0/0,6	0/0	61,4/82,2
10,0	57,3/-	0,8/-	2,2/-	0,2/-	60,5/-

Примечание. В числителе - данные для сорта 'Торсдаг III',
в знаменателе - для сорта 'Кийр'.

3. Частота и спектр мутаций в M_2

В M_2 изучали частоту мутаций и их спектр в зависимости от характера действия мутагена в M_I . Для выращивания M_2 высевали семена следующих вариантов:

1) с применением НЭМ в концентрациях 0,1 и 0,25 мм, т.е. вариантов, в которых было установлено увеличение полевой всхожести семян и выживаемости растений;

2) с применением НЭМ в концентрациях 2 и 5 мМ, т.е. вариантов, в которых установлен самый широкий спектр морфозов в M_1 ;

3) с применением НЭМ в концентрациях 8 и 10 мМ, т.е. вариантов с заметным угнетающим действием.

Посев проводили по семьям.

Для оценки физиологического повреждения в M_2 определяли количество взошедших и выживших растений, а также отмечали стерильные и малофертильные формы и растения с сильным подавлением роста (табл. 5). У обоих сортов названные показатели наименее выражены в варианте с обработкой НЭМ в концентрации 0,25 мМ и наиболее выражены в варианте с обработкой НЭМ в концентрации 5 мМ. При более высоких концентрациях количество поврежденных растений уменьшается, очевидно, в результате высокой степени элиминации измененных растений в первом поколении.

Анализ второго поколения показал, что у обоих испытанных нами сортов самый большой выход хлорофильных мутаций с наиболее широким спектром наблюдается после обработки семян НЭМ в концентрации 5 мМ. При этой концентрации было отмечено у сорта 'Тордаг' 11,0% и у сорта 'Киир' 13,3% семей с хлорофильными нарушениями. Почти во всех вариантах больше всего наблюдалось хлорофильных мутаций типа chloroviridis (Lamprecht, 1960a) (табл. 6).

Среди растений, измененных по морфологическим и физиологическим признакам, отмечены: скороспелые, позднеспелые, стерильные, малофертильные, с торможением роста, измененной формой листочков, измененными краями листочков, морщинистыми листовыми пластинками, неровными парами листочков (первая пара

Характер физиологического действия N-нитрозо- N-этилмочевин в M₂
у сорта 'Торсдаг III'

Концентрация НЭМ, мм	Всхожесть, %		Выживаемость, %		Количество растений, %			с сильным подавлением роста	
	абсол.	от конт- роля	абсол.	от конт- роля	сте- рильных	малофер- тильных	в конце I M-ца вегетации		при уборке
							в конце I M-ца вегетации	при уборке	
Контроль									
0,1									
0,25									
2,0									
5,0									
8,0									
10,0									
'Торсдаг' 'Кийр'	86,8±0,12	100,0	76,8±0,10	100,0	0,39±0,02	0,60±0,05	8,70±0,03	0,30±0,04	
'Торсдаг' 'Кийр'	83,5±0,37	100,0	77,8±0,41	100,0	0	0	5,75±0,03	0	
'Торсдаг' 'Кийр'	79,4±0,30	95,0	73,0±0,38	93,8	0	0	7,40±0,04	0,39±0,02	
'Торсдаг' 'Кийр'	87,3±0,47	100,1	82,4±0,50	107,3	0,20±0,01	0,30±0,02	4,35±0,03	0,26±0,03	
'Торсдаг' 'Кийр'	83,9±0,16	100,1	80,3±0,28	103,2	0	0	5,47±0,05	0	
'Торсдаг' 'Кийр'	74,0±0,51	85,4	63,7±0,62	83,0	1,14±0,02	1,90±0,04	8,00±0,11	2,90±0,10	
'Торсдаг' 'Кийр'	75,3±0,49	90,2	58,9±0,72	75,6	2,95±0,03	2,50±0,03	10,26±0,18	1,25±0,08	
'Торсдаг' 'Кийр'	68,8±0,82	79,5	61,1±1,10	79,5	2,20±0,11	4,80±0,17	10,20±0,32	2,90±0,15	
'Торсдаг' 'Кийр'	59,0±1,12	70,8	56,8±0,81	72,9	6,25±0,18	8,90±0,29	16,65±0,29	1,56±0,14	
'Торсдаг' 'Кийр'	69,5±0,70	80,2	61,5±0,90	82,7	1,64±0,17	3,30±0,32	9,57±0,36	5,90±0,22	
'Торсдаг' 'Кийр'	79,0±1,20	94,7	71,5±1,43	91,9	1,44±0,21	1,80±0,28	13,31±0,62	1,80±0,40	
'Торсдаг' 'Кийр'	75,2±1,80	87,0	69,0±2,80	89,8	1,01±0,08	1,00±0,10	7,30±0,10	4,00±0,28	

Частота появления хлорофильных изменений у гороха в М₂ при
действии N-нитрозо-N-этилмочевины (%)

Концент- рация, мг	Сорт	Частота мутантных семян	Частота мутантных растений	Мутантные растения по отдельным типам													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9					
Контроль	Торседаг	0,5±0,01	0,05±0,01	0	0	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Кийр	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	Торседаг	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Кийр	1,0±0,02	0,54±0,01	0	0	0,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,27	0
0,25	Торседаг	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Кийр	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,0	Торседаг	8,9±0,07	1,85±0,03	0	0,19	1,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Кийр	11,4±0,12	2,38±0,04	0,06	0,48	1,13	0,06	0,24	0,18	0	0,06	0	0,06	0,18	0,06	0,18	0,18
5,0	Торседаг	11,0±0,27	2,10±0,06	0	0,66	1,12	0	0,07	0	0	0,07	0	0,07	0,13	0,07	0,13	0,13
	Кийр	13,3±0,32	5,47±0,20	0,25	1,04	3,18	0,13	0	0,25	0	0,25	0	0,25	0,38	0,25	0,38	0,38
8,0	Торседаг	3,1±0,15	0,51±0,03	0	0	0,51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Кийр	1,8±0,20	0,20±0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,20
10,0	Торседаг	3,5±0,19	0,81±0,07	0	0	0,43	0	0	0,12	0	0,12	0	0,12	0,24	0,12	0,24	0,24
	Кийр	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1 - albina
 2 - xantha
 3 - cloroviridis
 4 - viridelba
 5 - chlorina
 6 - chlorotice
 7 - viridissimus
 8 - marginata
 9 - maculata

очень велика), с асимметричным расположением листочков, с листьями, напоминающими листья клевера, с длинными междоузлиями, короткими междоузлиями, с зигзагообразным стеблем, утолщенным стеблем, сильно разветвляющиеся растения, с длинными плодоножками, добавочными бобами на плодоножке, с двумя плодоножками в узле, плодоножкой и добавочным побегом в узле, с многими побегами на верхушке, с деформированными усиками. Всего обнаружено 24 типа изменений. Самое большое количество измененных растений и самый широкий спектр изменений у обоих сортов наблюдали при концентрации НЭМ 5 мМ (табл. 7).

Для ряда культур, в том числе и гороха, в некоторых исследованиях была установлена корреляция частоты мутаций в M_2 с числом бесхлорофильных пятен на листьях в M_1 (Vlixt, 1965; Vlixt и др., 1958, 1966; Сидорова, 1966). Однако как выяснилось из дальнейших исследований (Мальченко, 1968; Матвиенко, 1968) эта корреляция имеет место далеко не во всех случаях и зависит от мутагена и сорта. В опытах Г.А. Дебелого с сотрудниками (1972а) при обработке семян гороха этиленимином, N -нитрозо- N -метилмочевинной и γ -лучами установлена прямая связь между наличием бесхлорофильных пятен на листьях проростков гороха с частотой мутаций, выявленных в M_2 . В наших опытах корреляция между количеством хлорофильных нарушений в M_1 и частотой мутаций в M_2 при разных концентрациях не наблюдалась. Однако, если сравнить число бесхлорофильных пятен в M_1 с общей мутабельностью сорта в M_2 определенное совпадение имеет место. На основании результатов изучения M_2 следует отметить, что сорт 'Кийр' является более мутабельным (среди растений сорта 'Кийр' было больше измененных растений, чем у сорта

Т а б л и ц а 7

Частота появления измененных форм у гороха в M_2 при действии N-нитрозо-N-этилмочевины (%)

Концент- рация НЭМ, мм	*Торсдаг III*		*Кийр*	
	Частота семей	Частота растений	Частота семей	Частота растений
0,0	12,9±0,24	1,5±0,01	13,3±1,1	1,5±0,04
0,1	-	-	3,3±0,6	0,38±0,02
0,25	16,3±0,27	2,2±0,01	6,6±0,8	0,68±0,03
2,0	52,0±0,28	11,7±0,03	46,6±1,7	12,4±0,14
5,0	52,8±0,35	16,3±0,04	66,6±1,6	18,9±0,21
8,0	51,0±0,50	13,6±0,05	40,0±0,5	7,0±0,10
10,0	44,0±0,50	7,6±0,04	-	-

* В таблице не приводятся хлорофильные мутации.

Торсдаг, а также спектр изменений был шире). Наибольшая частота мутаций в M_2 характерна для таких концентраций НЭМ, которые в M_1 либо оказывали слабое угнетающее действие (5мм), либо не влияли на рост и развитие растений M_1 (2мм). При одной и той же концентрации наблюдался наибольший выход как хлорофильных мутаций, так и морфологических изменений.

4. Частота мутаций в M_3

В M_3 высевали семена, полученные от наиболее интересных форм всех вариантов. Кроме того, по сорту *Торсдаг III* высевались семена всех растений M_2 варианта с обработкой

раствором НЭМ в концентрации 5 мМ, т.е. наиболее эффективного варианта воздействия мутагеном. Посев проводили семьями. Семена в варианте с применением НЭМ в концентрации 5 мМ у сорта "Торсдаг" высевали в трех группах. Группа А представляла собой потомство мутантных растений M_2 , группа Б - потомство нормальных растений от мутантных семей M_2 и В - потомство растений от неизмененных семей M_2 . Сравнение частоты мутаций в разных группах показало, что наибольшее количество мутантных растений, как и следовало ожидать, наблюдалось в первой группе (табл. 8), причем спектр мутаций в этой группе был весьма ограниченным (табл. 9 и 10). Самый широкий спектр мутаций наблюдался среди потомства нормальных растений от мутировавших семей M_2 . Выделенные мутанты классифицированы следующим образом:

Растения с хлорофильными нарушениями

При классификации хлорофильных мутаций использована система Лампрехта (Lamprecht, 1960a). Изменение окраски листьев растений можно разделить на две основные группы - изменения обусловленные генами и соматические изменения (Lamprecht, 1955). К последней группе принадлежат и изменения, обусловленные паразитами или другими внешними факторами. В настоящей работе будут рассматриваться в основном генетически обусловленные изменения окраски. Хлорофильные мутации Лампрехт разделяет на четыре группы. Такое разделение использовано и нами, но при подразделении более сходные группы нами объединены. Например, группа I, к которой относятся мутанты типа chlorohom, у Лампрехта делится на 2I подразделение, в дан-

Таблица 8

Изменчивость растений гороха сорта 'Торсдаг III' в Мз
после обработки семян НЭМ в концентрации 5 мл

Группы	Число высеянных		Частота форм с хлорофильными нарушениями, %		Частота форм с морфологическими изменениями, %		
	линий	семей растений	линий	семей растений	линий	семей растений	
А	28	33	37,0±0,81	43,3±0,85	26,9±0,54	31,0±0,58	11,4±0,32
Б	58	404	58,6±1,78	16,2±0,32	67,2±0,97	20,1±0,25	5,1±0,10
В	108	610	44,4±1,12	14,5±0,30	28,7±0,70	7,4±0,18	1,7±0,05

Т а б л и ц а 9

Частота мутантов в М₃ у гороха сорта 'Торсдаг III' (обработка НЭМ 5 мМ)

Группы	Частота мутантных растений с хлорофильными нарушениями по отдельным типам, %											
	I chlorochem				II chlorodiv				III chloromut		IV chloro- fract	
	I	2	3	4	I	2	3	Всего	I	2	Всего	Всего
А	0	2,23	6,25	0,89	9,37±0,29	0	0	0	0,45	0,89	1,39±0,04	0
Б	0,62	0,52	0,78	0,03	1,95±0,03	0,03	0,07	0,03	0,13±0,01	0,03	1,34±0,01	0,03
В	0,41	1,03	0,45	0,04	1,93±0,07	0,45	0,04	0,02	0,51±0,02	0	0,55±0,01	0

Т а б л и ц а 10

Частота мутантов в M_3 у гороха сорта "Торсдаг III" (обработка НЭМ 5 мМ)

Количество мутантных растений с морфологическими изменениями по отдельным типам, %

V изменения листьев								VI изменения стебли					VII изм. бобов	VIII торможение роста				IX комплексные мутации					
I	2	3	4	5	6	7	всего	I	2	3	4	5	всего	всего	I	2	4	всего	I	2	3	4	всего
0,54	0	0	0	0,54	0	0,54	1,62 ±0,06	0	0	0	0	0	0	0	0,54	3,24	1,09	4,87 ±0,28	0	4,89	0	0	4,89 ±0,32
0,04	0	0	0,22	0,04	0,04	0,07	0,41 ±0,03	0	0,61	0,11	0,04	0	0,76 ±0,04	0	0,61	1,37	0,29	2,27 ±0,19	0,11	0,58	0,83	0,14	1,66 ±0,11
0	0,02	0,02	0	0	0	0,02	0,06 ±0,01	0,02	0,16	0,20	0	0,09	0,47 ±0,03	0,02 ±0,01	0,04	0,51	0,18	0,75 ±0,03	0,04	0,25	0,16	0	0,45 ±0,06

ной работе дается 4 подразделения (табл. 9):

I -- chloroform- мутанты.

Мутанты, принадлежащие к этой группе, окрашены одинаково в течение всего периода жизни, причем хлорофилл распределен равномерно.

I-1 - белые и желтые растения.

Из этого подразделения нами отмечены мутанты типа xantha, одно растение оказалось мутантом типа viridis - этот тип мутанта и по литературным данным у гороха встречается очень редко (Lamprecht, 1952). Вполне естественно, что I-1 мутанты отмечены только у растений Б и В групп, так как все белые и желтые мутанты летальны. Механизм возникновения их полигенный, и ясно доказана возможность их появления в более поздних поколениях.

I-2 - растения с измененной степенью зеленой окраски.

К этой группе принадлежат часто встречающиеся хлорофильные мутанты такие как chlorina, chlorotica, flavoviridis, claroviridis и др. Они имеют разную степень витальности.

Часть их погибает после нескольких недель развития, а большинство характеризуется пониженной жизнеспособностью, замедленным темпом роста и пониженной продуктивностью по сравнению с исходной формой.

I-3 - растения с серым или синим оттенком (glausa, coeruleovirens, argentea и др.).

Таких мутантов нами отмечено относительно много, особенно среди потомства мутантных растений M_2 . Они одинакового или даже более высокого роста по сравнению с контрольными растениями, по жизнеспособности не отличаются от них.

I-4 - оливковые мутанты (olivacea , clarivolivacea).

В некоторой степени они уступают контрольным растениям по жизнеспособности, часть их отличается низким ростом. Кроме того, для многих мутантов этой группы характерно отсутствие воскового налета на листьях. Это и может быть одной из причин более низкого роста мутантов, так как при кутикулярной транспирации растений большое значение имеет нормальный восковой налет. В литературе имеются данные о наличии шести генов, которые определяют формирование типичного воскового налета у гороха (Wellensiek, 1928; Nilsson , 1933; Lamprecht , 1939, 1954; Latta , 1957).

II - chlorodiv-мутанты.

Эти мутанты являются многоцветными в течение всего периода жизни.

II-1 - пятнистые (maculata).

Большинство многоцветных мутаций были пятнистыми, причем главными красками являлись белая и зеленая, т.е. мутанты типа alb-viride - maculata . Хлорофильные мутанты типа II-1 являются так называемыми мраморными кимерами (Lamprecht , Svensson . 1949; Lamprecht , 1960b).

II-2 - с отличающимися по окраске краями листьев (margi-nata).

II-3 - с различной окраской жилки (costata).

Мутанты типов II-2 и II-3 наблюдались очень редко.

III - chloromit -мутанты.

Растения, принадлежащие к этой группе, меняют цвет плавно в ходе развития.

III-1 - virido-emergere мутанты.

Эти растения имеют нормально окрашенные всходы и в течение вегетационного периода приобретают мутантный цвет.

III-2 - aegrote -emergere мутанты.

Эти растения имеют хлорофильные дефекты на всходах и в дальнейшем развитии приобретают нормальный цвет (т.е. vires - senes -мутанты) или другой мутантный цвет. Aegrote - emergere мутантов встречается часто и, очевидно, у всех видов растений при воздействии излучения или химических мутагенов. И в наших исследованиях III-2 мутантов отмечено в несколько десятков раз больше, чем III-1 мутантов.

IV - chlorofrac -мутанты.

Они меняют цвет скачкообразно на определенной стадии развития. Таких мутантов отмечено нами очень мало.

Растения с морфологическими изменениями

Морфологически измененные растения разделены нами на пять основных групп (табл. 10) (в таблице нумерация общая с хлорофильными мутантами).

V - изменения листьев.

Самая многотипная группа изменений.

V-1 - удлиненные листочки.

У исходной формы обоих сортов индекс $\frac{\text{длина}}{\text{ширина}}$ листочка колеблется около 1,5-1,7, а у мутантов этого типа - около 2,4 - 2,6. Края листочков немного волнистые. Прилистники при этом резко зубчатые (рис. 5). По Готшалку (Gottschalk, 1964) в данном случае имеет место влияние двух разных плейотропных

генов.

V-2 - округлые листочки.

У всех известных рас и культурных форм Pisum листочки имеют самую большую ширину ниже середины (ovatus тип). У мутантов типа V-2 листочки перевернуто-яйцевидные, т.е. obovatus -мутанты (по Лампрехту, Lamprecht, 1964a) (рис. 6).

V-3 - листочки с острыми кончиками.

V-4 - удлиненные листочки с вырезкой.

V-5 - воронкообразные листочки. Мутанты этого типа впервые описаны Лампрехтом (Lamprecht, 1945), затем шведскими учеными (Gelin и др., 1959) и называются laciniata -мутантами. Выявляются при наличии соответствующих рецессивных генов в гомозиготном состоянии. Нами отмечены такие формы в M₃ (и в M₄); они стерильны, завязывают несколько мелких бесплодных бобов (рис. 7).

V-6 - первая пара листочков особенно велика.

V-7 - сморщенные листовые пластинки.

VI - изменения стебля

VI-1 - утолщенные стебли.

Растения, имеющие более толстый стебель, могут иметь значение в получении устойчивых к полеганию форм гороха.

VI-2 - искривленные стебли.

VI-3 - волнисто-изогнутые стебли.

Эти два типа мутантов могут иметь только теоретическое значение.

VI-4 - с короткими междоузлиями.

Степень укорочения была разной - как в случае у полукарликов у Гелина (Gelin, 1956) и компактоидов у Бликста с

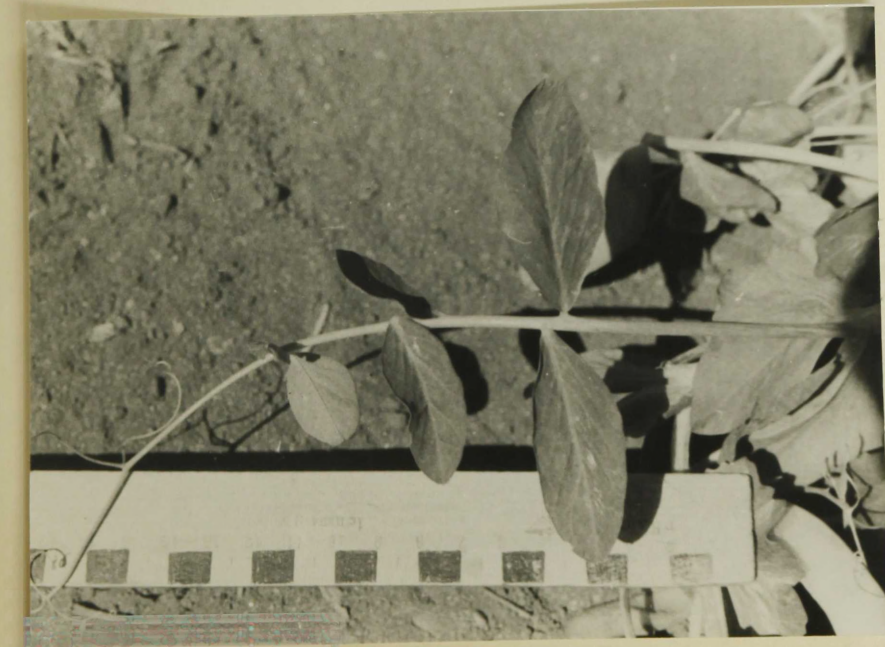


Рис. 5. Лист мутанта с удлинёнными
листочками



Рис. 6. Лист obovatus -мутанта



Рис. 7. Лист laciniata -мутанта

соавторами (Blixt и др., 1958; Gelin и др., 1959) или в случае у micro-мутантов у Расмуссона и Линдквиста (Rasmusson, 1938; Lindquist, 1951) и minutus-мутантов у Лампрехта (Lamprecht, 1957a).

VI-5 - ветвистые. Эта группа мутантов охватывает по литературным данным очень разные типы изменений, доходя от высоких с большой зеленой массой растений до кустистых карликовых форм.

VII - изменения бобов

В данном подразделении находятся растения с явно измененной формой величиной бобов.

VIII - торможение роста

VIII-1 - карлики.

VIII-2 - полукарлики.

VIII-3 - растения с нормально развитыми боковыми побегами при прекращении роста главного побега.

IX - комплексные мутации

Число измененных признаков у одного мутанта может доходить до 10. Р. Найлэн (1967) отмечает, что распространенной особенностью индуцированных мутаций является высокая степень плейотропий. Чаще всего встречается такой характер плейотропии, при котором гены, определяющие какие-нибудь внешние признаки, одновременно вызывают снижение жизнеспособности растения (Монтцинг, 1963). В случае комплексных мутаций большинство измененных признаков отклоняется в отрицательную сторону. У форм, отличающихся от исходного сорта большим комплексом



Рис. 8. Исходная форма 'Торсдаг III'



Рис. 9. Мутант В IX-I

признаков, по-видимому, одновременно мутирует несколько плейотропных генов.

IX-1 - мутанты с укороченными междоузлиями и зигзагообразно утолщенным стеблем.

Неправильно расположены листья и плодоножки, причем растение находится как будто на одном уровне. Рост ниже исходной формы. Растения завязывают много мелких бесплодных бобов с измененной формой или в случае менее ярко выраженных мутантных признаков являются полуфертильными (рис. 9).

IX-2 - растения с горбатой верхушкой и очень близко расположенными большими листьями с неровной поверхностью, создающими как бы розетки. Очень толстый стебель и толстые черешки. Рост карликовый или полукарликовый (рис. 10). Растения имеют низкую фертильность.

IX-3 - растения с изогнутым стеблем, неравными междоузлиями, неправильным расположением и формой листьев, измененной формой бобов. Растения этого типа малофертильны или стерильны.

IX-4 - приземистые, очень ветвистые растения с сильно укороченными междоузлиями (рис. 11). Большинство их стерильны, одиночные экземпляры малофертильны. По данным Сидоровой (1968), судя по гибридологическому анализу мутантов, выявление этого типа растений обусловлено плейотропным действием двух мутантных генов.

Среди потомства измененных растений M_2 других вариантов обработки отмечены те же типы изменений, которые описаны выше. Следует отметить, что степень расщепления мутантов очень высокая и частота нерасщепляющихся семей была в пределах 20% (табл. II). Относительно часто отмечено появление множествен-



Рис. IО. Мутант № IX-2



Рис. II. Мутант № IX-4

ных мутаций, т.е. по несколько мутантных типов в одной семье. По литературным данным, это явление характерно для многих высокоэффективных мутантов, как например этилметансульфонату *N*-нитрозо-*N*-этилмочевине, *N*-нитрозо-*N*-метилмочевине (Сидорова, 1973).

По данным изучения M_3 отмечены сортовые различия в мутировании, что выражается в различных спектрах мутаций у разных сортов. Наблюдалось и неодинаковое соотношение между морфологическими и хлорофильными мутациями. Так, у сорта 'Торсдаг' почти во всех вариантах было относительно равное количество как хлорофильных, так и морфологических изменений. У сорта 'Кийр' в вариантах с применением НЭМ в концентрациях 2 и 5 мМ хлорофильных мутаций было в 2 раза больше, чем морфологических. В варианте с применением НЭМ в концентрации 8 мМ большая доля мутаций приходилась на морфологические (это соотношение было у сорта 'Кийр' 1:3, у сорта 'Торсдаг' 1:1,4) (табл. II).

На основе литературных данных можно сказать, что по таким признакам как форма семян, форма и размер цветка мутации возникают очень редко (Gottschalk, 1964; Сидорова, 1973). В наших исследованиях не отмечено ни одного случая видимого изменения цветка. Среди растений 'Кийр' после воздействия 2мМ раствором НЭМ у одного комплексного мутанта типа IX-2 кроме уже описанных изменений отмечены ярко выраженные различия в форме семян - растения имели угловатые или бобовидные семена.

Кроме описанных выше, нами отмечены мутанты, имеющие более короткий или более длинный вегетационный период. Эти мутанты мы рассмотрим в дальнейшем.

Частота изменений в М₃ в потомстве измененных растений М₂ при воздействии
N -нитрозо-N -этилмочевинной у двух сортов гороха, %

Концентрация, мм	Частота измененных семей		Частота форм с хлорофильными нарушениями				Частота форм с морфологическими изменениями				Частота нераспелых семей	
	Торсдаг	Кийр	семей		растений		семей		растений		Торсдаг	Кийр
			Торсдаг	Кийр	Торсдаг	Кийр	Торсдаг	Кийр	Торсдаг	Кийр		
10	65,1 ±0,82	-	47,8 ±0,67	-	16,4 ±0,52	-	43,5 ±0,70	-	23,9 ±0,51	-	13,0 ±0,51	-
8	65,5 ±0,80	23,0 ±0,43	34,5 ±0,61	7,7 ±0,12	10,8 ±0,24	1,8 ±0,08	48,3 ±0,90	23,1 ±0,40	22,0 ±0,30	5,4 ±0,28	17,2 ±0,70	0
5	50,0 ±0,89	62,5 ±0,61	43,3 ±0,70	62,5 ±0,92	10,7 ±0,33	22,9 ±0,52	31,0 ±0,52	12,5 ±0,56	11,4 ±0,30	14,6 ±0,42	6,7 ±0,52	20,0 ±0,81
2	41,2 ±0,20	39,3 ±0,52	23,5 ±0,30	25,0 ±0,50	7,7 ±0,15	17,2 ±0,30	23,5 ±0,39	21,4 ±0,32	8,1 ±0,12	8,1 ±0,20	8,8 ±0,40	57,1 ±1,12
0,25	0 ±0,33	18,2 ±0,33	0 ±0,10	4,5 ±0,10	0 ±0,01	0,7 ±0,01	0 ±0,15	13,6 ±0,15	0 ±0,08	2,0 ±0,08	0	0
0,1	-	41,7 ±0,29	-	16,7 ±0,49	-	4,8 ±0,10	-	25,0 ±0,30	-	3,6 ±0,10	-	0
контроль	2,2 ±0,01	16,7 ±0,20	2,2 ±0,07	16,7 ±0,52	0,09 ±0,01	0,9 ±0,01	0	0	0	0	0	0

5. Изучение мутантных линий в M₁ и в M₅

В дальнейшем главное наше внимание обращено на сорт 'Торсдаг III', который районирован по всей Эстонии.

В M₄ высевали 68 мутантных линий сорта 'Торсдаг III', которые по какому-то признаку превосходили исходный сорт или представляли теоретический интерес. У сорта 'Киёр' высевали только линии с наиболее явными мутантными признаками (4 линии). Учитывали степень расщепления мутантов и отмечали появление новых мутантных признаков. Из всего количества высеянных линий сорта 'Торсдаг' в M₄ 12 были константными, 37 линий расщеплялось, у них отмечен и ряд новых признаков, у 17 линий видимых мутантных признаков не наблюдали. В M₅ высевали мутантные линии, не расщепляющиеся в M₄ и расщепляющиеся линии с более яркими изменениями, всего 24 линии плюс 3 подлинии:

а) линии с измененной длительностью вегетационного периода -

одна ультраскороспелая (на 10-15 дней) (№ 5-315),*

две скороспелых (на 5-7 дней) (№ 10-306; 10-198);

б) линии с морфологическими мутациями -

две штамбовые (№ 2-229; 5-52),

одна полустамбовая (№ 8-303),

одна карликовая (№ 5-378),

одна карликовая-компактная (№ 5-330),

одна компактная с острыми листочками (№ 5-82),

одна с воронкообразными листочками (№ 5-280),

одна с удлинненными листочками (№ 5-271),

* В нумерации линий первая цифра - обозначает концентрацию НЭМ, при воздействии которой выделена данная линия.

две комплексные типа IX-3 (№ 5-302; 8-174),
одна комплексная типа IX-3, но кустистая (№ 5-306 А),
одна приземистая-ветвистая типа IX-4 (№ 2-272 В),
одна комплексная мутация - растения вялые со скрученными удлинненными листочками (№ 2-272 А);

в) линии с хлорофильными мутациями -

четыре линии типа I-2 - с измененной степенью зеленой окраски (№ 2-359, 2-208, 5-377, 8-168),
три линии типа I-3 - с серым или синим оттенком (№ 2-12, 5-306, 5-356),
одна линия типа I-4 - оливковая (№ 5-22),
одна линия типа III-1 - virido-emergere (№ 5-306 В),
одна линия типа III-2 - aegroto-emergere (№ 5-306 С).

Следует отметить, что оливковые мутанты в более ранних поколениях характеризовались отсутствием воскового налета на листьях и бобах, а растения M₅ имели слабый восковой налет.

г) I линия с ярко выраженными как морфологическими, так и хлорофильными изменениями (№ 10-42).

Эта линия выделена в M₄ как хлорофильный мутант типа I-2 (в данном случае - flavoviridis по Лампрехту) с листочками типа obovatus. Известно, что мутанты flavoviridis могут быть с различной жизнеспособностью и, часто превосходят исходный сорт по какому-то признаку. Так и в данном случае наши мутанты имели крупные семена, и в M₅ эта линия высевалась как крупносемянная, содержащая кроме того увеличенное количество протеина в зерне (см. глава III, 3, б).

По результатам изучения растений M₅ можно заключить, что

скороспелые линии по длительности периода вегетации приближались к контролю, ультраскороспелая линия сохраняла свою ценность. Свои мутантные признаки потеряла и часть линий с морфологическими изменениями (№ 8-174; 5-378; 5-308), 3 линии расщеплялись (№ 2-272 В; 5-330). Линии с хлорофильными нарушениями оказались все константными кроме № 5-306 В - viridosperegere, растения которой сохранили нормальный цвет вегетативных частей до конца вегетации.

6. Мутантные линии, представляющие практический интерес

Среди мутантных линий, выделенных нами после воздействия НЭМ, отмечены шесть линий, которые могут представлять практический интерес для дальнейшей селекционной работы.

1) № 5-315 - ультраскороспелая линия.

Среди растений M_3 в группе В (потомство от неизмененных семей M_2) были выделены 2 раннецветущих растения. Все их потомство в M_4 цвело на 9 дней и созрело на 15 дней раньше контроля. В M_5 поколении названная линия осталась ультраскороспелой и цвела на 7 и созрела на 10 дней раньше исходного сорта. По продуктивности немного уступает исходному сорту.

2) № 10-42 - крупносемянная линия.

Вес 1000 семян 190 г (у исходного сорта 170 г). Хотя по общей продуктивности эта линия остается на уровне исходного сорта, она заслуживает внимания как ценный материал для гибридизации. С этой точки зрения следует отметить и

все ветвящиеся мутанты. Известна высокая ветвящаяся продуктивная форма гороха, полученная К.К. Сидоровой при гибридизации низкого ветвящегося мутанта с исходной формой сорта 'Фаленский 42' (Хвостова, Сидорова, 1972).

3) № 2-229 и № 5-52 - штамбовые линии.

Имея утолщенный стебель, они более устойчивы к полеганию. Расположение бобов способствует механизированной уборке (рис. 12).

4) № 5-330 и № 5-82 - компактные линии.

Имеют утолщенный стебель с укороченными междоузлиями. Ценная особенность их - повышенная устойчивость к полеганию.



Рис. 12. Мутантная линия № 2-229
с штамбовым стеблем

Г Л А В А I I I

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАБОТАННЫХ МУТАГЕНАМИ РАСТЕНИЙ ГОРОХА И МУТАНТОВ

I. Изучение изменений в физиолого-биохимических показателях у растений М₇ после действия м-нитрозо-м-этилмочевинной

Известно, что особенно высокий модифицирующий эффект при выявлении мутаций имеют изменения разных физиологических процессов, происходящих на первых этапах роста и развития организмов. В основе этих процессов у зеленых растений лежат дыхание и фотосинтетическая деятельность.

I) Изучение содержания хлорофилла в листьях

а) Материал и методика

После обработки семян растворами НЭМ (концентрации растворов от 2 до 20 мМ, время экспозиции 24 ч) растения гороха выращивали на световых установках. Содержание хлорофилла определяли в спиртовом экстракте из свежих листьев 6-8-недельных растений по методике Г.Н. Годнева (1963). Анализы хлорофиллов *a* и *b* проводили в смеси при помощи спектрофотометра СФ-10. Максимум поглощения для хлорофилла *a* находится при 663 м μ , для хлорофилла *b* - при 644 м μ .

б) Результаты и обсуждение

На основании результатов, полученных нами в разных вариантах опыта, не удалось установить общих закономерностей в различии по содержанию хлорофилла (табл. 12).

У сорта *Торсдаг III* в вариантах, обработанных низкими дозами НЭМ, наблюдалось некоторое увеличение содержания хлорофиллов по сравнению с контролем, обработка сильными дозами мутагена существенно снижала содержание хлорофилла в листьях. У сорта *Кийр* отмечено во всех вариантах опыта существенное понижение содержания хлорофилла. Отношение хлорофилла a к хлорофиллу b в листьях гороха, по данным Лампрехта (Lamprecht, 1960a), должно быть равным примерно 2,75 : 1. Обработка НЭМ вызывала увеличение отношения хлорофилла a к хлорофиллу b (табл. 12).

Для образования хлорофиллов a и b выдвинуто четыре пути (Годнев, 1963), но в настоящее время представляется наиболее вероятным, что непосредственным предшественником хлорофилла b служит хлорофилл a (или протохлорофиллид a) (Богорад, 1968). Таким образом, можно предполагать угнетающее действие НЭМ на окислительные ферменты, участвующие в процессе превращения хлорофилла a в хлорофилл b .

Весьма важная роль в процессах синтеза зеленых пигментов листа принадлежит дыханию, и следующей нашей задачей явилось изучение активности дыхания растений гороха при воздействии различными концентрациями НЭМ.

Т а б л и ц а 12

Влияние *N*-нитрозо-*N*-этилмочевины на содержание хлорофиллов и соотношение их в листьях гороха (M_I)

Концентрация мутагена, мМ	Содержание хлорофилла, мг/г	Хлорофилл <i>a</i> Хлорофилл <i>b</i>	Содержание хлорофилла, мг/г	Хлорофилл <i>a</i> Хлорофилл <i>b</i>
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
	•Торсдаг III•		•Кийр•	
0	2,56±0,22	2,50±0,11	2,19±0,10	2,46±0,10
2	2,63±0,16	<u>3,18±0,09</u>	<u>1,57±0,10</u>	2,60±0,04
3	2,92±0,21	2,56±0,10	-	-
4	-	-	<u>1,63±0,10</u>	2,39±0,10
6	2,21±0,39	2,68±0,21	-	-
10	<u>2,04±0,46</u>	<u>2,97±0,08</u>	1,78±0,10	2,57±0,05
20	<u>1,78±0,12</u>	2,55±0,10	<u>1,41±0,12</u>	<u>2,80±0,12</u>

Примечание. Выделены данные, существенно отличающиеся от контроля (*t*-тест, $P \leq 0,05$).

2) Изучение активности дыхания проростков и корешков

Дыхание находится в самой основе всего обмена веществ организма. Исключительная роль принадлежит способности живых клеток аккумулировать реализуемую в процессе дыхания свободную энергию субстрата в форме специфических макроэргических соединений типа АТФ. Одним из основных звеньев дыхания является система цитохромов, однако в растительной ткани способ-

ностью переносить электроны на кислород обладает не только цитохромоксидаза, но и ряд других завершающих оксидаз. Известно много химических соединений, являющихся ингибиторами ферментативных систем дыхания, причем установлена ярко выраженная зависимость эффекта различных концентраций одного и того же ингибитора (Рубин, Ладыгина, 1966).

Нами изучалось влияние различных концентраций НЭМ на активность дыхания всходов.

а) Материал и методика

Семена чистопольного сорта 'Торсдаг III' обрабатывались 1, 2, 5, 10, 20 мМ растворами НЭМ в соответствии с общепринятой методикой. Время экспозиции 12 ч. По истечении срока экспозиции семена проращивались на фильтровальной бумаге во влажной атмосфере в чашках Петри. Трехдневные проростки переносили на пропитанную парафином марлю, покрывающую кристаллизаторы с водопроводной водой. Анализы проводили на 8- и 9-дневных проростках и листьях 21-дневных растений. Интенсивность дыхания определяли манометрически в аппаратуре Варбурга по поглощению кислорода (Вознесенский и др., 1965; Семихатова, Чулановская, 1965). В качестве поглотителя выделяющейся углекислоты использовали 10%-ный раствор едкого натрия в количестве примерно в 10 раз больше по сравнению с количеством выделяемой объектом углекислоты. Для увеличения поверхности щелочи во вместилище с щелочью помещали сложенную гармошкой фильтровальную бумагу. Размеры проб составляли приблизительно 0,5 г. Температура при исследовании + 25° С, ^{скорость} взбалтывания сосудов - 110 раз в 1 мин.

Одновременно определяли сырой вес и длину корешков и всходов.

б) Результаты и обсуждение

Обработанные семена прорастали даже при обработке высокими концентрациями мутагена. Только в вариантах с обработкой очень сильной дозой мутагена (10 и 20 мМ) на третий день развития была отмечена пониженная всхожесть. К пятому дню число проросших семян, обработанных высокими дозами мутагена, возросло, следовательно, прорастание семян при таких вариантах обработки, было задержано. Далее картина резко изменилась и к десятому дню много выживших и развивающихся семян погибало (рис. 13).

Во всех опытных вариантах после обработки семян наблюдалось торможение роста растений. Растения, обработанные дозой 2 мМ, характеризовались длинными и тонкими корешками со слабо развитыми боковыми ветвями (рис. 14 и 15).

При изучении дыхания растений гороха было установлено, что поглощение кислорода проростками после обработки семян мутагеном изменяется по сравнению с контрольными. При обработке средними дозами НЭМ во всех проведенных сериях опыта количество поглощенного проростками кислорода показало тенденцию к увеличению (рис. 16).

При сравнении данных по дыханию растений с данными, приведенными на рис. 14, 15 и 16, можно отметить, что при одинаковой или даже увеличенной интенсивности дыхания наблюдается сильное отставание в весе и росте проростков после обработки семян растворами НЭМ.

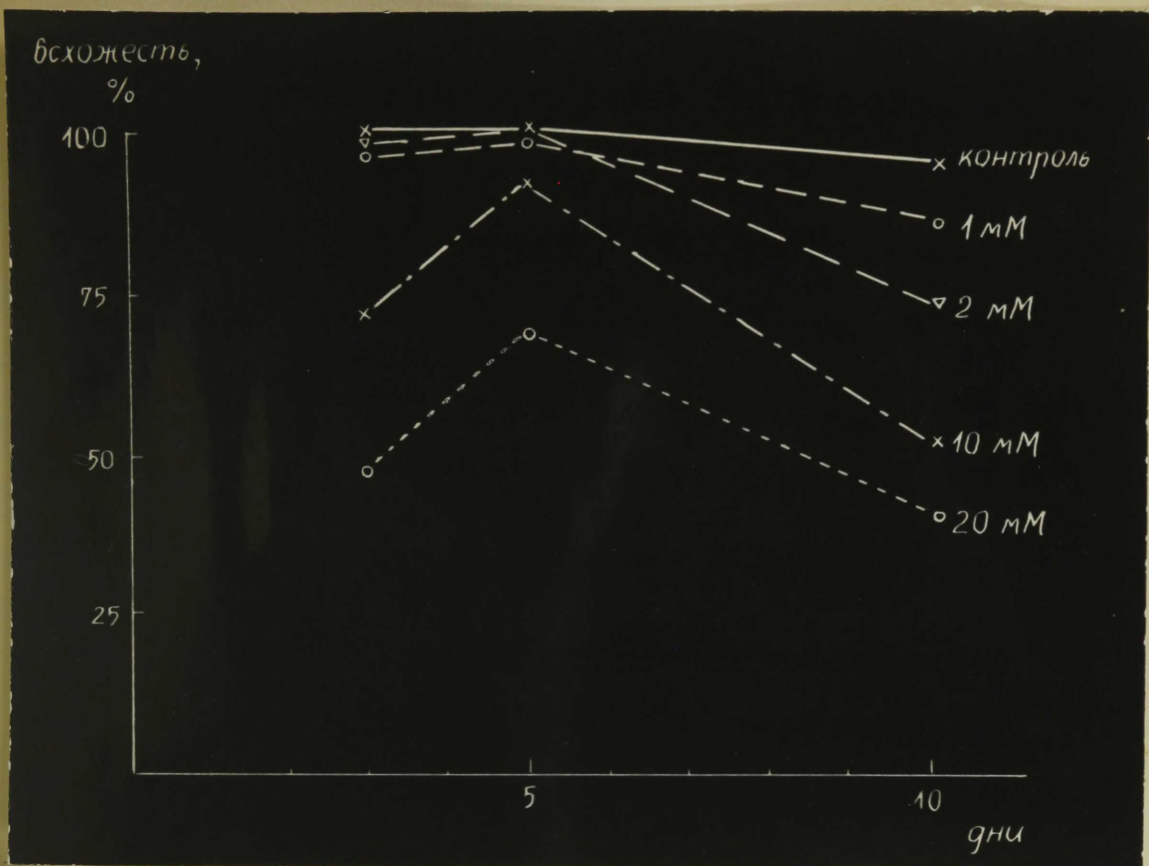


Рис. 13. Влияние разных концентраций НЭМ на прорастание семян гороха

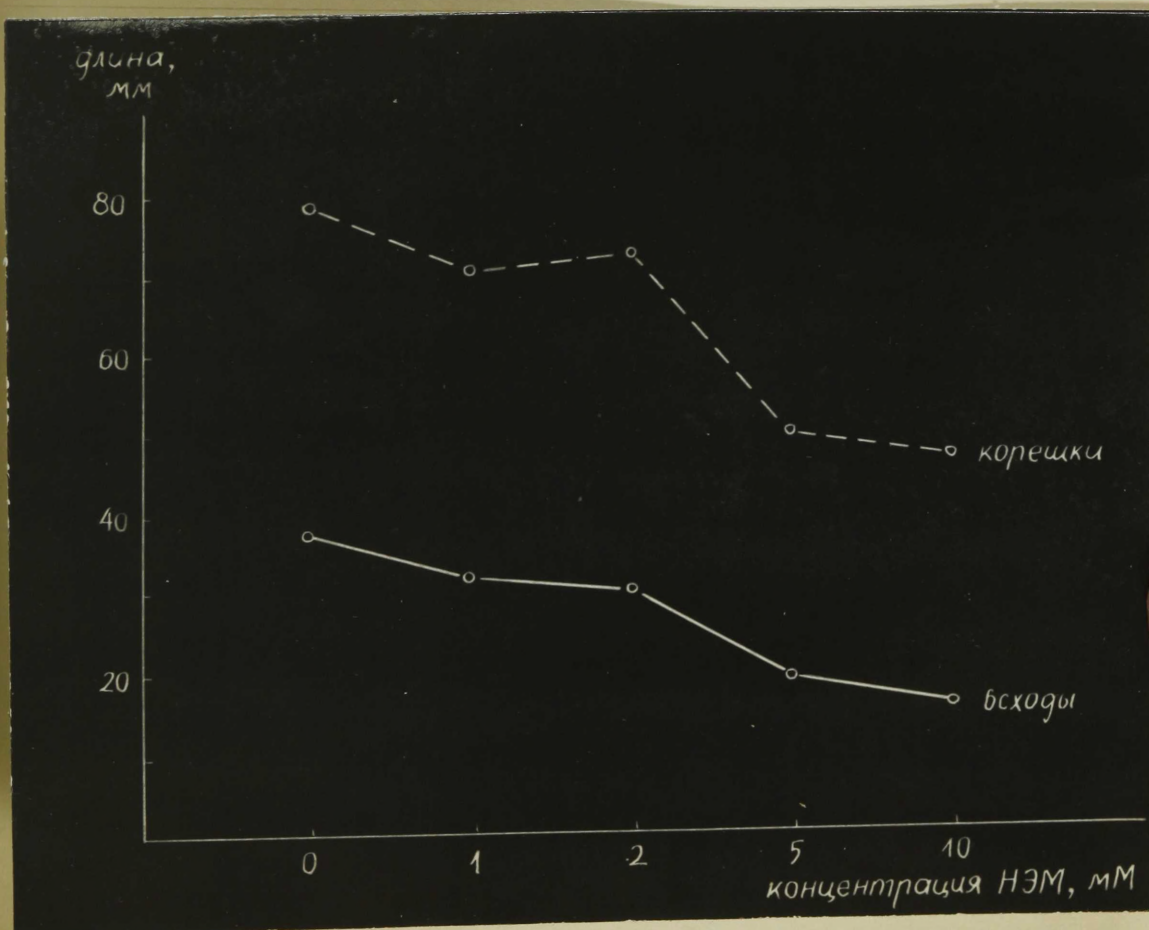


Рис. 14. Влияние разных концентраций НЭМ на рост гороха

Полученные результаты свидетельствуют о значительных затратах метаболических веществ на ускорение процессов дыхания, что сопровождается замедлением темпов роста. Эффективная реализация клеткой энергии дыхания обеспечивается лишь в случае использования ее для синтеза макроэргических связей. Очевидно, при воздействии химическими мутагенами происходит разобщение дыхания с окислительным фосфорилированием, причем включение неорганического фосфата в состав АТФ нарушается, и аккумуляция энергии, освобождающейся в результате дыхания, становится недостаточной.

Возрастание интенсивности дыхания проростков гороха при воздействии мутагеном в средних дозах, отмечено и в других работах. В опытах Л.Н. Матвиенко (1968) при интенсивном поглощении проростками гороха кислорода отмечено повышение концентрации H_2O_2 в тканях, что, очевидно, и является одной из причин отдаленной гибели растений. В.А. Ушаков (1968), изучая окислительно-восстановительный режим проростков гороха после воздействия *N*-нитрозо-*N*-метилмочевинной (НММ), отметил резкое увеличение интенсивности дыхания семядолей. Интенсивность дыхания ростков снизилась, по его мнению, из-за отрицательного влияния уменьшенной цены рН в проростках на активность дыхательных ферментов. Разумеется, механизм действия мутагенов очень сложный, результаты зависят от концентраций мутагенов, от длительности обработки и, безусловно, от различий генотипа сорта в характере биологических процессов.

Анализы дыхания листьев трехнедельных растений показали, что дыхательные процессы с возрастом растения нивелируются (см. рис. 16), но нарушения в отдельных метаболических зве-

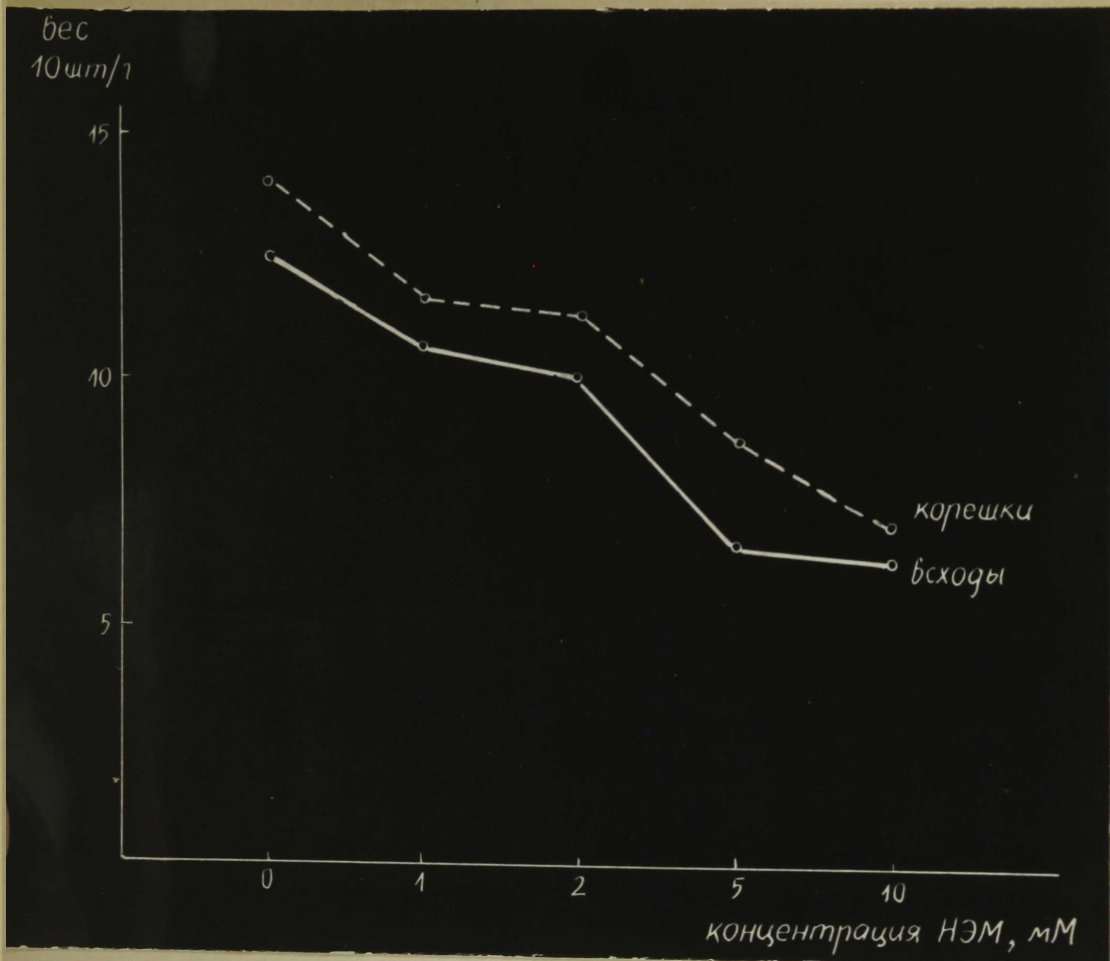


Рис. 15. Влияние разных концентраций НЭМ на вес проростков гороха

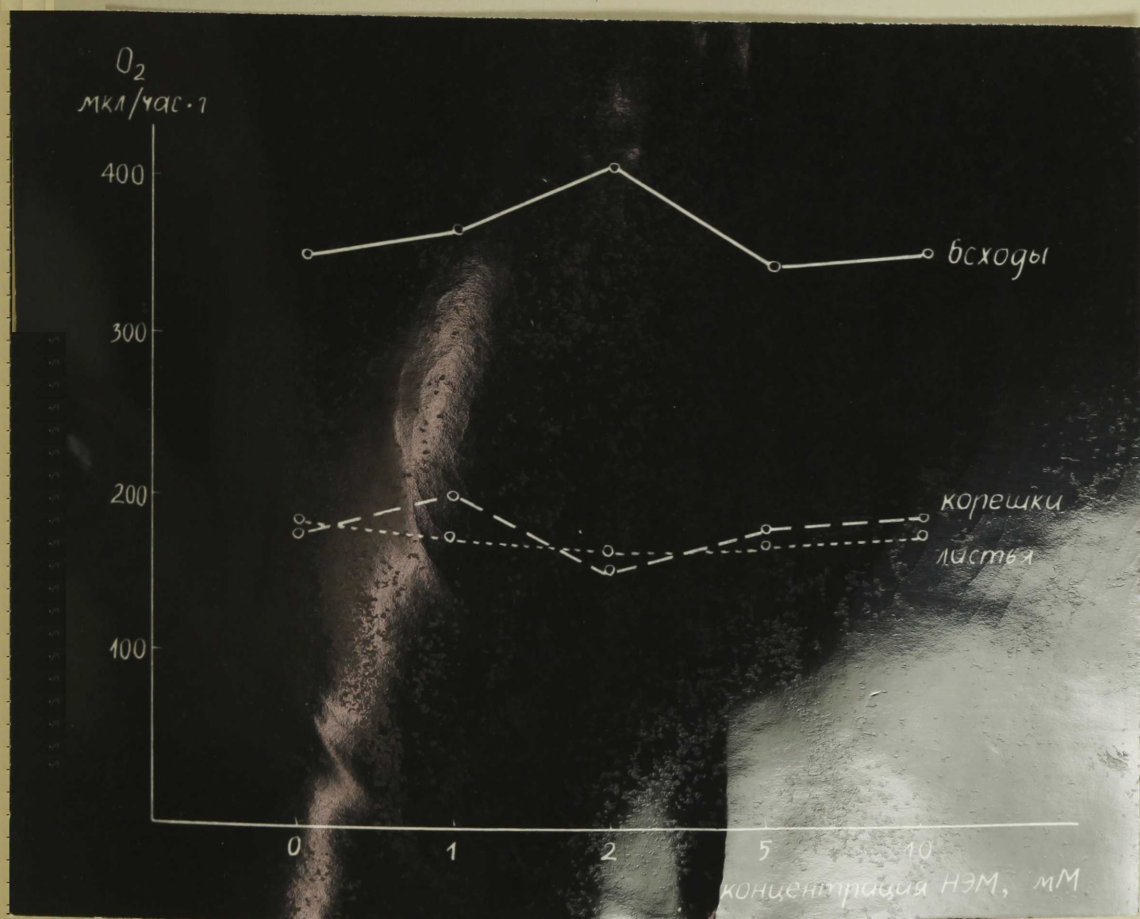


Рис. 16. Интенсивность дыхания растений гороха после обработки семян разными концентрациями НЭМ

ных, происходящие на ранних этапах, очевидно, влияют на весь жизненный процесс. При средних дозах мутагена, при которых отмечено самое большое отклонение интенсивности дыхания от нормы, в M_2 и в следующих поколениях наблюдается наибольший выход мутаций.

II Физиолого-биохимические показатели мутантов

в M_3 и M_4

В области экспериментального мутагенеза при выделении мутантов зернобобовых культур имеются два основных направления. Во-первых, поиск мутантов, отличающихся рядом ценных особенностей - быстрым ростом на ранних этапах развития, прочным стеблем, компактным расположением бобов, крупными семенами и т. д. и, во-вторых, поиск малых мутаций, затрагивающих количественные признаки, а также количество и качество белка (Соболев, 1971).

Начиная с растений M_2 поколения, нами были выделены мутантные формы гороха, явно отличающиеся от исходной формы, а в M_3 и в следующих поколениях изучали их расщепление. Изучение физиолого-биохимических показателей проводили у константных мутантных линий M_3 и M_4 .

I) Изучение содержания хлорофилла в листьях хлорофильных мутантов гороха

В индуцированном мутагенезе растений хлорофильные мутации составляют группу многочисленных и вместе с тем наиболее

легко и объективно определяемых изменений. Изменение окраски вегетативных частей растений может быть обусловлено как генетическими факторами, так и модификациями. По результатам изучения мейоза у 10 линий хлорофильных мутантов гороха С.А. Гостимский (1971) заключает, что в большинстве случаев хлорофильный дефект связан с генными изменениями хромосомного материала.

а) Материал исследований

Анализы по содержанию хлорофилла в листьях проводили по методике, описанной выше (см. стр. 80); объектом служили хлорофильные мутанты М₃ и М₄. Определялось общее содержание хлорофиллов (табл. 13).

Пигментное содержание различных хлорофильных мутантов характеризовали полученные при помощи спектрофотографа СФ-10 кривые оптической плотности спиртовых растворов исследуемого материала. Для приготовления растворов брали одинаковые навески (400 мг) свежего растительного материала и доводили растворы до одинаковой емкости (40 мл). На рис. 17 и 18 приведены усредненные кривые оптической плотности для основных типов хлорофильных мутантов.

Для изучения наследуемости пигментного состава листьев определяли содержание хлорофиллов у пяти константных мутантных линий. Анализы проводили в листьях растений одинакового возраста двух последующих поколений.

б) Результаты и обсуждение

Полученные результаты совпадают с имеющимися в литера-

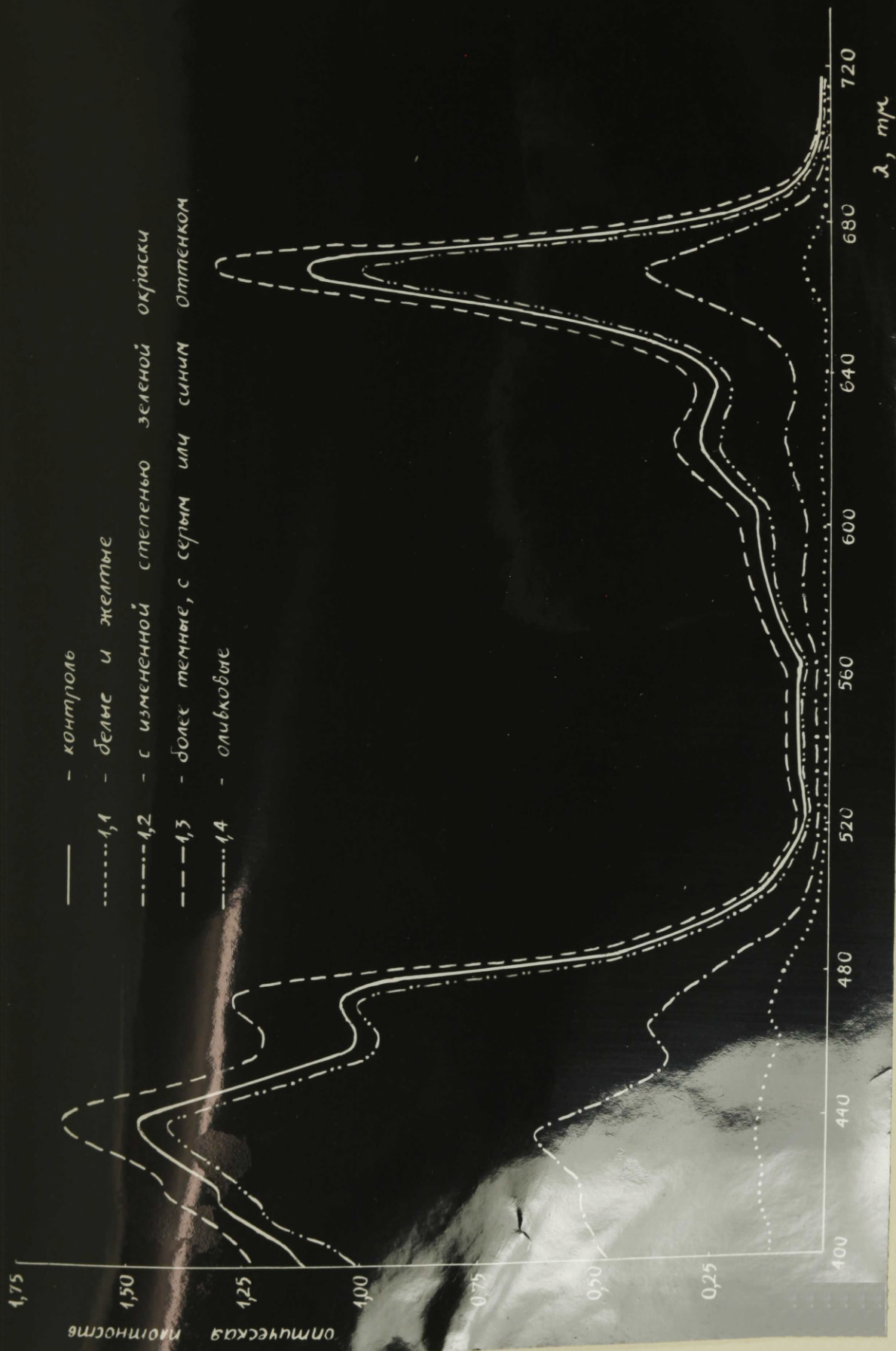


Рис. 17. График оптической плотности растворов хлорофилла для основных типов хлорофильных мутантов у сорга 'Торсдаг III'.

Т а б л и ц а 13

Содержание хлорофилла в листьях растений гороха
после обработки N -нитрозо-N -этилмочевиной (M₃, M₄)

Мутанты	M ₃		M ₄	
	I	II	I	II
		Кишр		
Белые и желтые (I-1)	0,33±0,02	4,27±0,32	-	-
С измененной степенью зеленой окраски (I-2)	-	-	1,39±0,08	3,06±0,12
С серым или синим оттенком, более темные (I-3)	1,85±0,08	2,56±0,14	1,66±0,09	2,71±0,10
Оливковые (I-4)	1,07±0,02	2,98±0,17	1,48±0,04	2,99±0,10
Контрольные растения	1,44±0,05	2,52±0,11	1,55±0,04	3,04±0,08
		Торсдаг III		
Белые и желтые (I-1)	0,36±0,02	6,30±0,41	0,10±0,01	2,61±0,17
С измененной степенью зеленой окраски (I-2)	0,98±0,07	3,24±0,20	0,85±0,05	3,55±0,24
С серым или синим оттенком, более темные (I-3)	2,23±0,11	3,03±0,18	1,82±0,10	2,72±0,12
Оливковые (I-4)	2,05±0,14	2,98±0,18	2,01±0,12	3,79±0,26
Контрольные растения	1,65±0,06	3,04±0,15	1,60±0,09	3,55±0,14

Примечание. I - содержание хлорофилла в мг/г сырого веса;
II - отношение хлорофилла α к хлорофиллу β .

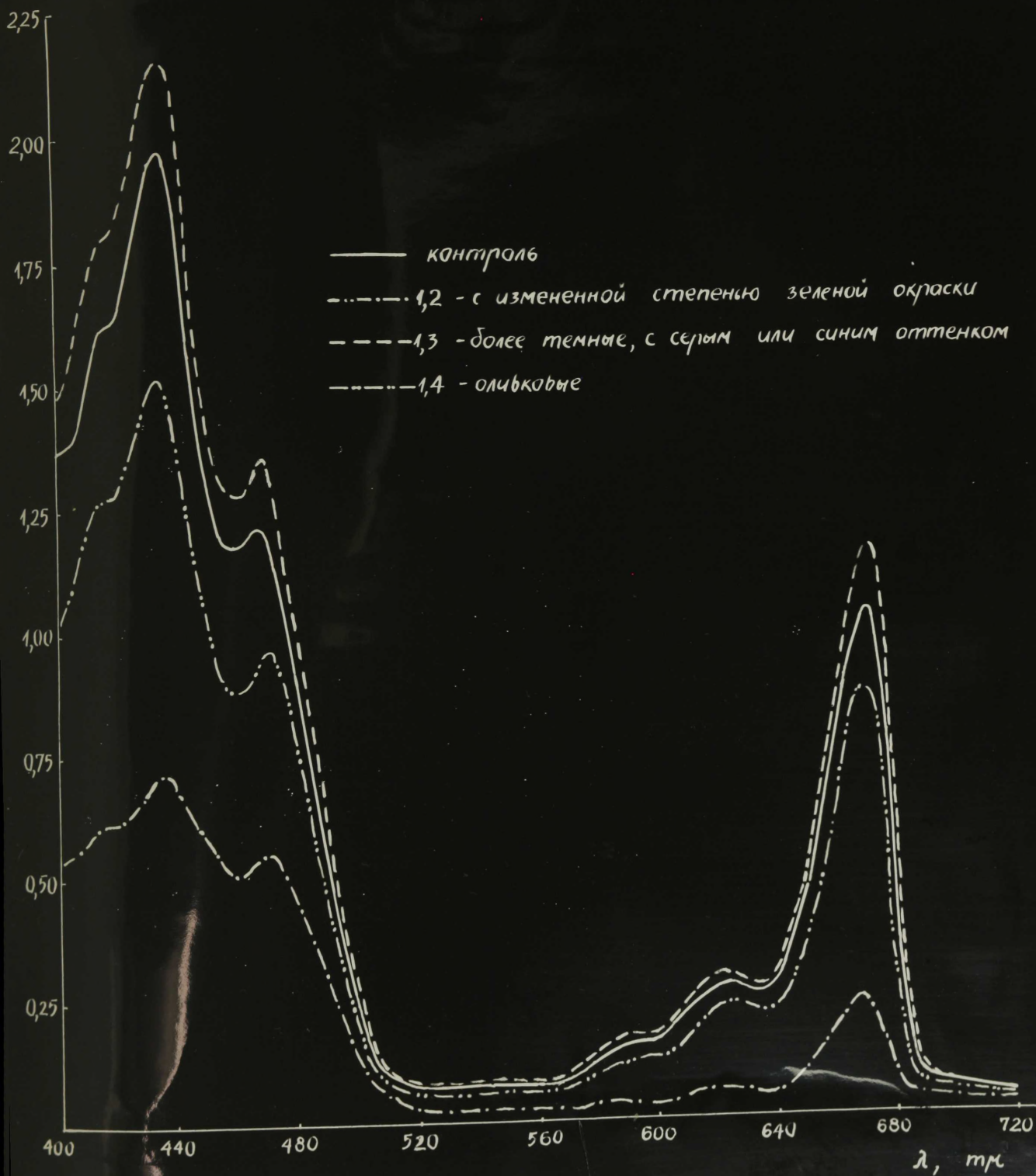


Рис. 18. График оптической плотности растворов хлорофилла для основных типов хлорофильных мутантов у сорта 'Кибир'

туре данными о том, что факторы, влияющие на хлорофильный аппарат, прежде всего изменяют соотношение красящих веществ листа. Изменение отношения хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* нами отмечено уже при анализе растений M_I . В данной серии наших опытов получены различные отношения, очевидно, обусловленные либо различиями условий вегетации, либо сортовой спецификой.

Характеристика хлорофильных мутантов приведена в табл. 13. Мутанты классифицированы как описано выше, т.е. наиболее близкие группы мутантов объединены.

Из приведенных данных следует, что у некоторых типов хлорофильных мутантов содержание хлорофилла уменьшено иногда на 95% по сравнению с нормальными растениями (мутантный тип I-I у сорта 'Торсдаг III'), а у некоторых увеличено на 35% (мутантный тип I-3). Явных сдвигов при распределении отдельных пигментов у различных мутантных типов не отмечено (рис. 17 и 18).

Содержание хлорофилла в константных линиях по хлорофильным мутациям в M_3 и M_4 наследуется у разных мутантов по-разному. Количество хлорофиллов у мутанта № 2-5I (тип flavoviridis) осталось в оба года однозначным, а также отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* оказалось относительно близким (табл. 14).

Сравнение двух изученных сортов гороха показало, что у сорта 'Торсдаг III' как в контрольном варианте, так и во всех соответствующих опытных вариантах наблюдалось более высокое содержание хлорофилла в листьях, чем у сорта 'Кийр'.

Т а б л и ц а 14

Содержание хлорофилла в константных мутантных линиях
гороха

Номер линии	Тип мутанта	1969 г.		1970 г.	
		содержание хлорофилла, хлорофилла, мг/г	хлорофилл α хлорофилл β	содержание хлорофилла, хлорофилла, мг/г	хлорофилл α хлорофилл β
			Кийр		
K5-193	I-4	1,07±0,08	2,98±0,09	1,48±0,10	2,99±0,21
K2-220	I-3	1,85±0,12	2,56±0,09	1,66±0,12	2,71±0,20
Контроль		1,44±0,07	2,52±0,07	1,55±0,09	3,04±0,17
			Торсдаг III		
2-5I	I-2	0,85±0,06	3,30±0,12	0,88±0,08	3,52±0,14
5-22	I-4	2,25±0,21	3,05±0,10	2,01±0,18	3,79±0,21
5-356	I-3	2,58±0,37	2,50±0,11	1,78±0,18	2,78±0,14
	Контроль	1,65±0,10	3,04±0,08	1,60±0,05	3,55±0,17

2. И з у ч е н и е а к т и в н о с т и д ы х а -
н и я л и с т ь е в

а) Материал исследований

В течение вегетационного периода растений M_4 проводили изучение интенсивности дыхания листьев некоторых константных линий. Листья одинакового возраста были собраны в определенные часы дня. Интенсивность дыхания определяли манометрически

ки в аппаратуре Варбурга (см. стр. 84 и 85). Для характеристики динамики дыхания объекта проводили отсчеты через каждые 15 мин в течение 2 ч (после 20-минутного пребывания сосудов с исследуемыми объектами в термостатной ванне для выравнивания температурных условий). По литературным данным, на протяжении 1,5-3 ч интенсивность газообмена продолжает оставаться очень близкой к той, какая была в начале опыта (Семихатова, Чулановская 1965).

б) Результаты и обсуждение

В табл. 15 приведены средние данные по интенсивности и динамике дыхания листьев гороха. Интенсивность дыхания (Q_{O_2}) рассчитана дифференциальным способом, и результаты отложены в группы, которые были применены нами при рассмотрении хлорофильных мутантов.

На основании полученных данных следует отметить, что в течение 2 ч динамика дыхания остается относительно однородной, причем количество поглощенного кислорода в течение первого часа наблюдений немного больше количества поглощенного O_2 в течение второго часа. Увеличенные цены Q_{O_2} в первых периодах определений обусловлены, очевидно, раздражением листьев при переносе их в экспериментальные условия. Исходя из этого, нам представляется, что первое показание манометров надо снимать через 30-40 мин после помещения сосудов с листьями в термостатную ванну аппарата. У оливковых мутантов дыхание более интенсивное по сравнению с контрольными растениями, а у более темных мутантов с серым или синим оттенком - менее интенсивное. Наивысшую интенсивность дыхания листьев наблюдали у сор-

Интенсивность дыхания листьев хлорофильных мутантов гороха
после обработки N-нитрозо-N-этилмочевинной, М₄

Мутантная группа	Дыхание, мгл O ₂ на 1 г сырого веса за 15 мин										Всего за 2 ч	Всего за весь пер.
	I	II	III	IV	Всего за 1 ч	У	VI	VII	VIII	IX		
Контрольные растения	111	102	90	92	Тордаг III, 395	95	93	94	92	374	769	
I, 2 с измененной степенью зеленой окраски	82	81	70	72	306	72	70	72	72	286	592	
I, 3 с серым или синим оттенком, более темные	79	89	80	82	330	80	69	64	62	275	605	
I, 4 оливковые	116	113	93	93	415	97	101	95	95	388	804	
Контрольные растения	82	67	73	76	Кийр, 302	76	70	73	73	292	594	
I, 2 с измененной степенью зеленой окраски	98	82	88	88	356	85	85	85	80	335	691	
I, 3 с серым или синим оттенком, более темные	85	75	78	78	316	75	78	62	39	254	570	
I, 4 оливковые	83	74	77	80	314	77	80	77	77	311	625	

та *Кийр* у мутантов типа I-2, а у сорта *Торсдаг III* у этой группы отмечены самые низкие цены Q_{O_2} . У *Кийр* в этой группе в большинстве наблюдались мутанты типа chloroviridis и chlorotica, характеризующиеся замедленным темпом роста. У *Торсдаг III* отмечено много мутантов типа flavoviridis, с повышенной витальностью. Очевидно, здесь и причина расхождения результатов в этой группе мутантов. Во всех остальных соответствующих вариантах интенсивность дыхания листьев у сорта *Торсдаг III* выше, чем у сорта *Кийр*.

Сравнивая результаты изучения дыхания и содержания хлорофилла в листьях, можем отметить некоторую тенденцию к следующим корреляциям:

1) в рамках одного сорта (особенно у *Кийр*) при повышенном содержании хлорофиллов отмечается пониженная интенсивность дыхания и, наоборот;

2) при увеличении отношения хлорофилла a к хлорофиллу b отмечается более интенсивное дыхание.

Между активностью фотосинтеза и интенсивностью дыхания существует положительная корреляция. О корреляциях между фотосинтетической активностью и количеством хлорофилла достоверных данных не имеется. Физиологически трудно объяснить отмеченный нами в данной работе факт отрицательной связи между содержанием хлорофилла и интенсивностью дыхания. Можно предполагать, что основой этого является суммирование двух различных генетических эффектов.

Наличие положительной корреляции между отношением хлорофилла a к хлорофиллу b и интенсивностью дыхания может быть физиологически обосновано как результат нарушения окисли-

тельно-восстановительных процессов у хлорофильных мутантов.

3. Изучение содержания белка и его аминокислотного сос- тава в семенах

а) Материал и методика

Объектом исследований служили растения четвертого поколения сорта 'Торсдаг III'. Среднее содержание сырого протеина по сотру 22-26% (Hindoalla, 1964). Для анализа были взяты семена константных мутантных линий, в первую очередь - линий с хозяйственно-ценными признаками - скороспелых, крупносемянных, штамбовых, компактоидов, а также семена некоторых хлорофильных мутантов.

Анализ проводили по объемному методу определения аммонийного азота без отгонки аммиака по Кьельдалю (Щап, Леончик, 1968). Сущность метода заключается в прямом оксидиметрическом титровании ионов аммония, содержащихся в анализируемых вытяжках. Для анализа брались средние для каждой линии пробы, вес пробы 0,2 г. Образцы сжигали смесью серной и хлорной кислот. В полученных вытяжках титровали ионы аммония стандартным раствором гипобромита с биамперометрической индикацией конечной точки. Титрование осуществляли с помощью азстометра типа АЗМ-УНИИЗ. Полученные данные пересчитывали на содержание сырого протеина при помощи коэффициента 5,7 (Петербургский, 1968).

У мутантных линий, превосходящих исходный сорт по содержанию белка, определяли аминокислотный состав зерна. Анализ

проводили по гидролизату на автоматическом анализаторе аминокислот типа ААА-81 (Чехословакия) при 53° С в цитратнатриевых буферах. Гидролиз муки проводили 6 н. НС1 в течение 24 ч при 110° С в глицериновом термостате, количество муки для гидролиза - 0,0300 г. Всего идентифицировали 17 незаменимых (кроме триптофана) аминокислот и 10 заменимых - гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, серин, глутаминовая кислота, пролин, глицин, аланин, цистеин, тирозин.

б) Результаты и обсуждение

Результаты анализов показали, что общее содержание сырого протеина у различных мутантных линий значительно варьировало. В табл. 16 приведены данные о тех линиях, в зерне которых содержание белка оказалось выше, чем в контрольных. Нами выделены четыре линии, существенно превосходящие исходный сорт по этому признаку. У мутантной линии № 5-52, полученной воздействием НЭМ в концентрации 5мМ и выделенной как штамбовая, содержание сырого протеина было на 5,8% выше, чем в контроле. У мутантной линии № 2-229 (НЭМ-2мМ) содержание протеина также было почти на том же уровне. Следует отметить, что в наших опытах при этих двух дозах мутагена была получена и самая широкая гамма изменений. Интересные данные получены у линия № 10-42, где крупносемянность сочеталась с высоким содержанием протеина. Это свидетельствует о возможности при помощи химического мутагенеза преодолеть обычно наблюдаемую корреляцию между крупносемянностью и малобелковостью.

Мутантные линии, характеризующиеся повышенным количеством белка, могут служить ценным материалом в селекции гороха,

Т а б л и ц а 16

Содержание сырого протеина в зерне мутантов
гороха в М₄ сорта 'Торсдаг III'

Линия	Характеристика мутанта	Содержание сырого протеина, % к сухому веществу
5-52	штамбовый	<u>27,75</u> ± 0,27
2-229	штамбовый	<u>27,17</u> ± 0,27
10-42	крупносемянный	<u>25,96</u> ± 0,21
2-12	хлорофильный мутант темный	
	синева-зеленый	<u>25,71</u> ± 0,12
8-303	полу-штамбовый	24,75 ± 0,09
5-378	карликовый	23,70 ± 0,14
5-315	ультраскороспелый	22,81 ± 0,25
2-359	хлорофильный мутант, светло-зеленый	22,11 ± 0,39
'Торсдаг III' - исходный сорт		21,96 ± 0,14

Примечание. Выделены данные, существенно отличающиеся от исходного сорта (t-тест, P ≤ 0,01).

но надо учитывать тот факт, что при повышении общего содержания белка в зерне не всегда сохраняются его высокие качественные показатели.

Качество белка определяется пищевой ценностью и наличием незаменимых аминокислот. Пищевая ценность определяется

отношением $\Pi = \frac{A}{\Gamma}$, где Π - пищевая ценность белка, A - процентное содержание альбуминов, Γ - процентное содержание глобулинов. Исследованиями в области химического мутагенеза у зернобобовых культур показано (Соболев и др., 1971а, б; Володин и др., 1971), что содержание отдельных белковых фракций изменяется не пропорционально. Суммарное повышение количества белка может быть достигнуто за счет мутаций отдельных генов, ответственных за синтез определенных белков. Повышение количества белка может происходить за счет повышения количества неполноценных его компонентов и, следовательно, неправомерно во всех случаях рассматривать мутант с повышенным общим содержанием белка в зерне как хозяйственно-ценный.

Учитывая это, для правильной оценки наших так называемых белковых мутантов, был определен аминокислотный состав сырого протеина в их семенах.

Из проведенных анализов следует (табл. 17), что среди незаменимых аминокислот наиболее изменчивы метионин, лейцин и лизин. Количество лейцина и метионина у всех мутантных линий было выше контрольного. Между общим содержанием сырого протеина и относительным количеством лизина в нем отмечалась тенденция к отрицательной корреляции. Сравнивая абсолютные количества аминокислот (табл. 18), можно отметить, что у линий с повышенным содержанием белка отношение незаменимых аминокислот к заменимым находилось почти на том же уровне как и у контроля, или даже на более низком уровне (№ 10-42). Только у трех проанализированных линий (№ 5-315, 5-378, 2-359) увеличение общего содержания белка в зерне происходило в значительной степени за счет более ценных его компонентов, причем по

Содержание незаменимых аминокислот в зерне у мутантов гороха
 М₄ сорта 'Торсдег III' в % от суммарного белка

Мутантная линия	метионин	валин	лизин	треонин	лейцин	изолейцин	фенилаланин
5-52	0,21±0,04	4,46±0,14	7,95±0,04	3,98±0,05	8,41±0,12	4,30±0,29	4,23±0,14
2-229	0,21±0,04	4,22±0,05	7,82±0,10	4,02±0,09	8,10±0,38	4,21±0,22	4,51±0,26
10-42	0,14±0,03	4,40±0,02	7,00±0,44	4,23±0,07	8,18±0,13	4,34±0,04	4,50±0,24
2-12	0,21±0,03	4,51±0,12	7,91±0,26	4,10±0,04	8,35±0,03	4,47±0,01	4,76±0,07
8-303	0,18±0,03	4,50±0,07	7,85±0,62	4,14±0,22	8,08±0,44	4,20±0,31	4,40±0,17
5-315	0,17±0,08	4,62±0,01	8,72±0,38	3,98±0,04	9,68±1,22	4,45±0,03	5,71±0,30
5-378	-	4,61±0,08	8,69±0,21	4,06±0,07	8,54±0,26	4,27±0,23	4,67±0,43
2-359	0,18±0,02	4,78±0,27	9,81±0,26	3,95±0,16	8,25±0,70	4,36±0,20	4,38±0,37
Исходный сорт	0,13±0,03	4,61±0,06	7,84±0,13	4,29±0,04	8,07±0,28	4,30±0,04	4,77±0,10

Т а б л и ц а 18

Отношение незаменимых аминокислот к заменимым
в зерне мутантов гороха в М₄ сорта "Торсдаг III"

Линия	Общее содержание аминокислот, % к сухому весу		Отношение I к II
	незаменимых (I)	заменимых (II)	
5-52	9,31	18,34	0,51
2-229	8,99	17,76	0,51
10-42	8,59	17,08	0,50
2-12	8,91	16,57	0,53
8-303	8,25	16,18	0,51
5-315	8,85	14,65	0,60
5-378	7,95	14,63	0,54
2-359	7,90	14,12	0,56
"Торсдаг III" исходный сорт	7,47	14,27	0,52

содержанию белка эти три линии отличались от исходного сорта незначительно.

В результате анализов выделены мутантные линии, существенно (на 5%) превышающие исходный сорт по содержанию сырого протеина в зерне. Повышение общего содержания белка не всегда сопровождалось сохранением его качественных показателей. Из незаменимых аминокислот наиболее изменчивыми по количеству оказались метионин, лизин и лейцин.

Г Л А В А I V

АНАЛИЗ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАСТЕНИЙ

ГОРОХА M_1 И M_2

В работах по индуцированному мутагенезу особое внимание обращается на учет выхода мутаций и различных спектров при воздействии разными мутагенами. Данных морфометрического анализа растений первых поколений мало, несмотря на это некоторыми исследователями доказана относительно высокая зависимость количества мутантов от количественных показателей растений M_1 и M_2 .

Нами проведены учет и измерения созревших растений M_1 и M_2 поколений в соответствии с лабораторным анализом при селекции гороха (Rusvi, Lerajbe, 1966).

Полученные данные обрабатывались статистически. Определялись: а) средняя величина показателя (\bar{X}), б) ошибка средней ($\pm m$), в) коэффициент изменчивости (v).

Для сравнения средних достоверность различий определяли в ряде случаев по критерию Стюдента (Бейли, 1964).

Кроме того, проводили корреляционный анализ морфологических параметров и некоторых физиологических показателей, а также использовали метод корреляционных плеяд вместе с анализом их структур.

I) Изучение морфометрических показателей.

В анализ морфометрических показателей включены наиболее характерные параметры растений M_1 и M_2 . Обработка семян горо-

ха растворами НЭМ сильно влияет на рост растений, увеличивая количество растений с сильным подавлением роста (табл. 5 и рис. 3). Многие из карликовых растений погибали в течение вегетационного периода. Различия в высоте созревших растений не очень существенны. В M_I можно отметить как стимулирующее (концентрации $\leq 1,0$ мМ), так и угнетающее (концентрации $\geq 2,0$ мМ) действие НЭМ (табл. 19). Коэффициент изменчивости особенно высок у растений из семян, обработанных концентрациями НЭМ 5 мМ.

Т а б л и ц а 19

Высота созревших растений гороха M_I после воздействия
N -нитрозо-N -этилмочевинной

Концентрация НЭМ, мМ	•Торсдаг III•			•Кийр•		
	$\bar{x} \pm m$	V	D	$\bar{x} \pm m$	V	D
Контроль	75,3±2,05	17,1	-	97,1±1,46	14,6	-
0,1	77,5±0,96	13,6	2,2	106,0±1,80	16,7	8,9
0,25	79,7±1,26	16,3	4,4	100,2±1,25	12,5	3,1
0,5	<u>82,8±1,08</u>	13,5	7,5	100,4±1,56	15,0	3,3
1,0	79,5±1,24	15,4	4,2	103,0±1,49	14,1	5,9
2,0	70,2±1,14	19,6	-5,1	101,9±1,64	14,4	4,8
5,0	<u>59,0±1,10</u>	20,9	-16,3	<u>75,0±2,97</u>	27,5	-22,1
8,0	<u>87,0±1,34</u>	20,2	11,7	<u>77,9±6,35</u>	49,9	-19,2
10,0	<u>66,2±1,97</u>	23,6	-9,1	-	-	-

Примечание. Здесь и в остальных таблицах подчеркнуты данные, существенно отличающиеся от контроля. Одной чертой - разницы достоверны при $P \leq 0,05$, двумя - при $P \leq 0,01$.

В вариантах, высеянных нами в M_2 , стимулирующее действие НЭМ исчезает, угнетающее действие сохраняется, но у сорта 'Торсдаг III' становится менее существенным (табл. 20).

Т а б л и ц а 20

Высота созревших растений гороха M_2 после воздействия N-нитрозо-N-этилмочевиной

Концентрация НЭМ, мМ	'Торсдаг III'			'Кийр'		
	$\bar{x} \pm m$	V	D	$\bar{x} \pm m$	V	D
Контроль	110,0 \pm 1,11	19,0	-	147,0 \pm 2,53	16,7	-
0,1	-	-	-	<u>128,6</u> \pm 2,47	18,9	-18,4
0,25	108,9 \pm 1,00	18,2	-1,1	144,3 \pm 2,42	16,6	- 2,7
2,0	103,4 \pm 1,21	26,8	-6,6	142,3 \pm 2,95	19,4	- 4,7
5,0	102,6 \pm 1,29	25,5	-7,4	<u>121,1</u> \pm 2,67	20,8	-25,9
8,0	100,1 \pm 1,51	24,9	-9,9	<u>131,1</u> \pm 3,74	27,9	-15,9
10,0	99,6 \pm 1,11	19,0	-10,4	-	-	-

Число междоузлий в наших опытах не являлось существенно варьирующим признаком в M_1 (табл. 21), поэтому в M_2 этот признак нами не учитывался. Следует отметить, что у сорта 'Торсдаг III' ни в одном варианте не было отмечено уменьшения числа междоузлий. Даже при наименьшей высоте растений (при 5 мМ) количество междоузлий оказалось немного выше, чем в контроле. Уже Б. Шарма (1965а) в своих работах по гороху заключил, что уменьшение высоты растений связано с уменьшением длины междоузлий, а не числа их. В работах В. Готтшалка (Gottschalk, 1964) у многих радиационных мутантных типов гороха отмечено

уменьшение числа междоузлий и только в очень редких случаях увеличение числа их. Вероятно, в этом выражается одно из различий между воздействием химических и физических факторов.

Т а б л и ц а 21

Число междоузлий до последней завязи у растений гороха в M_I после воздействия N-нитрозо-N-этилмочевинной

Концентрация НЭМ, мм	*Торсдаг III*			*Кийр*		
	$\bar{x} \pm m$	V	D	$\bar{x} \pm m$	V	D
Контроль	15,1±0,23	13,3		16,2±0,33	19,5	-
0,1	15,6±0,19	13,0	0,5	16,6±0,23	13,0	0,4
0,25	15,8±0,19	11,8	0,7	17,0±0,22	11,9	0,8
0,5	<u>16,7±0,18</u>	10,1	1,6	17,5±0,23	12,3	1,3
1,0	16,3±0,35	20,9	1,2	17,6±0,24	12,3	1,4
2,0	16,6±0,14	9,8	1,5	17,7±0,31	15,4	1,5
5,0	16,0±0,90	17,5	0,9	16,3±0,86	41,8	0,1
8,0	<u>18,5±0,39</u>	19,0	2,4	15,5±0,56	29,1	-0,7
10,0	16,2±0,34	16,5	1,1	-	-	-

Число узлов до первой завязи - показатель продолжительности периода от всходов до цветения, поэтому раннеспелость гороха связывают с меньшим количеством узлов до первой завязи. Полученные К.К. Сидоровой с сотр. (Сидорова, 1971б; Сидорова и др., 1969а) скороспелые мутанты гороха созревают на 6-7 дней раньше контроля, и первые цветки развиваются у мутантов на 4-6-м узле, у контроля на 12-14-м узле. В среднем по отдельным вариантам наших опытов число междоузлий до первой завязи колебалось от 10,9 до 12,5 у сорта *Торсдаг III* и от 11,2 до 12,7

у сорта 'Кийр' (табл. 22). Таким образом, различия между отдельными вариантами не очень большие. В пределах одного варианта отмечено сильное варьирование только у сорта 'Кийр' (0,5 мм; 5 мм; 8 мм). Наши скороспелые мутантные линии, выделяющиеся у сорта 'Торсдаг III', также имели первые цветки только на I-2 узла ниже контроля.

Т а б л и ц а 22

Число междоузлий до первой завязи у растений гороха M_I после воздействия N-нитрозо-N-этилмочевинной

Концентрация НЭМ, мм	'Торсдаг III'			'Кийр'		
	$\bar{x} \pm m$	V	D	$\bar{x} \pm m$	V	D
Контроль	10,9±0,22	12,5	-	12,0±0,19	15,7	-
0,1	11,5±0,11	9,9	0,6	11,7±0,23	15,7	-0,3
0,25	11,4±0,10	9,0	0,5	12,6±0,13	10,2	0,6
0,5	11,9±0,07	7,7	1,0	12,7±0,20	34,3	0,7
1,0	11,9±0,04	7,6	1,0	12,9±0,11	7,7	0,9
2,0	<u>12,5±0,06</u>	5,6	1,6	12,0±0,19	17,3	0,0
5,0	<u>12,3±0,08</u>	9,3	1,4	11,2±0,40	27,1	-0,8
8,0	11,4±0,19	15,4	0,5	11,2±1,44	46,7	-0,8
10,0	11,2±0,27	20,4	0,3	-	-	-

Сравнивая результаты измерения данного признака у двух сортов, можно отметить специфичность сорта в характере изменений. Воздействие НЭМ вызывало у сорта 'Торсдаг III' увеличение числа междоузлий во всех вариантах, т.е. отмечается тенденция к позднеспелости растений в результате обработки семян. У сорта 'Кийр' имелись средние показатели, отклоняющиеся в отрица-

тельную и положительную стороны.

Важным признаком, разумеется, у каждой культуры растений является продуктивность. У гороха урожай зерна зависит от следующих структурных особенностей растений: 1) числа фертильных узлов, 2) числа бобов на плодonoсе, 3) числа зерен в бобе (выполненность боба) и 4) веса 1000 зерен. По мнению В.С. Федотова (1960) наиболее устойчивым из них является выполненность боба. Им доказано, что более урожайным сортам гороха соответствует и более высокий показатель выполненности боба. Обработка семян гороха растворами НЭМ в среднем по варианту уменьшает названный показатель, особенно при концентрации 5 мМ (табл. 23). У этих растений (концентрация 5 мМ) в M_I завязывается и наименьшее количество бобов, в том числе и фертильных (табл. 24).

Т а б л и ц а 23

Выполненность боба у растений гороха M_2 после воздействия N-нитрозо-N-этилмочевиной

Концентрация НЭМ, мМ	*Торсдаг III*			*Кийр*		
	$\bar{x} \pm m$	V	D	$\bar{x} \pm m$	V	D
Контроль	3,95±0,06	20,0		3,32±0,26	19,2	0,52
0,1	-	-	-	2,80±0,21	19,0	-0,52
0,25	3,68±0,27	23,2	-0,27	3,42±0,28	19,5	0,10
2	3,27±0,18	27,1	-0,68	2,78±0,34	36,1	-0,54
5	<u>2,80±0,39</u>	33,9	-1,15	<u>2,15±0,32</u>	43,0	-1,17
8	3,11±0,47	31,7	-0,84	2,47±0,29	29,1	-0,85
10	3,23±0,40	26,2	-0,72	-	-	-

Т а б л и ц а 24

Число фертильных бобов на одно растение гороха

M_1 после воздействия N-нитрозо-N-этилмочевиной

Концентрация НЭМ, мм	*Торсдаг III*			*Кийр*		
	$\bar{X} \pm m$	V	D	$\bar{X} \pm m$	V	D
Контроль	9,2±0,28	33,0	-	7,7±0,29	36,0	-
0,1	9,1±0,28	32,8	-0,1	8,9±0,26	31,4	1,2
0,25	9,5±0,26	28,3	0,4	8,3±0,30	37,2	0,6
0,5	9,9±0,28	28,4	0,7	8,4±1,01	35,6	0,7
1	9,9±0,22	23,2	0,7	8,9±0,30	35,3	1,2
2	8,5±0,28	38,0	-0,7	7,5±0,36	45,9	-0,2
5	5,7±0,36	65,0	-3,5	3,3±0,46	65,4	-4,4
8	8,6±0,57	73,5	-0,6	4,8±0,99	79,7	2,9
10	7,5±0,53	52,7	-1,7	-	-	-

В варианте, обработанном 0,25 мм концентрацией НЭМ, отмеченное увеличение количества бобов у сорта *Торсдаг III* сохранялось и становилось более существенным в M_2 (табл. 25).

Т а б л и ц а 25

Число фертильных бобов на одно растение гороха М₂
после воздействия N-нитрозо-N-этилмочевиной

Концентрация НЭМ, мм	*Торсдаг III*			*Кийр*		
	$\bar{x} \pm m$	V	D	$\bar{x} \pm m$	V	D
Контроль	9,8 \pm 0,16	34,1	-	9,9 \pm 0,30	28,2	-
0,1	-	-	-	9,1 \pm 0,27	28,0	-0,8
0,25	10,8 \pm 0,17	31,6	1,0	9,0 \pm 0,32	33,1	-0,9
2,0	9,6 \pm 0,18	41,1	-0,2	9,7 \pm 0,45	43,1	-0,2
5,0	9,2 \pm 0,22	47,0	-0,6	<u>7,2</u> \pm 0,52	68,2	-2,7
8,0	9,4 \pm 0,24	43,5	-0,4	<u>8,2</u> \pm 0,41	48,5	-1,7
10,0	8,8 \pm 0,19	37,4	-1,0	-	-	-

2. Корреляционный анализ

В настоящей работе предпринята попытка показать корреляционные связи между морфологическими признаками в зависимости от дозы обработки, а также связи между морфологическими признаками и некоторыми физиологическими показателями (табл. 26 и 27).

Корреляции устанавливали для растений M_1 и M_2 поколений по следующим признакам:

- 1 - всхожесть, %
- 2 - выживаемость, % от числа высеянных семян
- 3 - высота до первой завязи, см
- 4 - высота до последней завязи, см
- 5* - число междоузлий до первой завязи, шт.
- 6* - число междоузлий до последней завязи, шт.
- 7* - средняя длина междоузлий, см
- 8 - число бобов на I растение, шт.
- 9 - количество фертильных бобов, %
- 10 - число бобов на I узел, шт.
- 11 - длина нижнего боба, см
- 12** - число семян на I боб, шт.
- 13 - растения с сильным подавлением роста, %
- 14 - стерильные растения, %
- 15 - ветвистые растения, %
- 16 - концентрация раствора НЭМ, мМ

Примечание. * Признак учитывался только в M_1 .

** признак учитывался только в M_2 .

Корреляционные матрицы вычислялись на ЭВМ "Минск 32".
Программа составлена на алгоритмическом языке "АКИ-400" (Неменман и др., 1965).

Приведенные в табл. 26 и 27 коэффициенты корреляции показывают, что в первом поколении в высшей корреляционной связи от концентрации НЭМ находится целый ряд физиологических показателей - всхожесть семян, выживаемость растений, и фертильность их ($r \geq 0,78$), а также некоторые морфологические признаки - количество бобов на плодonoсе, высота растений ($r \geq 0,73$). Количество растений с подавлением роста находится в наивысшей корреляционной связи от дозы обработки ($r \geq 0,93$), причем эта связь наблюдалась и у растений M_2 (табл. 28 и 29). Интересно отметить, что большинство изученных нами параметров находится в более тесной связи с высотой растений до первой завязи, чем с высотой до последней завязи. Отсюда следует, что при оценке растений гороха M_1 особенно важно учитывать место первой завязи.

В корреляционный анализ растений M_2 включены:

а) выход мутаций в M_2 , (17 - хлорофильных; 18 - других морфофизиологических), б) частота растений с хлорофильными изменениями в M_1 (19).

Между выходом мутантов в M_2 и рядом физиологических показателей (всхожесть, выживаемость) отмечается высокая корреляционная связь у обоих сортов ($r \geq 0,74$), в особенно высокой степени для морфофизиологических мутантов ($r \geq 0,92$). Частота растений с хлорофильными изменениями в M_1 находится в наивысшей прямой корреляции с дозой обработки, ($r = 0,98$).

Коэффициенты корреляции между признаками растений M₂ у сорта 'Торсдаг III'

	Выход хлорофильных изменений в M ₁ , %	Выход морфологических изменений в M ₂ , %	Выход хлорофильных мутаций, %	Концентрация НЭМ, мм	Ветвистые растения %	Стерильные растения %	Растения с сильным подавлением роста, %	Число семян на I боб, шт.	Длина нижнего боба, см	Число бобов на I узел, шт.	Количество фертильных бобов, %	Число бобов на I растение, шт.	Высота до последней завязи, см	Высота первой завязи, см	Выживаемость, %
Всхожесть, %	-0,66	-0,97	-0,74	-0,70	-0,20	-0,95	-0,86	0,96	0,96	0,95	0,47	0,63	0,88	0,76	0,97
Выживаемость, %	-0,55	-0,95	-0,77	-0,59	-0,31	-0,92	-0,81	0,84	0,97	0,94	0,51	0,64	0,81	0,70	
Высота до первой завязи, см	-0,91	-0,59	-0,31	-0,94	0,17	-0,56	-0,93	0,66	0,67	0,78	-0,12	0,88	0,97		
Высота до последней завязи, см	-0,87	-0,76	-0,50	-0,92	0,13	-0,73	-0,94	0,83	0,80	0,84	0,08	0,81			
Число бобов на I растение, шт.	-0,76	-0,45	-0,36	-0,82	0,25	-0,49	-0,72	0,50	0,57	0,70	0,03				
Количество фертильных бобов, %	0,09	-0,61	-0,69	0,05	-0,36	-0,71	-0,01	0,54	0,49	0,45					
Число бобов на I узел, шт.	-0,73	-0,89	-0,58	-0,74	-0,34	-0,82	-0,89	0,84	0,87						
Длина нижнего боба, см	-0,46	-0,96	-0,86	-0,54	-0,16	-0,89	-0,75	0,90							
Число семян на I боб, шт.	-0,59	-0,95	-0,78	-0,66	-0,03	-0,94	-0,73								
Растения с сильным подавлением роста, %	0,88	0,75	0,34	0,86	0,16	0,70									
Стерильные растения, %	0,53	0,97	0,76	0,57	0,31										
Ветвистые растения, %	-0,08	0,30	0,03	-0,23											
Концентрация раствора НЭМ, мм	0,98	0,53	0,21												
Выход мутаций, хлорофильных, %	0,07	0,81													
Выход морфологических мутантов, %	0,49														

r < 0,81 P > 0,05
r = 0,81 ... 0,91 P < 0,05
r ≥ 0,91 P < 0,01

3. Анализ корреляционных плеяд.

Для правильной оценки совокупности определяемых связей использован метод корреляционных плеяд, разработанный П.В. Терентьевым (1959, 1960) и несколько модифицированный Ю.И. Каламом (1971). Вместо корреляционного кольца или цилиндра Терентьева использовалась корреляционная спираль (рис. 19 и 20). На оси спирали отмечались абсолютные величины коэффициента корреляции. Все признаки, соединенные линиями в случае существования связи между ними, расположены на протяжении одного витка.

Для описания плеяд определялись предложенные П.В. Терентьевым мощность (G) и "крепость" (D) и предложенная Ю.И. Каламом "валентность" (V), а также изучалась конструкция плеяд (рис. 21 и 22). При "валентности" в пределах 1,0 - 1,5 она выражается в структуре "цепь", в пределах 1,5-2,0 в структуре "звезда" и в пределах 2,0 - (n-1) в структуре "сеть", (n - число членов плеяды). Величина валентности приближается к максимальной величине, когда $n \rightarrow \infty$. Самостоятельный признак может рассматриваться как член с валентностью $V = 0$.

На уровне $r \geq 0,90$ в M_I самостоятельными являются следующие признаки: 3 - высота растений до первой завязи, 5 - число междоузлий до первой завязи, 10 - число бобов на 1 узел и 15 - количество ветвистых растений. Кроме того, у сорта "Торсдаг": 1 - всхожесть, 2 - выживаемость, 9 - количество фертильных бобов, 11 - длина нижнего боба, 14 - количество стерильных растений, а у сорта "Киёр" - 7 - средняя длина междоузлий. Остальные признаки группируются в плеяды "а" и "б₂" у сорта "Торсдаг" и "б₁" и "в₁" у сорта "Киёр".

Торса III

$|r| = 0,90$

$|r| = 0,85$

$|r| = 0,80$

'Киър'

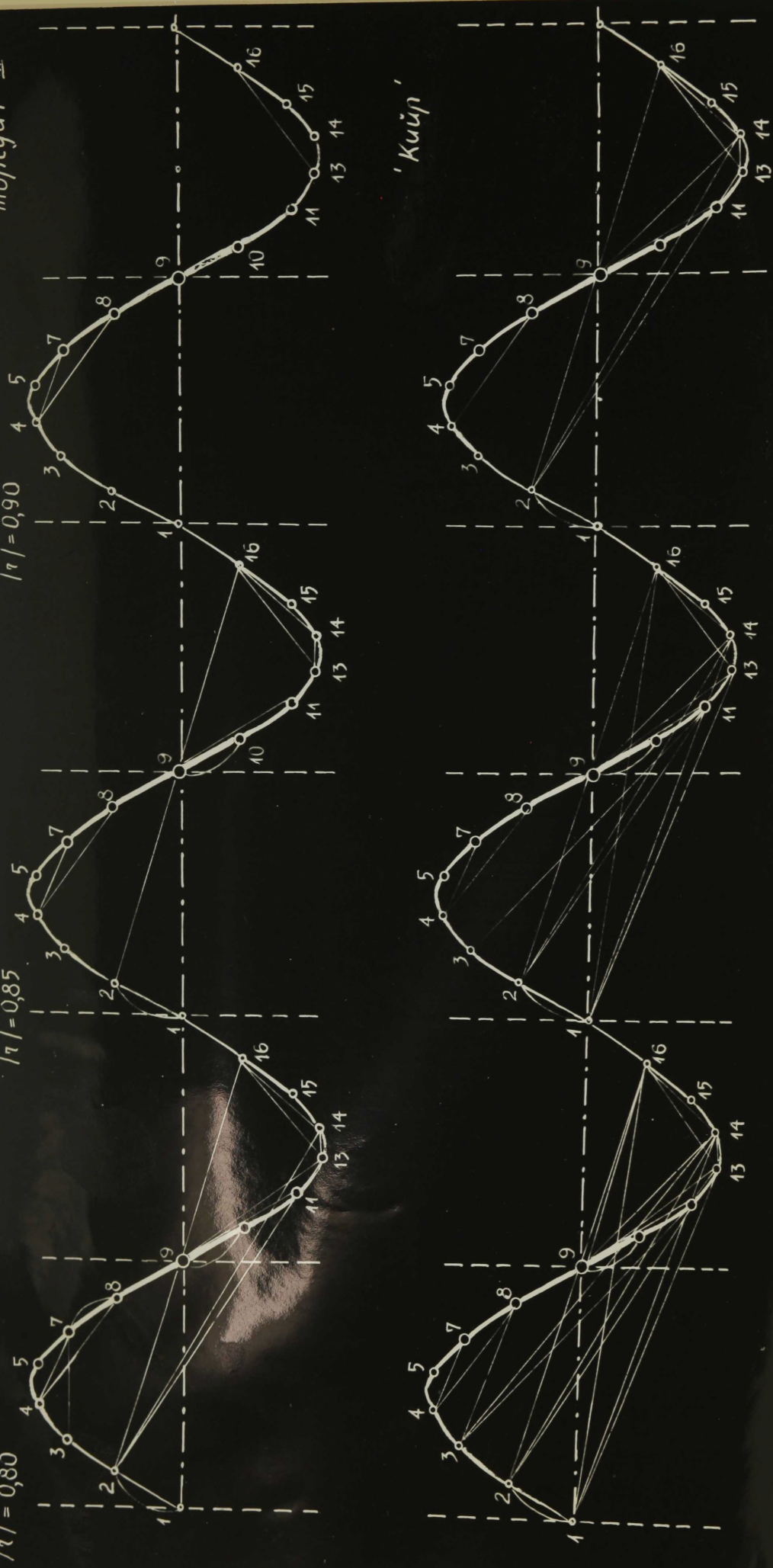
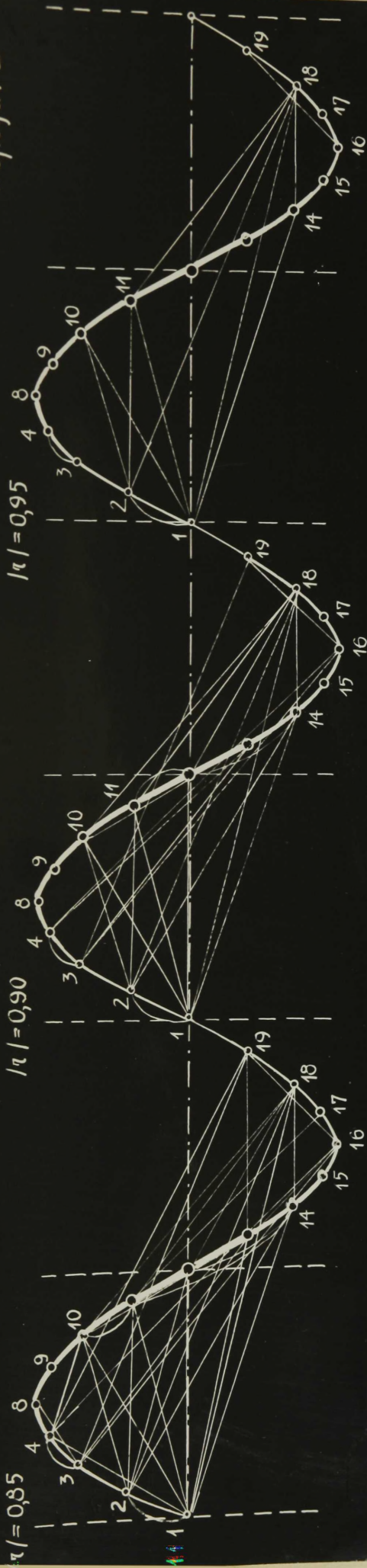


Рис. 19. Корреляционные спирали /MГ/

'Торсгаг III'



'Кийр'

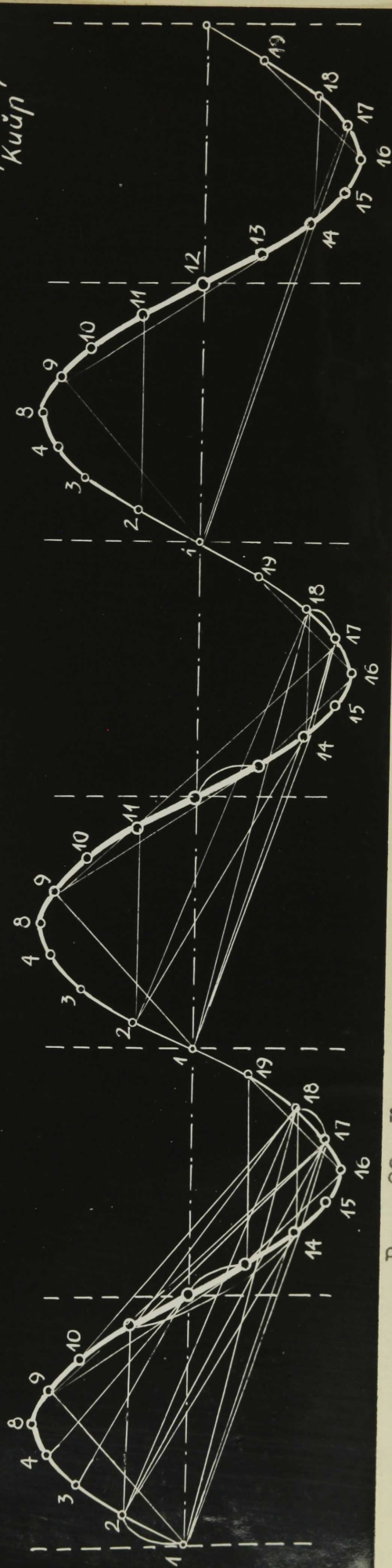


Рис. 20. Корреляционные спирали M_2

(рис. 21). На уровне $r / \geq 0,85$ у сорта "Торсдаг III" прибавляется плеяда "д", а плеяда "а" дополняется до плеяды "г"; у сорта "Кийр" плеяда "б_I" с включением признака 7 становится в плеяду "б₂", плеяда "в_I" с включением признака 10 - в плеяду "в₂". У обоих сортов самостоятельными являются те же признаки (3, 5, 15).

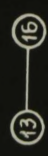
На уровне $r / \geq 0,80$ выявляются плеяды "б₃" и "б₂" у сорта "Торсдаг III" и "е" у сорта "Кийр". Бросается в глаза, что плеяда "г" является составной частью почти всех остальных (в_I, в₂, е).

Таким образом, корреляционная связь на высшем уровне имеется между концентрацией мутагена и некоторыми физиологическими показателями гороха - всхожестью, выживаемостью, количествами стерильных растений и растений с подавлением роста, а также между некоторыми морфометрическими показателями (плеяды б_I, б₂, б₃).

Изучалась и структура корреляционных плеяд по данным M₂ (рис. 22). Можно отметить, что во втором поколении наблюдается высокая корреляционная связь между концентрацией мутагена (16) и количеством растений с подавлением роста (13). Ветвистость растений является самостоятельным признаком на всех наблюдаемых уровнях, у обоих сортов и в обоих поколениях. На первый взгляд это противоречит существующим данным, так как общепринято, что воздействие мутагенами увеличивает ветвистость растений. Однако такой вывод достоверен только при обработке средними, оптимальными дозами. В данной работе пределы концентраций настолько широки, что такая корреляция, разумеется, существовать не может.

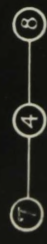
Торсган III

$G = 2$
 $D = 0,93$
 $V = 4,0$



α

$G = 3$
 $D = 0,93$
 $V = 4,3$



δ_{2T}

$G = 2$
 $D = 0,92$
 $V = 4,0$



δ_1

$G = 7$
 $D = 0,94$
 $V = 2,6$



β_1

$G = 5$
 $D = 0,88$
 $V = 2,0$



ζ

$G = 3$
 $D = 0,85$
 $V = 4,3$



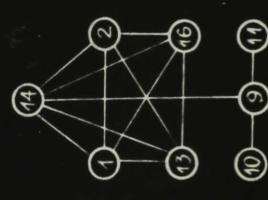
η

$G = 3$
 $D = 0,90$
 $V = 4,3$



δ_{2K}

$G = 8$
 $D = 0,92$
 $V = 3,3$



β_{2K}

$G = 8$
 $D = 0,85$
 $V = 2,5$



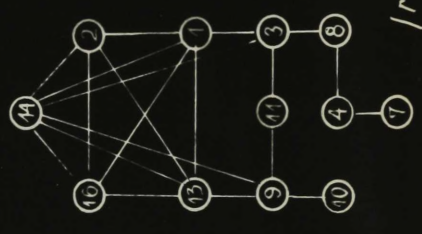
θ_{2T}

$G = 4$
 $D = 0,88$
 $V = 2,0$



δ_3

$G = 12$
 $D = 0,88$
 $V = 3,8$



ϵ

$|r| > 0,90$

$|r| > 0,85$

$|r| > 0,80$

Рис. 21. Структуры корреляционных плеяд /M_I/

Торсгаг III

3
 $G = 2$
 $D = 0,93$
 $V = 1,0$



к
 $G = 7$
 $D = 0,94$
 $V = 2,8$

41
 $G = 7$
 $D = 0,98$
 $V = 2,9$



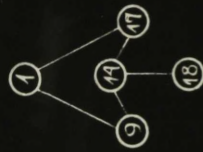
42
 $G = 7$
 $D = 0,94$
 $V = 3,7$

а
 $G = 13$
 $D = 0,89$
 $V = 4,0$

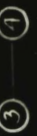
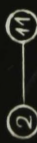


Кийр

01
 $G = 5$
 $D = 0,97$
 $V = 2,8$



н
 $G = 2$
 $D = 0,97$
 $V = 1,0$



02
 $G = 7$
 $D = 0,95$
 $V = 3,4$



п
 $G = 4$
 $D = 0,93$
 $V = 1,5$



с
 $G = 6$
 $D = 0,91$
 $V = 2,3$



03
 $G = 7$
 $D = 0,98$
 $V = 5,1$



$|r| > 0,85$

$|r| > 0,90$

$|r| > 0,95$

Рис. 22. Структуры корреляционных плеяд /M2/

Сравнивая анализы двух поколений, можно заключить, что корреляционные связи между различными признаками у двух изученных нами сортов гороха являются более сходными, чем эти связи в пределах двух поколений одного сорта. Это свидетельствует о единстве процесса формирования мутагенного эффекта. Корреляционные отношения между наблюдаемыми признаками находились на более высоком уровне у растений M_2 , чем у растений M_1 , и их количество было заметно больше, чем в год воздействия мутагеном.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди применяемых для индуцирования наследственной изменчивости химических веществ первое место по частоте вызываемых мутаций и их спектру принадлежит *N*-нитрозо-*N*-алкилмочевинам. Поэтому изучение особенностей этой группы мутагенов необходимо для разработки эффективных генетических методов селекции.

При исследовании физиологического и генетического действия разных концентраций *N*-нитрозо-*N*-этилмочевины на горох выявлена четкая корреляция между мутагенной активностью и физиологическим действием НЭМ у обоих исследованных сортов зернового гороха. Наибольшая частота мутаций в M_2 наблюдается при обработке семян НЭМ в таких концентрациях, которые либо не влияют на всхожесть семян и выживаемость растений M_1 , либо оказывают слабое угнетающее действие, т.е. концентрации от 2 до 5 мМ. При таких концентрациях полевая всхожесть составляет 82 и 74% (контроль 84%) у сорта 'Торсдаг III' и 91 и 74% (контроль 90%) у сорта 'Киір'; выживаемость соответственно 81 и 70% (80%) и 89 и 54% (87%) (табл. 3). Частота мутантных семей в M_2 у сорта 'Торсдаг III' при обработке НЭМ в концентрации 2 мМ - 61%, 5 мМ - 64%; у сорта 'Киір' соответственно 58 и 80% (суммы показателей см. в табл. 6 и 7).

Установленные в вышеописанных опытах оптимальные концентрации НЭМ могут быть рекомендованы для использования в полевых опытах с горохом. Так как действия НЭМ характер -

но явление отдаленной гибели (Шарма, 1965 а; Макарова, 1966; Сидорова, 1971а), на наш взгляд, целесообразно учитывать именно показатель выживаемости. По результатам наших исследований максимальная частота мутаций наблюдалась в результате действия доз, при которых в M_1 выживало 70-80% растений.

Установленная корреляция между физиологическим действием и мутагенной активностью НЭМ имеет практическое значение для сокращения материала, отбираемого в M_1 для посева в M_2 . Разумеется, не исключена возможность получения в небольшом количестве ценных мутантных форм при воздействии более высокими дозами НЭМ (например, наша крупносемянная линия № 10-42, полученная после обработки семян раствором в концентрации 10мМ), но основное внимание для получения большого количества мутантных форм надо уделять физиологически слабоугнетающим дозам.

По Готтшалку (Gottschalk, 1964) главными типами мутационной изменчивости являются:

- 1) изменения в длине вегетационного периода;
- 2) хлорофильные дефекты различной степени;
- 3) отклонения в системе ветвления растений;
- 4) карликовый рост и мелколиственность;
- 5) изменения в количестве и длине междоузлий;
- 6) аномалии в расположении листьев;
- 7) отсутствие воскового налета;
- 8) аномалии геотропизма;
- 9) различия в отношениях к определенному фактору условий.

К этому перечню надо добавить возникающие различные биохимические мутации.

У многих форм встречались изменения по нескольким типам,

так что их трудно было распределить по определенным группам. Появление комплексных и множественных мутаций является одной из наиболее характерных черт химического мутагенеза (Шарма, Орав, 1965; Сидорова, 1973). Интерпретировать это явление можно по-разному: или происходит одновременное мутирование нескольких локусов, или это является результатом изменения плейотропного гена. Наиболее вероятной причиной изменения сразу многих признаков часть авторов считает плейотропное действие одного или нескольких мутантных генов (Gottschalk, 1964; Найлен, 1967; Сидорова, 1973).

У гороха особенно часто мутировали локусы и гены, ответственные за формирование листьев и стебля. Уже Лампрехтом (Lamprecht, 1945) доказана большая амплитуда мутаций листьев. В большинстве своем они не имеют практической ценности. Наиболее интересны изменения строения стебля и характера ветвления. Растения с более толстым стеблем могут иметь значение в получении устойчивых к полеганию форм гороха. Ветвящиеся с большой зеленой массой растения представляют интерес в качестве зеленого корма. Исходя из данных генетики гороха, можно предполагать, что чаще всего мутации проявляются в таких признаках, которые контролируются большим числом генов. Например, известно свыше 30 генов, ответственных за ветвистость стебля гороха (Gottschalk, 1969). Такой вывод сделан^и в других работах (Сидорова, 1973). Часто встречались мутанты с заторможенным ростом, причем уменьшение высоты растений было обусловлено главным образом изменением длины междоузлий и реже изменением числа их. Известно, что длина междоузлий обусловлена влиянием le/le аллели, причем длинные междоузлия домини-

руют над короткими. Кроме этой плеiotропной аллели длина междоузлий модифицируется su - факторами (Latta, 1947). По-видимому, гораздо чаще мутирует рецессивный ген *le*, чем доминантный ген *Le*: мутантов с укороченными междоузлиями известно значительно больше, чем с удлинненными междоузлиями. Рецессивность большинства индуцированных мутаций является важной чертой у высших растений. До недавнего времени считали, что настоящие доминантные мутации - редкость (Найлен, 1967). После открытия супермутагенов это представление изменилось, и появление относительно большого количества доминантных мутаций под влиянием супермутагенов отмечено в работах ряда исследователей (Шарма, 1965 г; Сальникова, Зоз, 1966; Зоз и др., 1973). В наших исследованиях отмечено лишь единственное явно доминантное изменение в M_1 . Судя по литературным данным, доминантные и полудоминантные мутации, по-видимому, более часто возникают у полиплоидов (D'Amato и др., 1964).

Удобную модель для оценки частоты индуцированных мутаций представляют собой хлорофильные мутации. Для ряда зернобобовых культур установлена корреляция частоты мутаций в M_2 с числом бесхлорофильных пятен на листьях в M_1 (Vlixt, 1965; Сидорова, 1966; Дебелый и др., 1972). Синтез хлорофилла - весьма сложный биохимический процесс, и в отношении причин недостатка хлорофилла имеются различные точки зрения. Влихст с сотрудниками (Vlixt и др., 1964) объясняет возникновение хлорофильных мутантов только генетическим действием мутагенов, вызывающих перестройки хромосом. Гостимский (1971) отмечает, что в большинстве случаев хлорофильный дефект связан с генными изменениями. Захариас и Эренберг (Zacharias, Eh-

genberg, 1962) объясняют недостаток хлорофилла изменением генетического материала в результате перестроек хромосом и точковых мутаций, но не исключают также возможности прямого действия мутагенов на пластиды. Дебелый и Бежанидзе (1972а) считают, что бесхлорофильная пятнистость может служить только косвенным показателем генетического эффекта, так как она, по их мнению, обуславливается соматическими мутациями в мезостематических клетках зародыша. Ранчялис (Ранчялис и др., 1966) считает пестролистность растений результатом модификационных изменений пластид под действием мутагена. В наших опытах между количеством растений с хлорофильными пятнами в M_1 и выходом мутаций в M_2 не было достоверной корреляции - у сорта 'Торсдаг III' $/r / = 0,07$ при учете хлорофильных мутаций в M_2 и $/r / = 0,49$ при учете других морфофизиологических мутаций в M_2 . У сорта 'Кийр' соответственно - $/r / = 0,47$ и $0,65$. Мы считаем, что учет хлорофильных мутаций для определения специфичности действия мутагенов является, очевидно, эффективным способом лишь в определенных аспектах.

Известно, что алкилирующие агенты, в том числе и НЭМ, индуцируют мало хромосомных aberrаций, по сравнению с некоторыми видами излучений (Хвостова, Тарасенко, 1970 и др.). Алкильные соединения индуцируют относительно меньше мутаций типа albina и относительно больше мутаций типа viridis (Blixt и др., 1963; Сидорова, 1973). В наших опытах у растений M_2 отмечены только некоторые мутанты типа albina, больше всего отмечались хлорофильные мутанты типа viridis. Наш взгляд, обоснованным является предположение Вестергаарда (Westergaard, 1960), который считает, что алкилирующие

химические соединения, как было уже сказано, вызывают больше генных мутаций и меньше крупных aberrаций, и вследствие их слабого действия на хромосомы в их спектре преобладают менее радикальные наследственные изменения (*viridis*) и относительно меньшее количество мутаций, приводящих к летальному исходу (*albina*), по сравнению с ионизирующими излучениями.

На основании наших исследований можно заключить, что горох сорта 'Кийр' более чувствителен к действию НЭМ, чем горох сорта 'Торсдаг III'. В физиологических показателях в M_I у растений сорта 'Кийр' отмечены более широкие отклонения от нормы, чем у растений сорта 'Торсдаг III'. Всхожесть семян составляла, например, после обработки 8 мМ раствором мутагена у сорта 'Кийр' только 43%, у сорта 'Торсдаг III' - 79%. Выживаемость растений при этой концентрации была соответственно II и 49%.

Более высокую чувствительность растений сорта 'Кийр' к воздействию использованного мутагена отметили и при изучении фертильности растений. Так, у сорта 'Кийр' отмечено в 4-5 раз больше стерильных растений, чем у сорта 'Торсдаг III' в соответствующих вариантах.

Для характеристики физиологического действия НЭМ измеряли и прирост растений. У обоих сортов отметили заметное количество растений со значительным подавлением роста после обработки семян мутагеном, однако у растений сорта 'Кийр' подавление роста было существенно больше.

В M_I больше всего растений с хлорофильными изменениями наблюдалось у обоих сортов при концентрации 8 мМ - у сорта 'Торсдаг III' 61% и у сорта 'Кийр' 82% от общего количества

растений. При других концентрациях у сорта 'Кийр' появлялось заметно большее количество растений с хлорофильными нарушениями, чем у сорта 'Торсдаг III' - при 5 мМ соответственно 60 и 27%, при 2 мМ - 32 и 12%.

У сорта 'Кийр', как более изменчивого сорта, в M_1 , в M_2 отмечено некоторое увеличение количества измененных растений, чем у сорта 'Торсдаг III', а также расширение их спектра (табл. 6 и 7). Частота мутантных семей с хлорофильными нарушениями составляла при 5 мМ 13% у сорта 'Кийр' и 11% у сорта 'Торсдаг III', при 2 мМ 11 и 9%; с морфофизиологическими изменениями соответственно 67 и 53% и 47 и 52%.

В некоторых работах по сравнению мутабельности разных сортов гороха наиболее мутабельным по частоте естественных мутаций, так же как по частоте индуцированных, указан сорт 'Торсдаг' (Сидорова и др., 1965). Одной из возможных причин большей мутабельности сорта 'Кийр' можно считать то обстоятельство, что он является молодым и еще нестабильным сортом. В ряде работ доказано увеличение чувствительности семян с возрастанием их веса. Для гороха отмечена четкая корреляция между степенью поражения и величиной зерен в опытах по радиационному мутагенезу (Хангильдин, 1965). Может быть, более высокая чувствительность к воздействию НЭМ у сорта 'Кийр' объясняется и большим размером семян - вес 1000 зерен колеблется от 240 до 320 г (у сорта 'Торсдаг III' - 170 г).

Как отмечалось выше, важнейшими изменениями в результате действия мутированного гена являются изменения в длине вегетационного периода. Получение раннеспелых форм - одна из основных задач селекции гороха. В этом направлении усиленно

работают эстонские селекционеры (Sarv, 1968). После воздействия раствора НЭМ в концентрации 5 мМ нами выделена одна константная ультраскороспелая линия (№ 5-315), которая в М₅ цвела на 7 и созрела на 9 дней раньше исходного сорта.

Выявлены широкие возможности использования химических мутагенов для индуцирования физиологических и биохимических мутантов растений, в частности гороха. Особое значение для практики имеет получение высококачественных по содержанию и составу белка мутантов гороха. Методом индуцированного мутагенеза Н.А. Соболевым с сотрудниками во Всесоюзном научно-исследовательском институте зернобобовых и крупяных культур получены высокобелковые урожайные формы гороха и подчеркнута необходимость изучения качества белка (Соболев, 1968; Соболев и др., 1971а,б). В Научно-исследовательском институте сельского хозяйства центральных районов нечерноземной зоны Г.А. Дебелым с сотрудниками сделаны большие достижения по получению продуктивных и высокобелковых форм гороха методом экспериментального мутагенеза (Дебелый и др., 1972б).

Нами выделены четыре мутантные линии у сорта "Торсдаг III" существенно превосходящие исходный сорт по содержанию белка в зерне. Содержание сырого протеина в процентах от сухого вещества у линий: № 5-52 - 28; № 2-229 - 27; № 10-42 - 26; № 2-12 - 26; у исходного сорта - 22 (табл. 16). При изучении качества белка в зерне мутантов, превышающих исходный сорт по содержанию белка, найдено, что среди незаменимых аминокислот наиболее часто меняется содержание метионина, лейцина и лизина. Ценность белка гороха определяется содержанием метионина. В этом отношении наши мутанты № 5-52; 2-229 и 2-12

представляют ценность, так как содержание метионина у них составляет 0,21% от суммарного белка (у исходного сорта 0,13%, табл. 18). Но, учитывая отношение общего содержания всех незаменимых аминокислот к общему содержанию заменимых, нам представляется, что большую перспективу имеет индивидуальный отбор среди мутантов с умеренным повышением общего содержания белка в зерне (табл. 18).

ВЫВОДЫ

На основании исследований по изучению генетического и физиологического действия N-нитрозо-N-этилмочевины на зерновой горох сортов 'Кийр' и 'Торсдаг III' можно сделать следующие выводы:

1. Отмечена четкая корреляция между мутагенной активностью и физиологическим действием N-нитрозо-N-этилмочевины у обоих исследуемых сортов гороха.
2. Максимальная частота мутаций в M_2 наблюдалась в результате действия доз, при которых M_1 выживало 70-80% растений.
3. При использовании относительно слабых доз отмечался стимулирующий эффект по различным физиологическим показателям в M_1 и M_2 . Выход мутаций при таких дозах крайне низок.
4. Выявлены различия между изучаемыми сортами по степени физиологического повреждения растений, по критериям всхожести семян, выживаемости и стерильности растений, а также количеству угнетенных растений.
5. Определена некоторая специфичность реакции сортов на воздействие N-нитрозо-N-этилмочевиной, проявляющаяся в различной мутабельности их и различии в спектрах мутаций.
6. Обнаружены значительные изменения в физиолого-биохимических показателях у растений M_1 под действием N-нитрозо-N-этилмочевины. Обработка семян мутагеном снижало содержание хлорофилла в растениях, особенно содержание хлорофилла b. Поглощение кислорода проростками после обработки семян мутагеном увеличивалось по сравнению с контролем. При дозах

мутагена, вызывающих самое большое отклонение интенсивности дыхания от нормы, в следующих поколениях наблюдался наибольший выход мутаций.

7. Содержание хлорофилла у хлорофильных мутантов колебалось от уменьшения на 95% до увеличения на 35% по сравнению с исходным сортом.

8. При повышенном содержании хлорофиллов у мутантных форм отмечалась пониженная интенсивность дыхания и наоборот. При увеличении отношения хлорофилла а к хлорофиллу б отмечалось более интенсивное дыхание.

9. Белковость семян являлась при обработке семян N-нитрозо-N-этилмочевинной сильно варьирующим признаком. Индивидуальным отбором среди мутантов можно выделить формы с повышенным содержанием белка в зерне.

10. В результате воздействия N-нитрозо-N-этилмочевинной возможно изменение содержания незаменимых аминокислот в зерне гороха, особенно метионина, лизина и лейцина.

11. Повышение общего содержания белка не всегда сопровождалось сохранением его качественных показателей. Для выделения новых форм гороха, ценных по качеству белка, следует использовать мутантные формы с умеренным повышением общего содержания сырого протеина.

12. У сорта *Торсдаг III* выделено шесть перспективных для селекции мутантных линий, отличающихся морфофизиологическими изменениями, среди них 4 линии существенно превосходят исходный сорт по содержанию белка в зерне.

- Быковец А.Г., Васякин Н.М., 1971. Использование химических мутагенов в селекции гороха и других зернобобовых культур. В сб.: Практика химического мутагенеза : 106-III, М.
- Варшавер Н.Б., 1965. Генетика соматических клеток млекопитающих и человека in vitro. В кн.: Общая генетика : 173-232, М.
- Ветштейн Д., 1962. Формирование пластидных структур. В кн.: Структура и функция фотосинтетического аппарата, М.
- Вознесенский В.Л., Заленский О.В., Семикатова О.А., 1965. Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений, М.-Л.
- Володин В.И., Соболев Н.А., Масолова В.И., 1971. Сообщ. 2. Фракционный и аминокислотный состав белка двух мутантных линий гороха 'Раман'. В сб.: Практика химического мутагенеза : 74-80, М.
- Гелин О., 1957. Радиоактивные излучения и селекция растений : 156, М.
- Гершкович И., 1968. Генетика : 206, М.
- Годнев Т.Н., 1963. Хлорофилл, его строение и образование в растений, Минск.
- Гостимский С.А., 1965. Действие химических мутагенов на две разновидности гороха. Бюлл. МОИП, отд. биол. 70 (4) : 148-152.
- Гостимский С.А., 1966. Получение хлорофильных мутаций у гороха (Pisum sativum L.) и анализ их физиологической природы. Автореф. дисс. канд. биол. наук, М.
- Гостимский С.А., 1971. Цитогенетический анализ хлорофильных мутантов гороха. В сб.: Теория химического мутагенеза : 64-69, М.
- Гостимский С.А., Хвостова В.В., 1965. Изменение частоты хромосомных перестроек, возникающих под действием этиленimina

в первом митозе корешков гороха. Докл. АН СССР 162 (1) : 197-200.

Гребенникова Л.П., 1969. Результаты изучения γ -лучей на рост и развитие гороха. Науч. тр. Ставропольского с.-х. ин-та 32 (1) : 161-165.

Гребенникова Л.П., 1971. Использование некоторых химических мутагенов и ионизирующих излучений для получения исходного материала гороха. В сб.: Практика химического мутагенеза : III-III6, М.

Гукова М.М., Буткевич В.С., 1941. Интенсивность фотосинтеза у бобовых при питании связанным и свободным азотом. Докл. АН СССР 31 (9) : 933-936.

Гуманов Л.Л., 1969. Молекулярные механизмы химического мутагенеза. В сб.: Усп. соврем. генетики 2 : 96-124.

Гуманов Л.Л., Бедняк А.Е., Норенко Н.П., 1966а. Мутагенное действие N-нитрозоалкилмочевин. В сб. : Супермутагены : 34-42, М.

Гуманов Л.Л., Норенко Н.П., 1966б. Специфичность мутагенного действия N-нитрозоалкилмочевин на различных видах актиномицетов. В сб.: Супермутагены : 42-48, М.

Гуманов Л.Л., Норенко Н.Л., Кононова С.Д., 1965. Мутагенное действие нитрозоэтилмочевин на Actinomyces sphaeroides. Докл. АН СССР 160 (6) : 1404-1406.

Густафссон А., 1968. Мутационная теория и ее применение в селекции растений. С.-х. биол. 3 (1) : 26-37.

Дачолпте Я.А., 1969. Мутагенное действие алкилирующих соединений на Bacillus subtilis, продуцирующего протеолитические ферменты. 2 Всес. биохим. съезд, секция Биохим. генетики, Ташкент.

Гуманов
Л.Л.
1966б

л. д.

- Дебелый Г.А., 1963. Получение исходного материала в селекционной работе с горохом с помощью ионизирующих излучений. Тезисы докладов семинара по применению источников ядерных излучений для повышения урожайности с.-х. культур и получения новых хозяйственно-ценных форм растений : 44-46, М.
- Дебелый Г.А., 1966. Получение исходного материала для селекции гороха под воздействием мутагенных факторов. Автореф. дисс. канд. с.-х. наук, М.
- Дебелый Г.А., 1971. Некоторые вопросы методики селекции гороха для условий центральных областей нечерноземной зоны. В сб.: Методы исследований с зернобобовыми культурами I : 127-131, Орел.
- Дебелый Г.А., Бежанидзе О.И., 1972а. 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 : 264-268, М. + Дебелый Г.А. м.т. 1972
- Дебелый Г.А., Рыжков Г.Ф., Бежанидзе О.И., 1972б. Биохимические исследования макромутантов гороха. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала : 257-260, М. +
- Делоне Л.Н., 1932. Рентгеномутации у пшеницы. Тр. Лаб. генетики АН СССР (9) : 173-180, М. +
- Делоне Л.Н., 1934. Экспериментальное получение мутаций у пшеницы. Укр. ин-т растениеводства, Харьков. +
- Диллер В.Я., 1971. Мутагенная активность химических агентов у сельскохозяйственных растений. Генетика и селекция. Материалы I межреспубликанской конференции по проблемам генетики и селекции : 151-152, Вильнюс. +

- Долгих С.Г., Тарасенков И.И., 1968. Действие химических мутагенов на некоторые овощные культуры. В сб.: Мутационная селекция : 138-149, М.
- Домрачева А.Г., 1971. Некоторые вопросы мутагенного и канцерогенного действия нитрозосоединений. В сб.: Химический мутагенез и селекция : 99-113, М.
- Дубинин Н.П., 1965. Достижения генетики - сельскому хозяйству. Генетика I (I) : 50-66.
- Дубинин Н.П., Сойфер В.Н., 1970. Актуальные проблемы современной теории мутаций. Изв. АН СССР, серия биол. 4 : 483-498.
- Дубинин Н.П., Хвостова В.В., Делоне Л.Н., 1960. Ионизирующие излучения и селекция растений. В сб.: Ионизирующие излучения и наследственность : 292-323, М.
- Дубинин Н.П., Щербаков В.К., 1964. Ценные процессы при генетическом действии радиации и радиоимитических веществ. Всес. съезд рентгенологов и радиобиологов : 204, Ташкент.
- Дубинина Л.Г., Дубинин Н.П., 1970. Модифицирование химического и радиационного мутагенеза и метаболизм. Докл. АН СССР 193 (5) : 1167-1170.
- Един Г.К., 1936. Рентгеномутанты вики и гороха. Докл. ВАСХНИЛ 3. ^{Ла}
- Енкен В.Б., Сидорова К.К., 1964. Различия в мутационной изменчивости двух сортов гороха. Изв. СО АН СССР, серия биол.-мед. I (4) : 74-82.
- Енкен В.Б., Сидорова К.К., 1966. Опыт сравнения на горохе мутацонного действия γ -лучей, этиленimina и этилметансульфоната. В сб.: Влияние ионизирующего излучения на наследственность : 287-293, М.

- Бикен В.Б., Чекуров В.М., 1968. Мутагенная активность N -нитрозэтилмочевины на сое. В сб.: Мутационная селекция : 83-88, М.
- Бикен В.Б., 1965а. Роль сорта в экспериментальной мутагенезе. Генетика I (2) : 124-135.
- Бикен В.Б., 1965б. Роль сорта при использовании в селекции радиации и химических мутагенов. В сб.: Радиация и селекция растений : 50-59, М.
- Бикен В.Б., 1966. Роль генотипа в экспериментальном мутагенезе. Тр. МОИП 23 : 23-34.
- Карикова Л.Д., 1968. Изменчивость сортов гороха под воздействием химических мутагенов. В сб.: Мутационная селекция: 97-102, М.
- Кунусов Р.С., 1964. Некоторые биохимические изменения при облучении растений в различные периоды онтогенеза. Автореф. дисс. канд. с.-х. наук, Л.
- Заиров С.А., 1963. Белковый комплекс семян гороха. Тр. ВНИИ зерна и продуктов его переработки 48 : 27-37.
- Зоз Н.Н., 1961. Изменчивость пшрейно-пшеничных гибридов под воздействием химических мутагенов. Докл. АН СССР 137 (2) : 426-427.
- Зоз Н.Н., 1962. Наследование изменений, вызванных химическими мутагенами у пшенично-пшрейных гибридов. Докл. АН СССР 145 (1) : 187-188.
- Зоз Н.Н., 1963. Изменчивость пшенично-пшрейных гибридов, вызванная химическим воздействием. Автореф. дисс. канд. биол. наук, Минск.
- Зоз Н.Н., 1964. Об использовании химических соединений в селекции растений. Агрохимия (7) : 130-135.

- Зоз Н.Н., 1966. Химический мутагенез у высших растений. В сб.: Супермутагены : 93-105, М.
- Зоз Н.Н., 1968а. Специфичность химического мутагенеза на растениях. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 162-171, М.
- Зоз Н.Н., 1968б. Задачи и проблемы химической селекции растений. В сб.: Мутационная селекция : 5-10, М.
- Зоз Н.Н., 1969. Закономерности действия химических мутагенов на высшие растения. Автореф. дисс. докт. биол. наук, Новосибирск.
- Зоз Н.Н., 1971а. Исследование зависимости действия химических мутагенов от дозы. В сб.: Химический мутагенез и селекция : 161-169, М.
- Зоз Н.Н., 1971б. Исследование факторов, влияющих на эффективность химических мутагенов при воздействии на семена. В сб.: Химический мутагенез и селекция : 169-173, М.
- Зоз Н.Н., Абрамов В.И., Серебряный А.И., Южа В., 1973. Природа индуцированных доминантных мутантов пшеницы. В сб.: Применение химических мутагенов в сельском хозяйстве и медицине : 172-189, М.
- Зоз Н.Н., Дубинин Н.П., 1961. Химическое получение мутаций у пшеницы. Докл. АН СССР 137 (3) : 704-705.
- Зоз Н.Н., Колотенков П.В., 1968. Зависимость частоты мутаций у гороха от экспозиции и концентрации N -нитрозотетра-мочевина. В сб.: Мутационная селекция : 214-217, М.
- Зоз Н.Н., Колотенков П.В., Макарова С.Н., 1964а. Мутации гороха, вызванные этиленмином и его производным в третьем поколении. Докл. АН СССР 164 (5) : 1159-1160.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алиханян С.И., 1961. Химический мутагенез. Ж. ВХО им. Менделеева 6 (3) : 285-292. +
- Алиханян С.И., 1967. Современная генетика. М. +
- Алиханян С.И., Жданова Н.И., 1960. Сравнительный эффект этилена, ультрафиолетовых и рентгеновых лучей. Докл. АН СССР 133 (2) : 454-456. +
- Андреева Г.В., 1969. Белковый комплекс семян представителей рода Pisum в процессе созревания. Сб. тр. аспирантов и мл. научн. сотр. ВПР 10 (14) : 276-282. +
- Ассеева Т.В., Благовидова М.И., 1935. Искусственные мутации у картофеля. Соц. растениеводство (15) : 81-85. +
- Атабекова А.И., 1936. Действие рентгеновых лучей на семена и проростки гороха. Биол. ж. (5) : 1. *h-d.* +
- Ауэрбах Ш., 1966. Роль мутагенной специфичности в получении мутаций. Генетика 2 (1) : 3-11. +
- Ахунд-Заде А.И., 1965. Сравнительное изучение действия излучений и химических мутагенов на хромосомы гороха. Генетика 1 (2) : 119-123. +
- Ахунд-Заде А.И., 1966. Сравнительное изучение повреждающего и мутагенного действия радиации и алкилирующих соединений при воздействии на семена гороха и ячменя. Изв. АН Аз. ССР, серия биол. (6) : 40-48. +
- Ахунд-Заде А.И., 1967. Цитогенетический анализ мутагенного действия радиации и химических мутагенов (Pisum sativum). Автореф. дисс. канд. биол. наук. Баку. +
- Бак З., Александр П., 1963. Основы радиобиологии. М. +

- Бартошевич Ю.Э., 1966а. Этиленимин и мутационный процесс. +
В сб.: Супермутagens : 211-268, М.
- Бартошевич Ю.Э., 1966б. Сравнительное изучение генетической +
активности N-нитрозоэтилмочевины с физическими и хими-
ческими мутагенами. В сб.: Супермутagens : 23-33, М.
- Бартошевич Ю.Э., Костяновский Р.Г., 1965. Мутагенная актив- +
ность N-замещенных этиленимина. Антибиотики 10 (12) :
1069-1078.
- Бартошевич Ю.Э., Филиппова П.Н., Костяновский Р.Г., 1966. +
Химические мутагены. Исследование мутагенной активности
производных этиленимина, уретиланов, нитрозоуретиланов и
диазокетонов на Actinomyces streptomycini Kras. и Dro-
sophila melanogaster. Сообщ. 3. Генетика 2 (4) : 147-155.
- Батыгин Н.Ф., Питиримова М.А., 1969. Влияние условий выращи- +
вания первого поколения ячменя сорта 'Винер' на частоту
и характер хлорофильных мутаций в M₂. В сб.: Радиационная
биофизика и радиобиология растений : 84-86, Л.
- Батыгин Н.Ф., Питиримова М.А., 1972. Влияние гамма-лучей и ал- +
калирующих соединений на изменчивость ячменя при обработке
растений в различные периоды онтогенеза. В сб.: Индуциро-
ванный мутагенез у растений : 13-19, Таллин.
- Бедняк А.Е., 1970. Механизму действия химических мутагенов +
группы N-нитрозо-N-алкилмочевины. Докл. АН СССР 195 (3)
: 715-718.
- Бедняк А.Е., Дружков А.А., 1971. Изучение продуктов взаимо- +
действия нитрозометилмочевины с нуклеиновыми кислотами.
В сб.: Химический мутагенез и селекция : 130-135, М.

- Бедняк А.Е., Сизова С.Т., 1968. Исследование продуктов химического взаимодействия *N*-нитрозо-*N*-метилмочевины с компонентами нуклеиновых кислот. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 20-26, М. †
- Бенкен И.И., 1966. Биохимическое изучение агроэкологических групп гороха. Сб. тр. аспирантов и мл. научн. сотр. ВИР (7) : 191-200. †
- Бейли Н., 1964. Статистические методы в биологии М. †
- Бейсенбаев С.Б., 1971. Изучение эффективности химических мутагенов на горохе. В сб.: Теория химического мутагенеза : 197-201, М. †
- Бляндур О.В., Лысиков В.Н., 1970. Каталог мутантных линий кукурузы, полученных методом экспериментального мутагенеза в Молдавии, Кишинев. †
- Бляндур О.В., Лысиков В.Н., 1972. Экспериментальный мутагенез линейной кукурузы, Кишинев. †
- Богданова Е.Д., Омарова Э.И., 1969. Изучение некоторых физиолого-биохимических показателей пшеницы *Казахстанская 126* и её мутантов, индуцированных никотиновой кислотой. 2 Всес. биохим. съезд, секция биохим. генетики, Ташкент. *Богданова и др. 1970 в 4/80* †
- Богорад Л., 1968. Порфирины и желчные пигменты. Биохимия растений : 437-464, М. †
- Богорад Л., Пайрс Дж., Свайфт Х., Макилрат В., 1962. Структура хлоропластов в ткани листа растения Xanthium, не содержащего железа. В кн.: Структура и функция фотосинтетического аппарата : 144-147, М. †
- Бреславец Л.П., 1946. Растения и лучи рентгена, М.-Л. †
- Бурдун А.М., 1969. Наследование количества белка в семенах гороха. Автореф. дисс. канд. биол. наук, Краснодар. †

- Зоз Н.Н., Макарова С.И., 1964. К методике применения химических мутагенов в селекции растений. *Агрохимия* (2) : 93-100. +
- Зоз Н.Н., Макарова С.И., Колотенков П.В., Сальникова Т.В., Кожанова Н.П., Григорова Н.В., 1964. Изменчивость племениды, вызванная химическими мутагенами в первом поколении после воздействия. *Докл. АН СССР* 159 (4) : 915-917. +
- Зоз Н.Н., Рапопорт И.А., 1971. Закономерности химического мутагенеза на культурных растениях. В сб.: *Химический мутагенез и селекция* : 136-147. М. +
- Калам Ю., 1971. О возможности применения метода корреляционных племид в радиобиологических исследованиях. *Изв. АН ЭССР, серия биол.* 20 (1) : 66-69. +
- Калам Ю., Майер М., 1971. К вопросу о характеристике хлорофильных мутаций культурных растений. *Изв. АН ЭССР, серия биол.* 20 (2) : 183-185. +
- Каск К., 1972. Использование нитрозоалкилмочевин в онтах с плодовыми культурами. В сб.: *Индукцированный мутагенез у растений* : 270-276, Таллин. +
- Керкис Ю.А., Столбова Н.Г., 1966. Исследование мутагенного действия N -нитрозо- N -метилмочевин на эмбриональные фибробласты человека. *Генетика* 2 (9) : 170-172. +
- Клименко В.Г., Ткаченко Р.Н., 1969. Исследование белков созревающих семян гороха. *Физиол. и биохимия культ. раст.* 1 (2) : 167-172. +
- Кожанова Н.Н., Григорова Н.В., Зоз Н.Н., 1966. Методы обработки семян химическими мутагенами. В сб.: *Супермутагены* : 140-142, М. +

- Колотенков П.В., 1968. Зависимость спектра мутаций гороха от мутагена и сорта. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 216-223, М. +
- Колотенков П.В., Зоз Н.Н., Макарова С.И., 1966. Экспериментальные мутации гороха. В сб.: Супермутагены : 135-140, М. +
- Колотенков П.В., Зоз Н.Н., 1968. Зависимость действия N-нитрозозетилмочевины от концентрации раствора и экспозиции. Генетика 4 (1) : 157-159. Колотенков и др. 1968 +
- Копонова С.Д., Сизова С.Т., Сушков В.В., Гуманов Л.Л., 1968. К вопросу о механизме мутагенного действия N-нитрозо-N-метилмочевины на бактерифаг Т 4В. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 76-80, М. +
- Концур Н.В., 1969. Зародышевая настройка дыхания растений. В сб.: Пути повышения интенсивности и продуктивности фотосинтеза : 208-212. +
- Корытова А.И., 1971. Модифицирующее действие хранения и физиологически активных веществ на семена, предварительно обработанные рентгеновскими лучами и этиленоксином. Автореф. канд. дисс. биол. наук, М. +
- Красной С.Я., 1935. Экспериментальное получение мутаций у Pisum sativum. О затяжной модификации хромосом, вызванной рентгеновскими лучами. Докл. АН СССР 1 (7-8) : 549-551. +
- Лук Ф., 1964. Генетический код I. В сб.: Структура и функции клетки, М. !
- Муханова Н.С., 1969. Об азотистых веществах в листьях и зерне гороха при подкормке микроэлементами. Тр. Харьковского с.-х. ин-та 78 (115) : 46-48. +
- Милес А., 1970. Генетические эффекты алкилирующих соединений, М. +

Ли Л.М., Безанидзе О.И., 1973. Влияние химических и физических мутагенов на содержание белка у гороха. В сб.: Применение химических мутагенов в сельском хозяйстве и медицине : 240-244, М.

Добашев М.И., Смирнов Ф.А., 1934. К природе действия химических агентов на мутационные процессы у Drosophila melanogaster. Докл. АН СССР 2 (5) : 307-311.

Дукманов Ф.Г., 1969. Метаболизм углерода в процессе фотосинтеза у гороха в зависимости от условий внесения калийных удобрений. В сб.: Минеральные элементы и механизм фотосинтеза : 49-53, Казань.

Дутков А.И., 1937а. Хлорофильные мутации и другие типы наследственных изменений у Hordeum, полученные под влиянием X-лучей. Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции 2 (7). *in d*

Дутков А.И., 1937б. Реципрокные транслокации и факториальные мутации у Pisum sativum, полученные под действием X-лучей на пыльцу. Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции 2 (7) : 377-416.

Макарова С.И., 1966. Некоторые закономерности действия N-нитроазалкилмочевины на растения. В сб.: Супермутагены : 116-121, М.

Макашева Р.Х., Осипова Е.И., 1953. Горох. В сб.: Зерновые бобовые культуры : 7-75, М.-Л.

Максимова Р.А., Рапопорт И.А., 1967. Изучение мутагенного действия нитрозометилмочевины на продуцент антибиотика трихотецина Trichothecium roseum Link. Генетика 3 (3) : 107-113.

- Мальченко В.В., 1968. О значении генотипа и мутагенного фактора в экспериментальном мутагенезе сои. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 223-228, М.
- Маркин Б.Г., 1969. Влияние регуляторов роста на урожай и некоторые биохимические показатели гороха сорта "Рамонский" 77'. Научн. тр. Ставропольского с.-х. ин-та I (32) : 77-81.
- Марх А.Т., Юрченко С.И., 1965. Аминокислоты свежей и консервированной сахарной кукурузы и зеленого горошка. Прикл. биохимия и микробиология I (2) : 191-197.
- Матвиенко Л.Н., 1968а. Изменчивость в M_I различных сортов гороха. В сб.: Мутационная селекция : 256-260, М.
- Матвиенко Л.Н., 1968б. Особенности метаболизма в проростках гороха, обработанных N -нитрозометилмочевинной. В сб.: Мутационная селекция : 278-281, М.
- Матвиенко Л.Н., 1971. Мутагенная активность N -нитрозоэтилмочевины у различных сортов гороха. В сб.: Теория химического мутагенеза : 186-192, М.
- Матвиенко Л.Н., Серебряный А.М., 1969. Мутагенное действие изоциановой кислоты и изоцианата калия. Докл. АН СССР 187 (5) : 1169-1170.
- Механджиев А., Васильева М., 1970. Радиочувствительность и мутабилность при граха. Генетика и селекция (НРБ) 3 (4) : 301-308, София.
- Миллов В.М., 1969. Изменчивость содержания белка и сахаров в роде *Pisum*. Зап. Ленингр. с.-х. ин-та 128 (5) : 33-39.
- Митцинг А., 1963. Генетические исследования : 68, М.
- Надсон Г.А., Филиппов Г.С., 1925. О влиянии рентгеновских лучей на половой процесс и образование мутантов у низших грибов (*Miscogaseae*). Вестн. рентгенологии и радиобиологии 3 (6) : 305-310.

- Назаров С.П., Егорова Л.П., 1969а. Влияние различных доз γ -облучения на рост и развитие гороха в первом поколении. Уч. зап. Мордовского ун-та (74) : 3-19. +
- Назаров С.П., Егорова Л.П., 1969б. Сравнительное изучение действия химических и физических мутагенов на сорт гороха 'Пионер'. Уч. зап. Мордовского ун-та (84) : 3-9. +
- Найлен Р.А., 1967. Природа индуцированных мутаций у высших растений. Генетика 3 (3) : 3-21. +
- Неклюдов Б.М., Антонова Г.А., Ушаков В.А., 1970. Изменчивость признака белковости у гороха. Селекция и семеноводство (1) : 33-36. +
- Неклюдов Б.М., Антонова Г.А., 1973. Наследование белковости у гороха. Селекция и семеноводство (1) : 33-36. *желтый и др. ф.*
- Неменман М.Е., Цегельский В.И., Матюшевская И.М., 1965. Автокод для решения инженерных задач на машине Минск-2, Минск. ^{32?}
- Никифоров В.Г., 1965. Химический мутагенез. Вкн.: Общая генетика : 113-172. +
- Никифорова И.Л., 1968. Изменчивость ячменя, вызванная химическими мутагенами. В сб.: Мутационная селекция : 41-52, М. +
- Ниренберг Н., 1964. Генетический код II. В сб.: Структура и функция клетки, М. +
- Оганесян М.Г., 1969. Специфичность мутагенеза. Биол. ж. Армении 22 (12) : 27-35. +
- Орав Т.А., 1960. Влияние γ -лучей Co-60 на рост и развитие некоторых злаковых. Тр. Ин-та эксп. биол. ЭССР I : 156-170, Таллин. +
- Оре В., 1965. Радиочувствительность различных сортов гороха. В сб.: Ионизирующие излучения в биологии : 91-96, Рига. +

1965?

- Осипова О.П., Взаимосвязь структуры и функции фотосинтетического аппарата. В сб.: Биохимия и биофизика фотосинтеза : 146. +
- Павлова А.Г., 1971. Эффективность воздействия химическими мутагенами на растения в газовой фазе. В сб.: Практика химического мутагенеза : 254-261, М. +
- Павлова А.Г., 1972а. Комбинированное действие химических мутагенов в водном растворе и газовой фазе. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала : 173-176, М. +
- Павлова А.Г., 1972б. Изучение действия химических мутагенов в газовой фазе на растения. Автореф. дисс. канд. биол. наук, М. +
- Павлова А.Г., Зоз Н.Н., 1971. Метод воздействия на растения химическими мутагенами в газовой фазе. В сб.: Теория химического мутагенеза : 216-220, М. +
- Петербургский А.В., 1968. Практикум по агрономической химии, М. +
- Першуткина О.А., Яшина И.М., 1968. Действие химических мутагенов на разные виды картофеля. В сб.: Мутационная селекция : 112-117, М. +
- Шнегина Р.Н., Клименко В.Г., 1959. Изменчивость содержания белков, углеводов и жиров в зерне и вегетативной массе некоторых сортов гороха. Тр. по химии природных соединений 2 : 119-128. +
- Штиримова М.А., 1970. Исследование реакции растительного организма на действие γ -лучей и алкилирующих соединений на примере двурядного ячменя. Автореф. дисс. канд. биол. наук, Л. +

- Попова И.А., 1968. Применение некоторых химических мутагенов в селекции гороха на Грибовской овощной селекционной станции. В сб.: Мутационная селекция : 260-261, М.
- Попова И.А., 1971. Применение химических мутагенов в селекции овощного гороха на Грибовской овощной селекционной станции. В сб.: Практика химического мутагенеза : 103-106, М.
- Преображенская Е.И., 1969. Радиочувствительность семян гороха (*Pisum sativum* L.) сорта 'Виктория Мандорфская'. В сб.: Радиационная биофизика и радиобиология растений : 135-138, Л.
- Протопопова Е.М., Шевченко В.В., Григорьева Г.А., 1969. Изменение мутагенного действия этиленimina под влиянием клеточных метаболитов. Докл. АН СССР 186 (2) : 464-467.
- Ражабли С.И., Целлариус С.Ф., Бакуменко Н.Г., 1966. Действие N-нитрозометилмочвины на клетки млекопитающих и человека. В сб.: Супермутагены : 85-89, М.
- Ранчялис В.П., Баранаускайте А.П., Юргалайтите Н.В., Яцунскайте В.Н., 1966. Модификации как модель для сравнительного изучения мутагенных веществ. Генетика 2 (6) : 70-80.
- Рапопорт И.А., 1936. Quadruple-Bar у Drosophila melanogaster. Бюлл. эксп. биол. 2 (4) : 250-260.
- Рапопорт И.А., 1946. Карбонильные соединения и химический механизм мутаций. Докл. АН СССР 54 (1) : 65-67.
- Рапопорт И.А., 1947а. Наследственные изменения, происходящие под влиянием диэтилсульфата и диметилсульфата. Докл. ВАСХНИЛ 12 (10) : 12-15.

- Рапопорт И.А., 1947б. Химическая реакция с аминогруппой протеина в структуре генов. Ж. общ. биологии 8 (5) : 359-379. +
- Рапопорт И.А., 1948а. Действие этиленоксида, глицина и гли-^{1948г} коля на генные мутации. Докл. АН СССР 60 (3) : 465-472. ^{ли. 6}
- Рапопорт И.А., 1948б. Алкилирование генной молекулы. Докл. АН СССР 59 : 1183-1186. +
- Рапопорт И.А., 1960. Мутационное действие 1,4-бисдиазоацетил-бутана. Докл. АН СССР 130 (5) : 1134-1137. +
- Рапопорт И.А., 1962а. Взаимодействие этиленimina с генными белками и наследственные изменения. Бюлл. МОИП, отд. биол. 67 (1) : 96-114. +
- Рапопорт И.А., 1962б. 85% мутаций в половой хромосоме под влиянием нитрозоэтилмочевины. Докл. АН СССР 146 (6) : 1418-1421. +
- Рапопорт И.А., 1962в. Зависимость этилениминовых мутаций от дозы и стадии гаметогенеза. Бюлл. МОИП, отд. биол. 67 (4) : 109-123. +
- Рапопорт И.А., 1963. Преодоление универсального мутационного барьера с мутациями X-хромосомы более, чем 100%. Докл. АН СССР 148 (3) : 696-699. +
- Рапопорт И.А., 1965а. Мутагенный эффект уретана в газовой фазе и в присутствии кислорода. Генетика 1 (1) : 130-141. +
- Рапопорт И.А., 1965б. Мутагенное действие диэтилсульфата-газа в больших объемах. Генетика 1 (1) : 142-152. +
- Рапопорт И.А., 1966. Особенности и механизмы действия супермутагенов. В сб.: Супермутагены : 9-23, М. +
- Рапопорт И.А., 1968. Двойная генетическая стимуляция, индуцированная супермутагенами. В сб.: Мутационная селекция 5 230-241, М. +

- Рапопорт И.А., 1969. Механизм мутационного эффекта N-нитрозо-
соединений и правило прямого действия мутагенов. Докл.
АН СССР 189 (2) : 407-410. +
- Рапопорт И.А., 1970. Химические мутагены, опасные для чело-
века. В кн.: Проблемы медицинской генетики : 249-266, М. +
- Рапопорт И.А., 1971. Перспективы применения химического мута-
гена в селекции. В сб.: Химический мутагенез и селек-
ция : 3-13, М. +
- Рапопорт И.А., Домрачева А.Г., 1971. Повышение частоты обрат-
ных мутаций под влиянием N-нитрозометилмочевины в 100
тыс. раз. В сб.: Химический мутагенез и селекция : 18-28, М. +
- Рапопорт И.А., Зоз Н.Н., 1962. Химические мутации без наруше-
ния целостности хромосом. Цитология 4 (3) : 330-334. +
- Рапопорт И.А., Зоз Н.Н., Сальникова Т.В., Павлова А.Г., 1972. +
Предисловие к сб.: Химический мутагенез и создание селек-
ционного материала, М.
- Родин Е.А., 1967. Химический состав семян гороха сорта "Торсдаг"
при различных сроках уборки. Тр. Кировского с.-х. ин-та
19 (37) : 62-68. +
- Росс У., 1964. Биологические алкилирующие вещества, М. +
- Рубин Б.А., Ладыгина М.Е., 1966. Энзимология и биология дыхания
растений, М. ✓
- Руденко А.И., 1950. Определение фаз развития сельскохозяйствен-
ных растений, М. +
- Рыбаков Н.М., Балашов Г.Н., 1971. Предварительные результаты
изучения действия химических мутагенов на мутабельность
гороха в условиях Молдавии. В сб.: Практика химического
мутагенеза : 100-102, М. +

- Ряднова И.М., Бремин Т.В., Ишонова С.И., 1968. Получение мутаций у плодовых культур при помощи химических мутагенов. В сб.: Мутационная селекция : 167-171, М.
- Сальникова Т.В., Зоз Н.Н., 1965. Типы доминантных мутаций, вызванных химическими мутагенами. Агрехимия (2) : 142-145.
- Сальникова Т.В., Зоз Н.Н., 1966. Типы доминантных мутаций, вызванных химическими мутагенами. В сб.: Супермутагены : 121-130, М.
- Сапегин А.А., 1934. Рентгеномутации, как источник новых сортов растений. Природа 9 : 28-31.
- Сапегин А.А., 1936. Рентгено-мутации у мягкой пшеницы. Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции 2 (9) : 3-11.
- Сафин М.К., Зосимович В.П., 1968. Стимуляция роста у гороха во втором поколении при воздействии 1,4-бисдиазоацетилбутаном. Тезисы докл. симп. "Применение экспериментальных мутаций в селекции растений," Киев.
- Сахаров В.В., 1932. Иод как химический фактор, действующий на мутагенный процесс у Drosophila melanogaster. Биол. ж. I (3-4) : 1-8.
- Семикатова О.А., Чулановская М.В., 1965. Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений, М.-Л.
- Серебряный А.М., Смотряева М.А., Круглякова К.Е., Костяновский Р.Г., 1969. Карбамоилирование ДНК μ -нитрозо- μ -метилмо-чевиной. Докл. АН СССР 185 (4) : 847-849.
- Сидорова К.К., 1965. Использование индуцированных мутаций в селекции гороха. Селекция и семеноводство 4 (30) : 50-52.

- Сидорова К.К., 1966. Хлорофильные мутации как показатель различий в мутабельности сортов гороха. Генетика 2 (6) : 81-87. +
- Сидорова К.К., 1968а. Влияние химических мутагенов и гамма-лучей на мутационную изменчивость у разных сортов гороха. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 204-216, М. +
- Сидорова К.К., 1968б. Использование индуцированных мутаций в селекции гороха. Тезисы докл. симп. "Применение экспериментальных мутаций в селекции растений," Киев. +
- Сидорова К.К., 1968в. Изучение генетической природы индуцированных мутантов гороха. Генетика 4 (6) : 13-21. +
- Сидорова К.К., 1969. Экологическое изучение мутантов гороха. В сб.: Физиология и биохимия растений 1 : 58-61, Иркутск. +
- Сидорова К.К., 1971а. Особенности мутационной изменчивости у гороха (*Pisum sativum* L.). В сб.: Практика химического мутагенеза : 84-89, М. +
- Сидорова К.К., 1971б. Методы использования индуцированных мутантов в селекции гороха. В сб.: Методы использований с зернобобовыми культурами 1 : 33-38, Орел. +
- Сидорова К.К., 1972. Приемы, повышающие выход мутаций у гороха. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала : 178-183, М. +
- Сидорова К.К., 1973. Изучение закономерностей экспериментальной мутационной изменчивости у высших растений на примере *Pisum sativum* L. . Автореф. дисс. докт. биол. наук, Новосибирск. +
- Сидорова К.К., Калинина Н.П., Ужинцева Л.П., 1965. Особенности мутационной изменчивости сортов и форм гороха. Генетика 1 +

- Сидорова К.К., Калинина Н.П., Ужинцева Л.П., 1966. Особенности мутационной изменчивости сортов и форм гороха. В сб.: Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений, его использование в селекции : 141, М. +
- Сидорова К.К., Калинина Н.П., Ужинцева Л.П., 1967. Сравнительное изучение радиочувствительности и мутабельности разных сортов гороха при γ -облучения. Генетика 3 (4) : 37-45. +
- Сидорова К.К., Хангильдин В.В., Дебелый Г.А., 1969. Экспериментальный мутагенез в селекции гороха. С.-х. биол. 4 (4) : 538-543. + a
- Сидорова К.К., Хвостова В.В., Калинина Н.П., 1969. Радиочувствительность индуцированных мутантов гороха. Генетика 5 (4) : 5-12. + б.
- Сидорова К.К., Хвостова В.В., 1971. К изучению экологии мутантного гена. В сб.: Теория химического мутагенеза : 147-154, М. +
- Слободская Г.А., Гришина Г.С., Ничипорович А.А., 1970. Ингибирование фотосинтеза кислородом при различном азотном питании растений. Физиология растений 17 (2) : 244-252. +
- Соболев Н.А., 1966. Применение химических мутагенов в селекции зерновых бобовых культур. В сб.: Супермутагены : 173-184, М. +
- Соболев Н.А., 1968. Выделение мутантов у некоторых зерновых бобовых культур. В сб.: Мутационная селекция : 77-83, М. +
- Соболев Н.А., 1971. О методах генетических и селекционных исследований в связи с особенностями зерновых бобовых культур. В сб.: Методы исследований с зернобобовыми культурами I : 18-32, Орел. +

- Соболев Н.А., 1973. Разработка методических основ мутационной селекции растений во Всесоюзном научно-исследовательском институте зернобобовых культур. В сб.: Методы экспериментального мутагенеза. Итоги работ по использованию мутагенных факторов в селекции растений : 26-27, М.
- Соболев Н.А., Володин В.И., Масолова В.И., 1971а. Изменение белкового комплекса в семенах гороха при помощи методов химического мутагенеза. В сб.: Практика химического мутагенеза : 69-74, М.
- Соболев Н.А., Шведов Г.Г., 1971б. Методика обработки и подбора доз химических мутагенов для зерновых бобовых культур. В сб.: Методы исследований с зернобобовыми культурами I : 52-60, Орел.
- Соболев Н.А., Шведов Г.Г., Володин В.И., Масолова В.И., 1971в. Предварительные итоги сравнения урожайности продуктивных мутантов гороха, отличающихся повышенным содержанием белка. В сб.: Практика химического мутагенеза : 80-84, М.
- Сойфер В.Н., 1969. Молекулярные механизмы мутагенеза, М.
- Сойфер В.Н., 1970. Очерки истории молекулярной генетики, М.
- Суйкова Л.А., 1966. Действие новых химических мутагенов и гамма-лучей на твердую, мягкую пшеницу и ячмень. Автореф. дисс. канд. биол. наук, М.
- Тарасенко Н.Д., 1968. Методика обработки проростков ячменя химическими мутагенами, приводящая к повышению мутаций M_2 . Докл. АН СССР 183 (3) : 700-702.
- Тарасенко Н.Д., 1971а. Увеличение частоты мутаций у ячменя при обработке химическими мутагенами клеток верхней меристемы. В сб.: Химический мутагенез и селекция : 178-183, М.

- Тарасенко Н.Д., 1971б. Повышение мутагенной эффективности ЭМС и нитрозогуанидина под влиянием фитогормонов при воздействии на частично синхронизированные проростки ячменя. Докл. АН СССР 196 (6) : 1456-1459. †
- Тарасенко Н.Д., 1973. Повышение частоты мутаций и проблема специфичности мутационного процесса у растений. Автореф. дисс. докт. биол. наук, Л. †
- Тарасенко Н.Д., Родимова Н.М., 1971. Синтез ДНК в клетках зародышей ячменя и пшеницы и химический мутагенез. В сб.: Химический мутагенез и селекция : 36-42, М. †
- Тарасенков И.И., 1969. Влияние химических мутагенов на растения гороха и томата. В сб.: Овощеводство открытого грунта : 233-241, М. †
- Тарасенков И.И., Долгих С.Г., 1968а. Изменчивость овощного гороха и томатов, вызванная химическими мутагенами. В сб.: Мутационная селекция : 153-163, М. †
- Тарасенков И.И., Долгих С.Г., 1968б. Спектр мутаций у гороха и томатов, полученный в M_2 под действием химических мутагенов. В сб.: Специфичность химического мутагенеза : 238-249, М. †
- Терентьев П.В., 1959. Метод корреляционных плеяд. Вестн. ЛГУ 9 : 137-141. †
- Терентьев П.В., 1960. Дальнейшее развитие корреляционных плеяд. В кн.: Применение математических методов в биологии : 27-36, Л. †
- Уоллингтон К., 1964. Морфогенез и генетика, М. †
- Ушаков В.А., 1968. О влиянии M -нитрозометилмочевини на окислительно-восстановительный режим проростков гороха. В сб.: Мутационная селекция : 281-283, М. †

- Ушаков В.А., Зоз Н.Н., 1972. Влияние N -нитрозо- N -этилмоче-
вины на метаболические процессы у гороха. В сб.: Хими-
ческий мутагенез и создание селекционного материала :
105-107. +
- Фелотов В.С., 1960. Горох, М. +
- Фриз Э., 1962. Молекулярный механизм мутаций. В кн.: Тр.
5 междунар. биохим. конгресса. Симп. I : 231-257, М. +
- Фриз Э., 1964. Молекулярный механизм мутаций. В кн.: Моле-
кулярная генетика : 226-298, М. +
- Хангильдин В.В., 1965. Мутации гороха, вызванные рентгено- и
 γ -излучением. Генетика I (6) : 120-126. +
- Хангильдин В.Х., Хангильдин В.В., 1971. Методы селекции гороха
в Башкирском НИИСХ. В сб.: Методы исследований с зерно-
бобовыми культурами I : 112-126, Орел. +
- Хандлумахер А., Велч А., 1962. Агенты, влияющие на обмен
нуклеиновых кислот. В сб.: Нуклеиновые кислоты : 372-
421, М. +
- Хвостова В.В., 1966. Сравнительный анализ мутагенного действия
ионизирующих излучений и химических мутагенов на высшие
растения. В сб.: Экспериментальный мутагенез у с.-х. рас-
тений и его использование в селекции : 9-22, М. +
- Хвостова В.В., Сидорова К.К., 1972. Цитогенетический анализ
мутантов, его теоретическое и практическое значение. В
сб.: Индуцированный мутагенез у растений : 99-III, Таллин. +
- Хвостова В.В., Тарасенко Н.Д., 1970. Проблема специфичности
экспериментального мутагенеза у высших растений. В сб.:
Усп. соврем. биол. (3) : 409-423. +

Цап М.Л., Леончик О.А., 1968. Определение аммонийного азота в агрохимических объектах методом биимперометрического титрования без отгонки аммиака по Кьелдалю. Агрохимия (II) : 114-129. ✓

Парашкин Л.С., Парашкина К.А., 1970. Об эффекте фракционирования дозы при облучения семян гороха γ -лучами Co-60. Радиобиология 10 (1) : 89-93. ✓

Чехов Н.В., 1934. Влияние X-лучей на растения. Тр. Томского ун-та 85 : 67-135. ✓

Чекалина Н.М., 1968. Изучение действия мутагенов на чину посеvную (Lathyrus sativus L.) и чину манжерскую (Lathyrus tingitarius L.). В сб.: Мутационная селекция : 96-98, М. ✓

Чернов Г.Н., 1965. Индуцированный мутагенез у гороха. Сельское хозяйство за рубежом. Растениеводство (5) : 34-37. ✓

Мангин-Березовский Г.Н., Ораз Т.А., Штиримова М.А., Никифорова И.А., 1972. Пролонгированное действие мутагенов при относительно низкой температуре обработки семян. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала : 129-134, М. ✓

Шарма Б., 1965а. Влияние некоторых химических и физических мутагенов на рост и развитие гороха в первом поколении. Докл. ТСХА (102) : 245-255. ✓

Шарма Б., 1965б. Описание некоторых признаков гороха Pisum sativum L. при индуцированных искусственных мутаций. Докл. ТСХА (113) : 167-176. ✓

Шарма Б., 1965в. Сравнительное изучение физических и химических мутагенов по частоте появления изменений во втором поколении. Изв. ТСХА (4) : 127-140. ✓

Шарма Б., 1965г. О наследственном характере изменений, появившихся у гороха в первом поколении под воздействием мутагенов. Докл. ТСХА (113) : 177-180. +

Шарма Б., 1966а. Влияние излучений и некоторых химических факторов на мутационный процесс у гороха. В сб.: Экспериментальный мутагенез у с.-х. растений и его использование в селекции, М. +

Шарма Б., 1966б. Сравнения действия N -нитрозометилмочевинны с различными мутагенами на горохе *Pisum sativum* L. . В сб.: Супермутагены : 143-159, М. +

Шарма Б., 1966в. Влияние некоторых физических и химических факторов на мутационный процесс у гороха (*Pisum sativum*). Генетика 2 (1) : 45-52. +

Шарма Б., 1967. Специфичность действия этиленimina на рост главных побегов гороха и ее связь с мутационным процессом. Ж. общ. биол. 28 (3) : 346-349. +

Шарма Б., Колесников В.А., 1965. О возможности получения хозяйственно-ценных форм растений для селекции путем применения мутагенов. Докл. ТСХА (113) : 157-166. +

Шарма Б., Орав Т., 1965. О математических закономерностях вероятности появления в потомстве одного растения нескольких индуцированных мутаций. Изв. АН ЭССР, серия биол. 14 (4) : 471-476. +

Шарма Б., Рапопорт И.А., 1965а. Частота доминантных мутаций, возникших под влиянием мутагенов в M_1 . Докл. ТСХА (102) : 257-266. +

Шарма Б., Рапопорт И.А., 1965б. Проявление нескольких мутаций в одном геноме и химер при индуцировании мутаций. Докл. ТСХА (102) : 267-276. +

- Шаров И.Я., 1968. Индуцированные мутации у льна. В сб.: Мутационная селекция : 127-133, М. +
- Шведов Г.Г., Соболев Н.А., 1972. О воздействии паров этилен-имина на пыльцу гороха, вики и чины. В сб.: Индуцированный мутагенез у растений : 306-313, Таллин. ↓
- Шедлер В.Ф., 1967а. Аминокислотный состав белковых веществ семян Pisum sativum и Vicia faba. Прикл. биохимия и микробиол. 3 (4) : 384-387. +
- Шедлер В.Ф., 1967б. Сравнительное изучение основных физико-химических свойств белковых веществ семян гороха и бобов. Автореф. дисс. канд. биол. наук, Ульяновск. +
- Шварников П.К., 1948. Влияние некоторых химических соединений на хромосомные перестройки у растений. Докл. АН СССР 59 (7) : 1337-1340. +
- Шварников П.К., 1964. Экспериментальное получение мутаций у озимой пшеницы. Изв. СО АН СССР 4 (1) : 64-73. +
- Шварников П.К., Кулик М.И., Сайонова В.Т., 1965. Относительная мутагенная эффективность некоторых химических соединений на растений. Докл. АН СССР 164 (5) : 1161-1164. +
- Штанько К.Т., 1968. Изменчивость вики посевной, вызванная воздействием химических мутагенов. В сб.: Мутационная селекция : 102-107, М. +
- Шуббе Г., 1966. О связях между естественным и искусственным полученным многообразием форм и о некоторых экспериментальных исследованиях по эволюции культурных растений. Генетика 2 (II) : 9-30. +

- Щербаков В., 1972. Специфичность мутагенеза, контролирование мутационного процесса и проблема направленного изменения наследственности, В сб.: Индуцированный мутагенез у растений : 134-158, Таллин.
- Эйгес Н.С., 1964. Мутагенный эффект этиленimina и гамма-лучей при воздействии на воздушно-сухие семена озимой пшеницы. Радиобиология 4 (1) : 170-179.
- Эйгес Н.С., 1966. Мутагенный эффект разных концентраций этиленimina на озимой пшенице. Генетика 2 (3) : 131-141.
- Эйгес Н.С., Валова С.А., 1961. Сравнительное изучение мутагенного действия γ -лучей и этиленimina. Радиобиология 1 (2) : 304-307.
- Яковлева В.И., 1969. Влияние пестицидов на качество семян гороха. Вестн. с.-х. наук (5) : 83-86.
- Alexander P., 1952. Interference with formation of a nucleoprotein complex by radiomimetic compounds. Nature 169 : 226-227.
- Alexander P., Stacey K.A., 1958. 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. 68 : 1225-1237.
- Auerbach Ch., 1943. Drosophila melanogaster : New mutants. Chemically induced mutation and rearrangements. Dros. Inform. Service 17 : 48-50.
- Auerbach Ch., 1946. Chemically induced mosaicism in Drosophila melanogaster. Proc. Roy. Soc. Edinb. 62 : 307-320.
- Auerbach Ch., 1951. Some recent results with chemical mutagens. Hereditas 37 (1). la-d.

- Auerbach Ch., 1958. Mutagenic effects of alkylating agents. +
Ann. N.Y. Acad. Sci. 68 : 731-736.
- Auerbach Ch., 1960. Chemische Mutagenese. Abhandl. Dtsch. +
Akad. Wiss. Berlin. Kl. Med. I (I).
- Auerbach Ch., Robson J.M., 1944. Production of mutations +
by alkyl isothiocyanate. Nature 154 : 80-81.
- Auerbach Ch., Robson J.M., 1947. Tests of ~~chemical~~ sub- +
stances for mutagenic action. Proc. Roy. Soc. Edin. 62
: 271-274.
- Auerbach Ch., Westergaard M., 1960. A discussion of muta- j
genic specificity. Abh. Dtsch. Akad. Wiss. Berlin. Kl.
Med. I : 116-123.
- Baur E., 1922. Einführung in die experimentelle Vererbungs- +
lehre. Berlin, Bonntager.
- Baur E., 1925. Die Bedeutung der Mutationen für das Evolu- +
tionsproblem. Vererbgs. 37 : 107-115.
- Bautz E., Freese E., 1960. On the mutagenic effect of alky- j
lating agents. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 46 : 1585-1594.
- Beevors L., Guernsers F.S., 1966. Changes in some nitro- *prevents in 1966*
genous components during the germination of pea seeds.
Plant. Physiol. 41 (9) : 1455-1458.
- Benzer S., 1961. On the topography of the genetic fine +
structure. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 47 (3) : 403-415.
- Benzer S., Freese E., 1958. Induction of specific mutations +
with 5-bromouracil. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 44 :
112-119.
- Bertrand D., De Wolf A., Silberstein L., 1964. Variation de +
synthese et de composition des proteines des feuilles
du pois (P. sativum) carence en zinc. Plant analysis
and fertilizer problems. 4 : 46-53.

- Blixt St., 1960. Quantitative studies of induced mutations in peas. IV Segregation after mutation. *Agri Hort. Genet.* 18 (3-4) : 219-227. †
- Blixt St., 1961. Quantitative studies of induced mutations in peas. V Chlorophyll mutations. *Agri Hort. Genet.* 19 (3-4) : 402-447. †
- Blixt St., 1965. Studies of induced mutations in peas. XI Leaf spots in peas as induced by mutagenic agents. *Agri Hort. Genet.* 23 (3-4) : 172-186. †
- Blixt St., 1969. Linkage relations in Pisum. XIV The chlorophyll deficiency genes chi 6, chi 9 and ^{chi}17, determining chlorotica type, and ch 4 and ch 5, determining chlorina. *Agri Hort. Genet.* 27 (1-2) : 36-52. †
- Blixt St., Ehrenberg L., Gelin O., 1958. Quantitative studies of induced mutations in peas. I Methodological investigations. *Agri Hort. Genet.* 16 : 233-250. †
- Blixt St., Ehrenberg L., Gelin O., 1960. Quantitative studies of induced mutations in peas. III Mutagenic effect of ethyleneimine. *Agri Hort. Genet.* 18 (1-2) : 109-123. †
- Blixt St., Ehrenberg L., Gelin O., 1963. Studies of induced mutations in peas. VII Mutation spectrum and mutation rates of different mutagenic agents. *Agri Hort. Genet.* 21 (3-4) : 178-216. †
- Blixt St., Ehrenberg L., Gelin O., 1966. Studies of induced mutations in peas. XVI Effect of duration of treatment with ethyleneimine and ethylmethanesulfonate. *Agri Hort. Genet.* 24 (3-4) : 111-127. †
- Blixt St., Gelin O., Mossberg R., Ahnström G., Ehrenberg L., Löfgren R.A., 1964. Studies of induced mutations in peas. †

IX Induction of leaf spots in peas. *Agri Hort. Genet.* 22 : 186-194.

Borer K., Hardy R.J., Lindsay W.S., 1966. Ethylene-bis-nitrourethane; investigation of the plant growth stimulant action of analogous compounds. *Exper. Bot.* 17 (51).

Bozzini A., Scarascia-Mugnozza G.T., 1970. Relative frequency of chlorophyll to morphological and sterility mutations induced in Durum Wheat by radiations and chemicals. *Mut. Res.* 9 (6) : 589-597. Bozzini 1970

Brookes P., Lawley P.D., 1960a. The reaction of mustard gas with nucleic acids in vitro and in vivo. *Biochem.* 77 (3) : 478-480. 1960
2.23

Brookes P., Lawley P.D., 1960b. The methylation of adenosine and adenylic acid. *J. Chem. Soc.*: 539-545. +

Brookes P., Lawley P.D., 1961. The reaction of mono- and difunctional alkylating agents with nucleic acids. *Biochem.* 80 : 496-503. +

Browning L.S., Altenburg E., 1961. Gonadal mosaicism as a factor in determining the ratio of visible to lethal mutations in Drosophila. *Genetics* 46 (10) : 1317-1321. +

Ciamporova M., 1970. Vplyv vehkosti semien na frekvenciu chromozomovych poruch indukovaných etylmetansulfonatom na jačmeni. *Acta Fac. rerum natur. Univ. Comen. Genet.*(2) : 63-75. +

Corwin H.O., Hanratty W.P., 1972. The effect of pH on N-alkylnitrosoamide mutagenesis in Drosophila. *Mut. Res.* 14 (3) : 325-330. +

Crick F.H., Barnett L., Watts-Tobin R.I., Brenner S., 1961. The general nature of the genetic code for proteins. +

- D'Amato P., Scarascia Mugnozza G.T., Bozzini A., 1964. Mutanti vitali de frumento duro ottenuti dal laboratorio per le applicazioni in agricoltura del C.N.E.N. con impegno di radiazioni ionizzanti e mutagene chimici. *Genetica Agraria* 18 : 132-141. †
- Darlington C.D., Koller P.C., 1947. The chemical breakage of chromosomes. *Heredity* 1 : 187-221. †
- Demerec M., Can E., 1952. Studies of mutability in nutritionally deficient strains of *E. coli*. *Bact.* 65 : 27-36. †
- Druckrey H., Steinhoff D., Preussman R., Ivankovic S., 1963. Krebs erzeugung durch einmalige Dosis von Methylnitrosomarnstoff und verschiedenen Dialkyl-nitrosoaminen. *Die Naturwissenschaften* 50 : 735-735. †
- Ehrenberg L., 1960. Chemical mutagenesis : biochemical and chemical points of view on mechanisms and action. E. Baur-Gedächtnisvorlesungen I Abh. Dtsch. Akad. Wiss. Berlin. *Kl. Med.* 1 : 124-136. †
- Ehrenberg L., Gustafsson A., Lundquist U., 1959. The mutagenic effects of ionizing radiation and reactive ethylene derivatives in barley. *Hereditas* 45 (2-3) : 351. †
- Ehrenberg L., Gustafsson A., Lundquist U., 1961. Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 47 (2) : 243-282. †
- Ehrenberg L., Lundquist U., Ström G., 1958. The mutagenic action of the ethyleneimine in barley. *Hereditas* 44 : 330-336. †
- Enachescu G., Jordachescu O., Marinescu R., 1959. Dinamica unor componente chimie in timpul cresterii. *Comunic. Acad. RPR* 2 (5) : 473-478. †

- Fahmy O., Fahmy M., 1956. Mutagenicity of 2-Chloroethylmethanesulfonate in Drosophila melanogaster. Nature 177 (4517) : 996-997. †
- Pierlinger P., Vlk J., 1966. Príspevek k možnosti vegužiti. Ustan Vedeckotichn. Inform. MZLH, Genet. Šlecht 2 (2) : 87-92. †
- Freeze E., 1959. The specific mutagenic effect of base analogues on phage T 4. Mol. Biol. I : 87-105. † a
- Freeze E., 1959. On the molecular explanation of spontaneous and induced mutations. Brookhaven Sympos. Biol. 12 : 63-75. † b
- Freeze E., Cashel M., 1964. Crosslinking of DNA by exposure to low pH. Biochim. et biophys. acta 91 : 67-77. †
- Freeze E., Freeze E.B., 1966a. Mutagenic and inactivating DNA alterations. Radiat. Res., suppl 6 : 97-140. † Freeze 1966 u 98. 127 dr
- Freeze E., Freeze E.B., 1966. Induction of pure mutant clones by repair of inactivating DNA alterations in phage T 4. Genetics 54 : 1055-1067. †
- Freeze E., Freeze E.B., Bautz E., 1961. Hydroxylamine as a mutagenic and inactivating agent. J. Mol. Biol. 3 : 133-143. †
- Freeze E.B., 1961. Transitions and transversions induced by depurinating agents. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 47 : 540-545. †
- Garret E.R., Goto S., Stubbins J.F., 1965. Kinetics of solvolyses of various N-alkyl-N-nitrosoureas in neutral and alkaline solutions. J. Pharm. Sci. 54 : 119-123. †

- Gaul H., 1958. Über die gegenseitige Unabhängigkeit der Chromosomen- und Punktmutationen. Pflanzenzüchtung 40 (2) : 151-188. +
- Gaul H., 1961. Use of induced mutants in seed-propagated species. Proc. Symp. Mutation and Plant Breeding NAB-NRC Washington : 206-249. +
- Gaul H., 1962. Ungewöhnlich hohe Mutationsraten bei Gerste nach Anwendung von Äthylmethansulfonat und Röntgenstrahlen. Die Naturwissenschaften 49 (18) : 431-440. +
- Gaul H., 1963. Mutationen in der Pflanzenzüchtung I und II. Pflanzenzüchtung 50 (2-3) : 194-231. +
- Gaul H., 1965. Induced mutations in plant breeding. Genetics Today 3 : 689-709. +
- Geiduschek H.P., 1961. "Reversible" DNA. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 47 : 950-955. +
- Gelin O., 1954. X-ray mutants in peas and vetches. Acta Agric. Scand. 4 : 558-568. +
- Gelin O., 1955. Studies on the X-ray mutation Strol Pea. Agri Hort. Genet. 13 : 183-193. +
- Gelin O., 1956. Problems relating to plants breeding by means of mutation. Agri Hort. Genet. 14 : 127-136. +
- Gelin O., Blixt St., 1956. The karyotypes of two X-ray mutants in peas and their ancestors. Agri Hort. Genet. 14 : 148-160. +
- Gelin O., Blixt St., 1963. Mutation research 1962-1963 at the Plant Breeding Institute. Report. from the Institute, Weibullsholm Landskrona, Sweden. +

- Gelin O., Ehrenberg L., Blixt St., 1958. Genetically conditioned influences on radiation sensitivity in peas. *Agri Hort. Genet.* 16 (1-2) : 78-87. +
- Gelin O., Ehrenberg L., Blixt St., 1959. Quantitative studies of induced mutations in peas. II Mutagenic effect of oxygen. *Agri Hort. Genet.* 17 (3-4) : 265-274. +
- Gottschalk W., 1960a. Über züchterisch verwendbare strahleninduzierten Mutanten von Pisum sativum. *Züchter* 30 (2) : 33-42. +
- Gottschalk W., 1960b. Über strahlenbedingte erbliche Sterilitätserscheinungen bei pflanzlichen Versuchsobjekten. *Atompraxis* 6 : 341-347. +
- Gottschalk W., 1960c. Genetic problems of mutation breeding in peas (Pisum sativum). *Proc. Symp. Ioniz. Radiat. on Seeds, Karlsruhe* : 465-474. +
- Gottschalk W., 1961. Über die mutative Abänderungepflanzlicher Organisationsmerkmale. *Planta* 57 (3) : 313-330. +
- Gottschalk W., 1962. Untersuchungen über den Selektionswert strahleninduzierter Mutanten *Verbgl.* 93 : 188-202. +
- Gottschalk W., 1963. Über begrenzende Faktoren für die züchterische Brauchbarkeit strahleninduzierter Mutanten. *Atompraxis* 9 (3) : 105-108. +
- Gottschalk W., 1964. Die Wirkung mutierter Gene auf die Morphologie und Funktion pflanzlicher Organe. Jena. +
- Gottschalk W., Chen R., 1969. Die Penetranz mutierter Gene als begrenzender Faktor in der Mutationszüchtung. *Pflanzenzücht* 62 (4) : 293-304. +

- Gottschalk W., Müller F., 1964. Quantitative Pigmentuntersuchungen an strahleninduzierten Chlorophyllmutanten von Pisum sativum. Bot. Studien 15.
- Gottschalk W., Scheibe A., 1960. Untersuchungen an röntgeninduzierten Mutanten von Pisum sativum. Pflanzenzücht 42 : 313-338.
- Gustafsson A., 1940. The mutation system of the chlorophyll-apparatus. Lund. Univ. Arsskr. N.F. 2 (36) : 1-40.
- Gustafsson A., 1947. Mutations in agricultural plants. Hereditas 33 : 1-100.
- Gustafsson A., 1960. Chemical mutagenesis in higher plants. E. Baur-Gedächtnisvorlesungen I Abh. Dtsch. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Med I : 14-29.
- Gustafsson A., 1963. Productive mutations induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. Hereditas 50 (2-3) : 211-263.
- Gustafsson A., Ehrenberg L., 1959. Ethyleneimine: a new tool for plant breeders. New Sci. 5 (122) : 624-625.
- Gustafsson A., MacKey J., 1948. Mutation work at Svalöf. Svalöf 1886-1946. History and present problems. Lund : 338-352.
- Heiner R.E., Konzak C.F., Legault R.R., 1960. Dives ration of mutations to chromosome aberrations in barley treated with diethylsulfate and gamma-rays. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. : 1215-1221.
- Herika R.J., 1964. Mutation research in peas. Euphytica 13 (3) : 330-336.
- Herriott R.M., 1948. Inactivation of viruses and cells by mustard gas. J. Gen. Physiol. 32 : 221-239.

- Heslot H., 1960. Action d'agent chimiques mutagenes sur quelques plantes cultivees. Abh. Dtsch. Acad. Wiss. Berlin Kl. Med. I : 106-108. +
- Heslot H., Ferrari R., Levy R., Monard C., 1961. Effects of ionizing radiation on seeds. Vienna, Internat. Atomic Energy Agency : 234-249. +
- Hickin H.R., Broadman N.K., Goodchild D.J., 1969. Photosynthetic studies on a pea-mutant deficient in chlorophyll. Plant. Physiol. 44 (9) : 1310-1320. +
- Hindoalla H., 1964. Herne sordid. Aktuaalset põllumajanduses. Tallinn : 72-79. +
- Hindoalla H., 1967. Jõgeval aretatud hernesordid 'Jõgeva kirju' ja 'Kiir'. Eesti Maaviljeluse ja Maaparanduse Teadusliku Uurimise Instituut. Teaduslike tööde kogumik II. Sordiaretus ja seemnekasvatus, Tallinn : 103-105. +
- Hoffmann W., 1959. Neuere Möglichkeiten der Mutationszüchtung. Pflanzenzücht 41 (4) : 371-394. +
- Jones, Sam T., 1965. Radiatio-induced mutations in southern peas. Heredity 56 (6) : 273-276. +
- Klein H.D., 1969. Desynaptische Mutanten mit Unterschieden im Univalentenverhalten. Genetica 40 (4) : 566-576. +
- Kolmarck G., 1953. Differential response to mutagens as studied by the Neurospora reverse mutation test. Hereditas 39 : 270 +
- Konzak C.F., Nilan R.A., Wagner J., Foster R.J., 1964. Efficient chemical mutagenesis. Proc. FAO IAEA Symp., Roma. +
- Lamm R., 1947. Studies on linkage relations of the cy factors in Pisum. Hereditas 33 : 405-419. +
- Lamm R., 1957. Three new genes in Pisum. Hereditas 43 : 541-548. +

Lamprecht H., 1939. Genstudien an Pisum sativum VI. Hereditas 25 : 459-471. +

Lamprecht H., 1945. Durch Komplexmutation bedingte Sterilität und ihre Vererbung. Arch. Jul. Klaus-Stiftg., Erg. Bd. 20 : 126-141. +

Lamprecht H., 1952. Über Chlorophyllmutanten bei Pisum und die Vererbung einer neuen, goldgelben Mutante. Agri Hort. Genet. 10 : 1-18. +

Lamprecht H., 1954. Die Koppelung des Genes Wsp und die Genenkarte von Chromosom VII von Pisum. Agri Hort. Genet. 12 : 115-120. +

Lamprecht H., 1955. Die Vererbung den Chlorophyllmutante albina-terminalis von Pisum sowie Allgemeines zum Verhalten von Chlorophyll- und anderen Genen. Agri Hort. Genet. 13 : 103-114. +

Lamprecht H., 1956. Röntgen-Empfindlichkeit und genotypische Konstitution bei Pisum. Agri Hort. Genet. 14 : 161-176. +

Lamprecht H., 1957a. Durch Röntgenbestrahlung von Pisum-Samen erhaltene neue und bekannte Genmutationen. Agri Hort. Genet. 15 : 142-154. +

Lamprecht H., 1957b. Röntgeninduzierte spezifische Mutationen bei Pisum in ihren Abhängigkeit von der genotypischen Konstitution. Agri Hort. Genet. 15 : 169-193. +

Lamprecht H., 1958. Eine fruticosa-Röntgen-mutante von Pisum. Agri Hort. Genet. 16 : 130-144. +

Lamprecht H., 1960a. Über Blattfarben von Phanerogamen. Agri Hort. Genet. 18 (3-4) : 135-144. +

- Lamprecht H., 1960b. Zwei bemerkenswerte genbedingte Chimären von Pisum. Agri Hort. Genet. 18 (3-4) : 125-134. +
- Lamprecht H., 1960c. Zwei neue Chlorophylmutanten von Pisum. Agri Hort. Genet. 18 (3-4) : 169-180. +
- Lamprecht H., 1962. Gleichzeitiges Mutieren in mehreren Genen bei Pisum nach Behandlung mit Äthylenimin. Agri Hort. Genet. 20 (3-4) : 167-179. +
- Lamprecht H., 1964a. Der Effekt interspezifischer Gene. Agri Hort. Genet. 22 (1-2) : 1-55. +
- Lamprecht H., 1964b. Partielle Sterilität und Chromosomenstruktur bei Pisum. Agri Hort. Genet. 22 (1-2) : 56-148. +
- Lamprecht H., Svensson V., 1949. Zwei Chimären von Daucus carota L. sowie Allgemeines über Entstehung von Chimären. Agri Hort. Genet. 7 : 96-III. +
- Lawley P.D., 1957. The relative reactivities of deoxyribonucleotides and the bases of DNA towards alkylating agents. Biochim. et Biophys. Acta 26 (2) : 450-451. +
- Leder P., Nirenberg M.W., 1964. RNA Codewords and Protein Synthesis III. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 52 : 1521. +
- Lett J.T., Alexander P., Parkins G.M., 1962. Physicochemical changes produced in DNA after alkylation. Arch. Biochem. and Biophys. 97 : 80-93. +
- Lindquist K., 1951. The mutant micro in Pisum. Hereditas 37 : 389-420. +
- Loveless A., 1959. The influence of radiomimetic substances on deoxyribonucleic acid synthesis and function studies in Escherichia coli / phage systems. III Proc. R. Soc. 150 : 497-508. +

- Loveless A., Howarth S., 1959. Mutations in bacteria at high levels of survival by ethylmethane sulphonate. Nature 184 : 1780-1782. +
- Lundquist U., Wettstein D., 1962. Induction of eeri ferum mutants in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. Hereditas 48 : 342. +
- Mac Kevie A.D., 1963. Studies in the induction of mutations in Arabidopsis thaliana. Rad. Bot. 3 (2) : 105-123. +
- Mackey J., 1961. Methods of Utilizing induced mutation in crop improvement. Mutation and Plant Breeding : 336. +
- Marquart H., Zimmermann F.K., Schwaier R., 1963. Nitrosamide als mutagene Agentien. Die Naturwissenschaften 50 (19) : 625. +
- Mikaelsen K., Ahnström G., Li W., 1968. Genetic effects of alkylating agents in barley. Influence of post-storage metabolic state and pH of mutagen solution. Hereditas 59 : 353-374. *Mikaelsen 2 pp 68*
- Mohan Rao P.K., 1972. The influence of pH on damage induced by diethylsulphate (DES) in barley. Mut. Res. 15 (2) : 155-167. +
- Monti L.M., 1966. Mutation Induction in peas by diethylsulphate and X-rays. III Internat. Congress of Radiation Research. Book of abstracts. +
- Monti L.M., 1968. Mutations in peas induced by diethylsulphate and X-rays. Mut. Res. 5 (1) : 187-191. +
- Muller H.J., 1927. Artificial transmutations of the gene. Science 66 : 84-87. +
- Natarajan A.T., Shivasankar G., 1965. Studies on modification of mutation response of barley seeds to ethylmethan- *Natarajan 17. 68*

sulfonate. Vererbgs. 96 (1) : 73.

Neale S., 1972. Effect of pH and temperature on nitroso-
amide-induced mutation in Escherichia coli. Mut. Res.
14 (2) : 155-164. +

Nilan R.A., 1960. Factors that govern the response of plant
tissues to ionizing radiation. Genet. Agr. 12 (3-4) :
83-291. +

Nilan R.A., Konzak C.F., Heiner R.E., Freese-Gertzen G., 1964.
Chemical mutagenesis in barley. Barley Genetics I Pud.,
Wageningen : 35-54. +

Nilsson E., 1933. Erblchkeitsversuche mit Pisum. VII-VIII.
Hereditas 17 : 197-222. +

Nilsson-Ehle H., 1939. Polymere Röntgenmutationen bei Hordeum. +
Nova-Acta Leopoldina N.F. 6 : 569-582.

Nirenberg M., Leder P., 1964. RNA codewords and protein syn- +
thesis. Science 145 : 1399-1407.

Oehlkers F., 1943. Die Auslösung von Chromosomen-Mutationen +
in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. Ver-
erbgs. 81 : 313-341.

Oehlkers F., 1946. Weitere Versuche zur Mutationsauslösung
durch Chemikalien. Biol. Zbl. 65 : 176-186. 1945
fest
br. 5

Ostertag W., 1968. Chemische Mutagenese an menschlichen +
Zellen in Kultur. Biol. Zbl. : 385.

Pipie A., 1968. Preventa si spectrul mutatiilor in functie +
de soi, agent mutagen si doza folosita. Comun. genet.
: 15-20.

Rasmusson J., 1938. Notes on some mutants in Pisum. Hereditas +
24 : 231-257.

- Reiner B., Zamenhof S., 1957. Studies on the chemically reactive groups of deoxyribonucleic acids. Biol. Chem. 228 : 475-480. +
- Rohrborn G., 1960. Chemische Konstitutionen und mutagene Wirkung. Klassifizierungsversuche chemischer Mutagene. Experientia 16 (12) : 525. +
- Rosen G., 1942. Röntgeninduzierte Mutationen bei Pisum sativum. Hereditas 28 : 313-333. +
- Russi N., Lepajõe J., 1966. Sordiaretuse ja seemnekasvatuse praktikum, Tallinn. +
- Saeromsky H., 1954. Einfluss von Lichtintensivität und Tageslänge auf Wachstum und Pigmentbildung verschiedener Tomatenmutanten. Kulturpflanzen II : 155. +
- Sarv J., 1968. Eesti Maaviljeluse ja Maaparanduse Teadusliku Üürimise Instituut. Jõgeva Sordiaretusjaam : 19-20, Tallinn. +
- Schmalz H., 1962. Mutationsauslösung und Mutationszüchtung in heutiger Sicht. Wiss. Zs. Martin Luther-Univ. Halle-Wittenberg. Math.-Natur. Wiss. II (12) : 1329-1338. +
- Schoentel R., 1960. Carcinogenic action of diazomethane and nitroso-N-methyluretan. Nature 188 : 420-421. +
- Scholz F., Lehmann Ch., 1962. Die Gaterslebener Mutanten der Saatgerste in Beziehung zur Formenmannigfaltigkeit der Art Hordeum vulgare L. Kulturpflanze 10 : 312. +
- Sigurbjörnsson B., 1969. Opening statement by the representative of the sponsoring organizations. Induced Mutat. Plants. Vienna : 7-8. +
- Smillie R.M., 1962. Photosynthetic and respiratory activities of growing pea leaves. Plant Physiol. 37 (6) : 716-721. +

- Smith H.H., 1961. Mutagenic specificity mutation. Mutation and plant breeding. NAS-NRC, Pub. 891 : 431-436. +
- Stacey K.A., Coussons S.F., Alexander P., 1958. Reaction of the radiomimetic alkylating agents with macromolecules in vitro. Ann. N.Y. Acad.Sci. 68 : 682-701. +
- Stubbe H., 1929. Über die Möglichkeiten der experimentellen Erzeugung neuer Pflanzenrassen durch künstliche Auslösung von Mutationen. Züchter I : 6-II. +
- Stubbe H., 1930. Untersuchungen über experimentelle Auslösung von Mutationen bei Anthirrhinum majus. I Versuche mit Röntgenstrahlen, ultravioletten Lichte, Temperaturschoks und Zentrifugierungen. Zs. ind. Abst. Vererbgs1. 56 : 1-38. +
- Škula K., 1969. Studium dedičnosti deficitu a rozpadu chlorofylu pri tabaku. Genet. a šlechtění 5 (3) : 209-214. +
- Tschermak E.V., 1925. Praktische Ratschläge für Leguminosenzüchter. Mitt. DLG 40 : 72-75. +
- Veleminsky J., Osterhan-Gilkar S., Ehrenberg L., 1970a. Reaction rates and biological action of N-methyl- and N-ethyl-N-nitroso-urea. Mut. Res. 10 (3) : 169-174. +
- Veleminsky J., Gichner T., 1970b. The influence of pH on the mutagenic effectiveness of nitroso compounds in Arabidopsis. Mut. Res. 10 (1) : 43-52. 17
- Vielmetter W., Schuster H., 1960. The specificity of mutation induced by nitrous acid in phage T 2. Biochem. and Biophys. Res. Commun 2 : 324-328. +
- Wagner J.H., Nawar M.M., Konzak C.F., Nilan R.A., 1963. The influence of pH on the biological changes induced by ethyleneimine in barley. Mut. Res. 5 : 57-64. +

- Walkner D.A., 1964. Improved rates of carbon dioxide fixation by illuminated chloroplasts. *Biochem. J.* 92 (3) : 676-677. +
- Wellensiek S.J., 1925. Genetic Monograph on Pisum. *Bibliographia Genetica* 2 : 343-476. +
- Wellensiek S.J., 1928. Preliminary note on the genetics of wax in Pisum. *Amer. Naturalist.* 62 : 94-96. +
- Wellensiek S.J., 1959. Neutronic mutations in Peas. *Euphytica* 8 : 209-215. +
- Wellensiek S.J., 1961. Barley flowering neutronic mutants in peas. *Proc. Symp. Effects Ionizing Radiation on Seeds* : 321-326. +
- Wellensiek S.J., 1964. Comparison of the effects of EMS, neutrons, gamma- and X-rays on peas. The use of induced mutations in plant breeding. *FAO-IAEA Technical Meeting, Rome.* +
- Westergaard M., 1960. A discussion of mutagenic specificity I. *Chemische Mutagenese. E. Baur-Gedächtnisvorlesungen I, Berlin* : 116. +
- Zetterberg G., 1961. A specific and strong mutagenic effect of N-nitroso-N-methyluretan in Ophiostoma. *Hereditas* 47 (2) : 295-303. +
- Zimmermann F., Schweizer R., Laer U., 1965. The influence of pH on the mutagenicity in yeast of N-methylnitrosamides and nitrous acid. *Vererbgsbl.* 97 : 68-71. +

177-25

271-21

442