



Lugupidetud juhendajale,
doks. Henni Kallakruuse

Tähan minuga nähtud vaevalt.

Jõnnu

6. okt. 1972

TARTU RIIKLIK ÜLIKOOL
ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

T. T E R A S M A A

T. ТЕРАСМАА

M Ò N I N G A T E H A R I L I K U K U U S E
/ P I C E A A B I E S (L .) K A R S T . / V O R M I D E
K A R Ü O L O O G I L I N E I S E L O O M U S T U S
КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ФОРМ ЕЛИ
ОБЫКНОВЕННОЙ / P I C E A A B I E S (L .) K A R S T . /

V ä i t e k i r i
b i o l o o g i a k a n d i d a a d i t e a d u s -
l i k u k r a a d i t a o t l e m i s e k s

Juhendaja: bioloogiakandidaat,
dotsent H. Kallak

T A R T U - 1971

E E S S Õ N A

Käesolev töö valmis aspirantuuris TRÜ geneetika ja darvinismi kateedri juures aastail 1968 - 1971. Töö valmimisel osutatud väärtuslike nõuannete ja kasulike näpunäidete eest võlgnen erilise tänu oma juhendajale dots. H. Kallakule ja geneetika ja darvinismi kateedri vanemlaborandile L. Järveküljele. Samas tahaksin tänada ka kogu geneetika ja darvinismi kateedri kollektiivi igakülgse abi eest töö valmimisel. Veel kasutan võimalust tänada Eesti Metsainstituudi teadlast I. Etverki, kelle lahkelt kaasabi kasutasin tööks vajaliku uurimismaterjali (hariliku kuuse seemnete) hankimisel.

Sisukord

	lk.
Sissejuhatus.....	3
I HARILIKU KUUSE / <u>PICEA ABIES (L.)</u> KARST./ KARÜO- ANALÜÜSIKS SOBIVAIMA METOODIKA VÄLJATÖÖTAMINE.....	5
1. Kirjanduse ülevaade.....	5
2. Materjal ja meetodika.....	16
3. Eksperimentaalsed tulemused ja arutelu.....	20
II MITOOSIDE ÖÖPÄEVASEST DÜNAAMIKAST HARILIKU KUUSE IDUJUURTES.....	32
1. Kirjanduse ülevaade.....	32
2. Materjal ja meetodika.....	39
3. Eksperimentaalsed tulemused ja arutelu.....	42
III HARILIKU KUUSE / <u>PICEA ABIES (L.)</u> KARST./ KARÜO- TÜÜP.....	48
1. Kirjanduse ülevaade.....	48
2. Materjal ja meetodika.....	60
3. Hariliku kuuse karüoanalüüsi tulemused.....	65
a) <u>Picea abies</u> var. <u>acuminata</u> karüoanalüüs spiralisatsioonindeksi alusel.....	65
b) <u>Picea abies</u> var. <u>acuminata</u> karüoanalüüs metafaasi kromosoomide üldpikkuse alusel...	73
c) <u>Picea abies</u> var. <u>europaea</u> karüoanalüüs.....	80
d) Hariliku kuuse (<u>Picea abies</u>) eesti populat- siooni karüotüüp.....	85

e) Picea abies var. fennica (Picea fennica) ka-
 rüoanalüüs..... 91

f) Hariliku kause Karpastidest pärineva popu-
 latsiooni karüoanalüüs..... 97

IV KARÜOANALÜÜSI TULEMUSTE ARUTELU..... 104

V JÄRELPOUSED..... 118

Kasutatud kirjandus..... 121

Sissejuhatus

Metsapuude, eriti okaspuude tsütogeneetilise uurimisega on teadaolevail andmeil suhteliselt vähe tegeldud. Eesti ulatuses puudub vastavasisuline uurimistöö peaaegu täielikult. Probleem on aga küllaltki aktuaalne. Pakub ju tsütogeneetika uusi lähenemisvõimalusi süstemaatika, ka liigisisese süstemaatika küsimuste lahendamisel, aidates karjotüübi järgi hinnata mitmesuguste liigisiseste rühmituste süstemaatilist kuuluvust. Karjotüübi all mõistetakse kromosoomide komplekti, mis iseloomustab liigile või liigisisesele taksonoomilisele ühikule omaste kromosoomide arvu, suurust ja morfoloogiat. Karjotüübi detailset kindlakstegemist nimetatakse karjooanalüüsiks.

Tsütogeneetilised uurimused moodustavad osa ka metsanduslikust selektsioonitööst. Geneetilise analüüsi üldtuntud meetodite rakendamist metsanduses raskendab väga neglane põlvkondade vaheldumine metsapuudel. Seleksioonärridel on raskusi perspektiivsete vormide valikul ainuüksi fenotüübi järgi, kuivõrd ei ole teada valitud tunnuste päritavus. Korrelatsioonide leidmine vastavate tunnuste ja kromosoomide ehituse iseärasuste vahel võimaldaks paremini otsustada ühtede või teiste vormide edasise sobivuse

4

üle selektsioonitööga.

Käesoleva töö uurimisobjektiks oli harilik kuusk /Picea abies (L.) Karst./, mis on meie tähtsamaid metsapuid hariliku männi kõrval. Eesti NSV puistutest haarab harilik kuusk pindalalt enda alla umbes 20%. Liigi levila tervikuna on aga väga lai. Soomes ja NSV Liidu põhjaosas ulatub levila põhjapiir 69° 30' põhjalaiuseni, lõunapiir ulatub mustmullavööndi piirimaille. Lääne-Euroopas on piiriks Pürenee mäeahelik, idapiir on aga ebaselgem mitmesuguste üleminekuvormide esinemise tõttu hariliku kuuse ja temale lähedase siberi kuuse vahel (Laas, 1967).

Hariliku kuuse ulatusliku levila piirides esineb rohkesti teisendeid ja vorme, mis erinevad puude võra kuju, okaste värvuse, käbide kuju, nende värvuse, viljasoomuste kuju jms. poolest, kuid mille karüotüübist puuduvad täpsed andmed ja mida süstematiseeritakse erinevalt. Hariliku kuuse Soomes kasvavat teisendit eristatakse näiteks mõningate süstemaatikute poolt isegi iseseisvaks liigiks, nn. soome kuuseks (Picea fennica Reg.).

Käesoleva uurimuse peamiseks eesmärgiks oligi detailse karüoanalüüsiga selgitada, kas hariliku kuuse erinevatele vormidele väliselt iseloomulik fenotüübiline eripära avaldub ka kromosoomide morfoloogias. Selline karüoanalüüs eeldab kõigepealt sobivaima meetodika leidmist, mis kujuneski esmaseks ülesandeks. Kromosoomide ehituse iseärasuste esiletoomiseks on optimaalsete menetluste kindlakstegevise kõrval oluline tunda ka uuritavate kudede mitooside ööpäevast rütmi. Seetõttu osutus otstarbekaks uurida ka kuuse idujuurtes mitooside ööpäevast dünaamikat.

I HARILIKU KUUSE /PICEA ABIES (L.) KARST./

KARÜOANALÜÜSIKS SOBIVAINA METOODIKA

VÄLJATÖÖTAMINE

1. Kirjanduse ülevaade

Taimeliikide karüoloogilise iseloomustamise ajalugu ei ulatu tagasi mitte väga kaugesse minevikku. Olulise-
maid tulemusi võib seostada alles käesoleva sajandi 20-nda-
te aastatega, millal avaldati vastavasisulisid tüid mit-
mete liikide kohta selliste perekondade osas nagu Muscari
ja Bellevalia (L.N. Delone), Vicia (I.N. Svešnikova),
Crepis (M.S. Navašin), Triticum (Kagawa) jt. (Чеботарь И
Ир., 1970). Nii metoodiliselt kui ka teoreetiliselt
andsid sel perioodil kromosoomide morfoloogia uurimise
valdkonnas kõige olulisemaid tulemusi just S.G. Navašini
koolkonna esindajad.

Üheks põhjustest, mis takistas kromosoomide morfo-
loogia uurimisi, oli töö äärmine mahukus ja lihtsate
uurimismeetodite puudumine. Põhiline tsütoloogiline uuri-
mistöö tehti mikrotoomlõikudest valmistatud püsiprepa-
raatide abil. Mikrotoomiga on teatavasti äga küllalt
raske tabada metafasaasi kromosoomi selliselt, et lõige
kulgeks täpselt paralleelselt metafasaasplaadiga äga lõi-
kaks seejuures kromosoomi. Raskused lõikest rikkumata
metafasaasfiguuri saamisel on seda suuremad, mida pikemad

on uuritava liigi kromosoomid. Seepärast on arusaadav, et esmaseks ülesandeks kujunes sobivate fiksaatorsegude ja teiste uuritava materjali keemilise mõjutamise vahendite kindlakstegemine, mis aitaksid kaasa karüoanalüüsi metoodika lihtsustamisele. Tähelepanuväärivaid saavutusi oli sel alal väljapaistval nõukogude tsütoloogil G.A. Levitskil, kelle poolt soovitatud uute fiksaatorlahuste toimel metafasi kromosoomid märgatavalt lühenesid ja ühtlasi sirgenesid (Левитский, 1931; 1934). Siiski jäid pikemad kromosoomid metafasis looklevaiks, mis raskendas nende täpset mõõtmist. 1931. a. avaldas G.A. Levitski põhjaliku uurimuse mitmete taimeliikide kromosoomide morfoloogiast. Töös on suur osa pühendatud küllalt keerukate matemaatiliste meetodite väljatöötamisele, mis võimaldaksid täpsemalt mõõta ka selliste kromosoomide pikkust, millel üks õlgadest on kõverdunud ning moodustab nurga metafaasplaadi tasapinnaga (Левитский, 1931).

Enamus enne II Maailmasõda tehtud karüoloogilistest uurimustest jäid siiski kromosoomide loendamise, s.o. liigile omase kromosoomide arvu kindlakstegemise tasemele. Tänapäevaks on selles osas ära tehtud suur töö. Käesolevaks ajaks on ilmunud mitmeid ulatuslikke kokkuvõtteid, mis annavad põhjaliku ülevaate liigiomase kromosoomide arvu kohta kas regionaalselt või isegi ülemaailmses ulatuses (Darlington, Wylie, 1955; Khoshoo, 1961; Löve, Löve, 1961; Funabiki, 1967; Болховских и др., 1969). Koos sellega on hakatud üha laiemalt tegelema ka detailse karüoanalüüsiga, s.o. liigile omaste kromosoomide morfoloogia kindlakstegemisega. Mõlemale uurimissuunale on palju kaasa

aidanud uute tsütoloogiliste meetodite kasutuselevõtmine, mille eelisteks on olnud preparaadi valmistamistehnika märgatavam lihtsus ja kiirus koos võimalusega saavutada metafasis kromosoomide suurem lühenemine ühes nendega samaaegse sirgenemisega.

Töö lihtsustamise ja ajakulu vähenemise osas on palju kaasa aidanud mikrotoompreparaatide edukas asendamine äige- ja surupreparaatidega. Viimastel aastatel ilmunud tööde põhjal võib nimetada vaid väheseid autoreid (Gowindaswami, 1965; Strid, 1965 a; Бактина, 1965; Погосян, 1965; Тутаюн и Турчанинова, 1970; Чеботарь и др. 1970; Буздуган, 1971; Гаевская, 1971; Мошкович, 1971), kes on kromosoomide uurimisel kas täielikult või osaliselt truuks jäänud klassikalistele mikrotoompreparaatidele. Okaspuude osas märgib R.M. Šišniašvili Pinus Sosnowskyi karüoanalüüsil, et püsipreparaatide kasutamine ei andnud soovitud tulemusi ja töös jäadi samuti peatuma surupreparaatide juurde (ШИШНИАШВИЛИ, 1968).

Metafaasi kromosoomide täiendava spiralisatsioonini ja kromosoomide õlgade samaaegse sirgenemise saavutamiseks on välja töötatud mitmeid erinevaid uuritava materjali keemilise mõjutamise meetodeid. Paljud autorid ongi põhjendatult näidanud selle nn. eelmõjutamise olulist osa kromosoomide morfoloogiliste iseärasuste ilmsikstoomisel (Tjio, Levan, 1950; Sharma, Bal, 1953; Sharma, Mookerjee, 1955; Sharma, Bhattacharyya, 1956; Mergen, Novotny, 1957; Natarajan et al., 1961; Chaudhuri et. al., 1962; Östergren, Heneen, 1962 jt.).

Okaspuuliigid kuuluvad teatavasti nende taimede hulka, mida iseloomustavad pikad kromosoomid. Mõningatel liikidel on mõõdetud metafaasi kromosoomide pikkuseks kuni $22 \mu\text{m}$ (Burley, 1965). Nimetatud raskusega kromosoomide täpsel mõõtmisel seletub ilmselt ka tõsiasi, et kuni viimase ajani on suhteliselt vähe tegeldud okaspuude kromosoomide põhjalikuma uurimisega. Okaspuid on maailmas kirjeldatud ümmarguselt 480 liiki (Mehra, 1960). Kromosoomide morfoloogiat on seni aga uuritud vaid vähestel, metsanduslikult suuremat tähtsust omavatel liikidel. Nendeks on osutunud põhiliselt männiliste (Pinaceae) sugukonda kuuluvad liigid.

Männiliikidest on lähemalt uuritud selliseid liike nagu Pinus silvestris (Aass, 1957; Natarajan et al., 1961; Saylor, 1964; Правдин, 1964), Pinus thunbergii (Funabiki, Seido, 1967; Saylor, 1964), Pinus roxburghii (Mehra, Khoshoo, 1956; Kedharnath, Upadhaya, 1965; Kumar et al., 1966), Pinus radiata (Mehra, Khoshoo, 1956; Saylor, 1964; Tarnavschi, Ciobanu, 1965), Pinus rigida (Yim, 1963), Pinus wallichiana (Mehra, Khoshoo, 1956, Shams-ur-Rehman Perveen, 1970) jt.

Kuuskedest on uuritud selliseid liike nagu Picea abies (Sax, Sax, 1933; Toyama, Kuroki, 1967; Орленко, 1970; Правдин и Шершукова, 1971), Picea obovata (Круклис, 1971 а, б), Picea sitchensis (Burley, 1965), Picea rubens (Morgenstern, 1962), Picea mariana (Morgenstern, 1962).

Lehiseliikidest on karüoanalüüsi seisukohalt käsitlemist leidnud Larix decidua (Sax, Sax, 1933; Knaben, 1953;

Simak, 1962), Larix sibirica (Simak, 1964), Larix dahurica (Крыжмис, 1967), Larix griffithiana (Simak, 1966).

Pseudotsuga-liike on karüoanalüütiliselt iseloomustanud K. Sax ja H.J. Sax (1933), H. Christiansen (1963), J.N. Owens (1967), G. Thomas ja K.K. Ching (1968).

Mitmete nululiikide (Abies sp.) kromosoomide morfoloogiaga on tegelnud F. Mergen ja J. Burley (1964).

Märksa vähem on uuritud teistesse sugukondadesse kuuluvate okaspuuliikide kromosoomide morfoloogiat.

Metoodiliste raskuste kõrval vähendab huvi okaspuude karüoloogiliste uurimuste vastu ka asjaolu, et ainult kromosoomide arvu põhjal ei saa teha erilisi tsütotaksoonoomilisi järeldusi. Okaspuuliikide kromosoomide arv oluliselt ei varieeru. Nii on sugukonnas Pinaceae enamuses liikidest kromosoomide diploidne arv 24. Erandina võib nimetada Pseudotsuga't, millel kõrvuti kromosoomide arvuga $2n = 24$ (Christiansen, 1963; Thomas, Ching, 1968) märgitakse hariliku ebatsunga (Pseudotsuga taxifolia) kromosoomide arvuks $2n = 26$ (Sax, Sax, 1933; Thomas, Ching, 1968), ning ida-Hiinas kasvav ^{at/}Pseudolarix amabilis't kromosoomide arvuga $2n = 44$ (Mergen, 1961). Viimatinimetatud liiki peetakse tetraploidiks kromosoomide põhiarvuga $x = 11$ (Wright, 1962).

Polüploidisust loetakse okaspuude seas siiski väga haruldaseks nähtuseks (Khoshoo, 1959; Wright, 1962; Gustafsson, Mergen, 1964). Metsenduslikult tähtsamaks, enam levinud ja tõeliseks polüploidiks peetakse okaspuudest Sequoia sempervirens'it. Seda tuntakse heksaploidina ($2n = 66$), kromosoomide põhiarvuga $x = 11$ (Stebbins,

1948; Fozdar, Libby, 1968; Saylor, Simons, 1970).

Et okaspuude karüoanalüüsil langeb raskuspunkt kromosoomide morfoloogia iseloomustamisele, omendab metoodikas erilise tähtsuse materjali keemiline eelmõjutamine. Esmaseks ülesandeks on uuritavale objektile kõige sobivama mõjuaine ja optimaalsema mõjutamisrežiimi leidmine. Teatavasti pole ilma spetsiaalse eelmõjutamiseta läbi saadud ka nende taimeliikide karüoanalüüsil, mille kromosoomid on vaid mõnemikromeetrilise pikkusega (Datta, Choudhuri, 1966; Ghosh, 1966; Rüdénberg, Green, 1966; Sherma, Bhattacharya, 1966; Jagathesan, Ratnambal, 1967; Mešiček, 1967; Chen Chi-Chang, Grant, 1968; Das, Sikdar, 1968; Datta, Maiti, 1968; Ghosh, 1968 a, b; Koshy, 1968; Sharma, Ghosh, 1968; Slim, Koopmans, 1968; Bent, Smith, 1969; Raj, Seethaiah, 1969; Sheriff, Mahalakshmi, 1969; Biswas, Bhattacharyya, 1970; Sampathkumar, 1970; Sisodia, 1970 jt.). Seda suurema tähtsusega on eelmõjutamine pikkade kromosoomidega taimeliikide uurimisel, mille hulka kuuluvad okaspuud.

Keemiliseks eelmõjutamiseks sobiva menetluse hindamisel peetakse silmas järgmisi kriteeriume:

- 1) uuritavais preparaatides olgu mitoosi metafaaside esinemissagedus võimalikult suur;
- 2) kromosoomid värvugu kontrastselt, selgesti eristudes vähe värvunud või värvumata tsütoplasma foonil;
- 3) kromosoomide kontraktsioon jäägu metafaasis lähedaseks optimaalsele, mis küll võimaldaks kromosoomide rahuldavalt üksteisest eristada, kuid ei moonutaks liigselt nende ehitust (et ei kaoks näiteks sooni-

sed);

- 4) kromosoomid olgu koos täiendava kontraktsiooniga ka maksimaalselt sirgenenud, mis kergendab nende õlgade täpset mõõtmist;
- 5) eelmõjutamine sidaku kaasa ka kromosoomide hajumisele metafasis.

Nimetatud eesmärged on taimede kromosoomide uurimisel püütud saavutada väga erinevate mõjutamisviiside kasutamisega. Üldiselt on täheldatud, et kui teatud meetodiga saadakse häid tulemusi mingi taimeperekonna ühe esindaja puhul, siis võib seda meetodit enamasti sama edukalt kasutada ka selle perekonna teiste liikide juures (Sharma, Bhattacharyya, 1960). Teiselt poolt on aga teada juhtumeid, kus erinevad autorid on isegi ühe ja sama liigi tsütogeneetiliseks iseloomustamiseks soovitanud vägagi erinevat metoodikat.

Keemiliseks eelmõjutamiseks on katsetatud väga mitmesuguste, isegi selliste tavalises majapidamises kasutatavate ainete mõju nagu naftaliin ja kamper. On proovitud isegi kohvi, tee ja tubaka mõju (D'Cruz et al., 1967). Enam on taimeliikide uurimisel kasutamist ja soovitamist leidnud aga sellised ühendid nagu kolhitsiin (Skvosted, 1953; Wolff, Luippold, 1956; Ourecky, 1966, 1970 jt.), α -broomnaftaleen (Bhaduri, Ghosh, 1954; Mehra, Khoshoo, 1956), monobroomnaftaleen (Giorgi, Bozzini, 1969 a, b, c, d), paradikloorbenseen (Meyer, 1945; Sharma, Hookerjee, 1955; Brat, 1964; Lepper, 1968 jt.), kumariin (Sharma, Bal, 1953), 8-oksükinoliin (Tjio, Levan, 1950; Sharma, Bhattacharjee, 1952; Грифф, 1960; Ostergren, Heneen, 1962), äskuliin (Sharma, Sarkar, 1955), isopsoralleen

(Chaudhuri et al., 1962; Sharma, Tulsi Raju, 1968), mitmed fenoolsed ühendid (Sharma, Bhattacharyya, 1956), kloraalhüdraat (Sharma, Bhattacharyya, 1960) jt.

Okaspuuliikide karüoloogiliseks uurimiseks on valdav enamus autoreid kasutanud kolhitsiini, mõjutades enamasti idujuurekesi kolhitsiini vesilahusega. Kasutatud lahuse kontsentratsioon on seejuures olnud väga erinev: 0,01% (Правдин, 1964; Shams-ur-Rehman Perveen, 1970), 0,03% (Simak, 1966), 0,1% (Morgenstern, 1962; Simak, 1962; 1964), 0,2% (Natarajan et al., 1961; Yim, 1963; Winton, 1964; Pederick, 1967; Hair, 1968), 0,25% (Christiansen, 1963), 0,3% (Bevilacqua, Vidakovič, 1963) ja 1,0% (Mergen, Novotny, 1957; Burley, 1965; Шермановский, 1968). Mõjutamise kestvus on olnud samuti väga erinev varieerudes ühest kuni neljakümne kaheksa tunnini. Samal ajal märgib aga L.C. Saylor (1961), et mitmete männiliikide karüoanalüüsil ei andnud juuretippude eelmõjutamine kolhitsiiniga rahuldavaid tulemusi ja soovib kasutada 8-oksiükinoliini 0,002-molaarset vesilahust, mõjutades sellega juuretippe 24 kuni 36 tundi 12° C juures. Siiski jääb kolhitsiiniga võrreldes teiste keemiliste ühendite kasutamine okaspuude karüoloogilisteks uurimusteks tagasihoidlikuks. Kasutamist ja soovitamist on leidnud veel α -broomnaftaleen (Mehra, Khoshoo, 1956; Kumar et al., 1966), 8-oksiükinoliin (Mohmeder, Schönbach, 1959; Saylor, 1961; 1964; Saylor, Simons, 1970) ja kastoorõli (Fozdar, Libby, 1968).

Alkaloid kolhitsiini kasutamisel eelmõjutamiseks on märkimisväärse tulemusega suudetud rahuldada vähemalt

seda mõnet, et metafasaasfiguuride esinemissagedus preparaadis olgu võimalikult suur. Seda on saavutatud väga mitmetel liikidel. Teatavasti iseloomustabki ju kolhitsiini eelkõige võime peatada mitoos metafasaasi staadiumis ja võrdeliselt mõjutamise kestvusega üha rohkem akumul eerida metafasaasfigure. Kolhitsiinilahuse kontsentratsioon peab aga vastama uuritava liigi tundlikkusele kolhitsiini suhtes. Liialt tugev kontsentratsioon võib täielikult halvata rakkude jagunemise.

Võrreldes teiste, samuti keemiliseks eelmõjutamiseks kasutatavate antimitootiliste ainetega, on kolhitsiinil veel see eelis, et ta säilitab oma aktiivse toime väga suures temperatuurivahemikus (Sharma, Sharma, 1965). Kõige selle juures saavutatakse kolhitsiiniga paljudel juhtudel ka kromosoomide morfoloogiliste põhitunnuste rahuldav ilming. See tähendab, et osutub võimalikuks küllaldatakse selgusega eristada kromosoomidel nii primaar- kui ka sekundaarsooniseid.

Peale kolhitsiini avaldavad metafasaasi staadiumis suuremal või vähemal määral antimitootilist toimet veel 8-oksükinoliin (Stalfelt, 1960), kloraalhüdraat (Sharma, Ghosh, 1969), heksakloortsükloheksaan (Sharma, Ghosh, 1969) jt.

Mõni kemikaal võib teatava liigi või lähedaste liikide suhtes olla toimelt küllaltki spetsiifiline. Sellest annab tunnistust fakt, et väga paljudes karüoloogilistes uurimustes on sobivaima meetodika leidmiseks proovitud eelnevalt mitmete kemikaalide toimet, et siis peatuma jääda kõige paremaid tulemusi andnud variandi juurde (Bhatta-

charyya, Jenkins, 1960; Sharma, Mallick, 1965; Sharma, Mukhopadhyay, 1965; Malik, Thomas, 1966; Sharma, Bhattacharya, 1966; Ferakova, 1968; Ghosh, 1968 a, b; Sharma, Ghosh, 1968; Ghosh, 1969; Kaul, 1969; Rychlewski, 1970). Mitmete liigidele pole sobivat menetlust leitudki. Uurides näiteks Stellaria nemorum'i karüotüüpi märgivad G.K. Slim ja A. Koopmans (1968), et kuigi katsetati mitut keemilise eelmõjutamise viisi, ei õnnestunudki leida sellist, mis oleks andnud täiesti rahuldavaid tulemusi.

Üheks karüoanalüüsi üldmetoodikast lähtuvaks nõudeks on range kinnipidamine antud liigile valitud metoodikast. Nimetatud nõue haarab nii keemilist eelmõjutamist, fikseerimist, värvimist jm. Kahjuks ei peeta sellest nõudest alati kinni, kuigi kirjandusest võib kohata mitmete autorite tähelepanekuid, et muutused kromosoomide morfoloogias võivad olla tingitud juba ainuüksi erinevate välisingimuste (temperatuur, rõhk jm.) mõjust (Гриф и Соболева, 1965). Küllaltki spetsiifiline võib kromosoomide morfoloogilise ehituse väljatoomisel olla erinevate fiksaatorlahuste või ka värvainete mõju (Левитский, 1934; Wakonig-Vaartaja, Read, 1965). On avaldatud isegi arvamust, et ühe ja sama uuritava liigi piires võivad kromosoomide mõtmed oluliselt erineda eri kudede rakkudes (Kurabayashi et al., 1962).

Kelmõjutamise metoodikas jääb siiski peamiseks leida uuritavale liigile sobivaim lahuse kontsentratsioon ja optimaalne mõjutamise kestvus. Eriti tähtis on see satelliitidega kromosoomide korral, kui tuleb täpsemalt kindlaks teha sekundaarsooniste olemasolu ja asukoht.

Sekundaarsooniste olemasolu või puudumise üle otsustamine võib aga teatud juhtudel olla küllaltki määrav, eriti selliste kariotüüpide analüüsimisel, milles kromosoomid on raskesti eristatavad ainuiks nende pikkuse ja primaarsoonise asukoha alusel. Selliste liikide hulka kuuluvad ka okaspuud.

Tähelepanekud mitmete erinevate taimeliikide kariotüüpide analüüsil on näidanud, et mida tugevamaastmeliselt toimub kromosoomide kontraktsioon metafasis, seda vähem ilmnevad neil sekundaarsoonised (Heneen, 1962 b, Kurabayashi et al., 1962; Patil, Deodikar, 1967 jt.). Eriti ilmneb see nähtus nn. lineaarsete satelliitidega kromosoomide juures. Need on E. Battaglia (1955) järgi sellised kromosoomid, mille satelliit ei ole klassikaliselt tüüpiline nõõpnõelapeasarnane moodustis, vaid sekundaarsoonisega eraldatud suurem kromosoomi osa. Paljudel juhtudel ilmneb erakordselt suur varieeruvus sekundaarsoonist moodustava akromaatilise piirkonna laiuses. Selline varieeruvus võib avalduda vastavate SAT-kromosoomide, s.o. sekundaarsoonistega kromosoomide, kõrvutamisel erinevates metafasises või isegi sama metafasifiguuri homologiliste kromosoomide vahel (Blixt, 1958; Heneen, Runemark, 1962; Giorgi, 1965; Strid, 1965 b; Hair, 1968; Bent, Smith, 1969; Bentzer, 1969; Grover, Malik, 1969; Rajhathy, 1969; Fernandez, 1970; Hedberg, 1970; Морчанский и др., 1971).

Arvestades kõike eelpoolnimetatut seatigi hariliku kuuse *Picea abies* (L.) Karst./ kariotüüpide analüüsil esmaseks ülesandeks nimetatud liigile eelmõjutamiseks kõige sobivama mõjuaine ja optimaalse mõjutamisrežiimi leidmine.

2. Material ja metoodika

Taimede karüoanalüüsiks kasutatakse enamasti idujuurte tipmisest osast eraldatud koetükikesi, mis sisaldavad intensiivselt jagunevaid algkoe-rakke. Ka okaspuude karüoanalüüsiks kasutatakse juuretippe, kui uuritavad puud on jõudnud seemnekandmise ikka. Vähem leiavad karüoanalüüsil kasutamist võrsete kasvukuhikud, milles mitosisid toimuvad sesoonselt.

Käesolevas töös valmistati preparaadid idujuurte meristeemkoest. Harilikku kuuse seemned varuti Eestist, Elva metsamajandist. Seemned idandati Petri kausis, Ohukesele vatikihile asetatud niiskel filterpaberi lehekesel. Idandati termostaadis $+26 (\pm 1)^\circ \text{C}$ juures. Kui idujuured olid kasvanud 7 - 10 mm pikkuseks, paigutati idanevad seemned eelmõjutamise lahusesse. Eelmõjutamiseks sobivaima mõjuaine leidmiseks võrreldi kolhitsiini, 8-oksükino-liini, paradikloorbenseeni ja kumariini mõju. Viimatini-metatud kolm ühendit on paljude teiste, väga erinevatesse sugukondadesse kuuluvate kattesemmeliste taimede kromosoomide uurimisel enam kasutamist leidnud ja häid tulemusi andnud. Sobivaima eelmõjutamismenetluse kindlakstegemiseks võrreldi nimetatud mõjuainete toimet erinevate kontsentratsioonide ja mõjutamisaegade juures:

- 1) 8-oksükinoliini 0,002 M vesilahus 4, 12, 23 ja 36 tundi +12 kuni +15° C juures;
- 2) kupariini küllastatud vesilahus 12, 24 ja 36 tundi +16 kuni +20° C juures;
- 3) paradikloorbenseeni küllastatud vesilahus 4, 12, 16 ja 24 tundi +16 kuni +20° C juures;
- 4) kolhitsiini 0,1 %-line vesilahus 8, 12, 20 ja 29 tundi toatemperatuuril;
- 5) kolhitsiini 0,2 %-line vesilahus 5 ja 6 tundi toatemperatuuril;
- 6) kolhitsiini 1,0 %-line vesilahus 4 tundi toatemperatuuril.

Belmõjutamisele järgnes juuretippude põhjalik loputamine destilleeritud veega. Puuduliku loputamisega võib eriti kolhitsiini kasutamisel kaasneda fiksaatori mitte-küllaldane imendumine materjalisse (Sharma, Sharma, 1965). Juuretippude fikseerimiseks kasutati ühte kõige lihtsamat ja kättesaadavamat segu: 96 %-lise etanooli ja jää-äädik-happe segu vahekorras 3:1. Fikseerimise aeg ulatus 1/2 tunnist kuni 2 tunnini. Eesmärgiks oli ühtlasi leida minimaalne fikseerimisaeg, mis tagaks materjali täieliku fikseerimise ja kromosoomide normaalse värvumise. Värvimiseks prooviti atseeto-ortseiini, atseeto-karmiini ja Feulgeni meetodit.

Materjali paremaks matsereerimiseks kasutati 2 %-lise atseeto-ortseiini ja 1 N HCl segu vahekorras 9:1, hoides juuretippe selles lahuses kõigepealt 30 minutit +60° C juures ja sellele järgnevalt samas segus veel 30-45 minutit toatemperatuuril. Fikseeritud ja värvitud juuretippu-

dest valmistati surupreparaadid üldtuntud meetodil. Täienduseks viimasele võib nimetada asjaolu, et juuretipest eraldatud meristeemkoe tükike suruti alusklaasi ja katteklasi vahel üherakuliseks kihiks 45%-lise äädikhappe tilgas. Sellega välditi tsütoplasma hilisemat kaasavärvumist, mis ilmnis siis, kui laialisurumine toimus atseeto-ortseiini tilgas. Iga meetoodilise variandi kohta valmistati 10-20 preparaati, vaadeldud metafaaside üldarv ulatus ca 6000-ni.

Fikseeritud materjali hoiti 70 %-lises etanoolis külmutuskapis. Vähemalt kuu-kahe jooksul säilis selliselt hoitud materjalil võime rahuldavalt värvuda, kuigi C.D. Darlington ja L.F. La Cour (1947) väidavad, et 70 %-lises etanoolis säilitatud materjali värvimiseks ei sobi enam atseeto-ortseiin. Rohkem kui paarikuulisel säilitamisel halvenes tõepoolest järk-järgult kromosoomide värvumine ja suurenes tsütoplasma värvumine.

Vajaduse korral viidi ajutised surupreparaadid üle nn. poolpüsivateks. Selleks soovitatakse katteklasi servad katta kas parafiiniga, parafiini ja balsami seguga, kummimastiksi ja parafiini seguga jm. (Kawano et al., 1966; Singh, Singh, 1966; Sheriff, Mahalakshmi, 1969). Käesolevas töös kasutati katteklasi servade ja alusklaasi vahelise pilu katmiseks vaseliini. Võtte rahuldab täielikult. Hiljem külmutuskapis hoituna säilusid sellised preparaadid peaaegu muutumatutena mitmeid kuid.

Preparaatide analüüsimisel kasutati mikroskoopi МБН-6, mikrofotode tegemiseks fotoaparaati "Zorki-4" ja filmi "Mikrat-300".

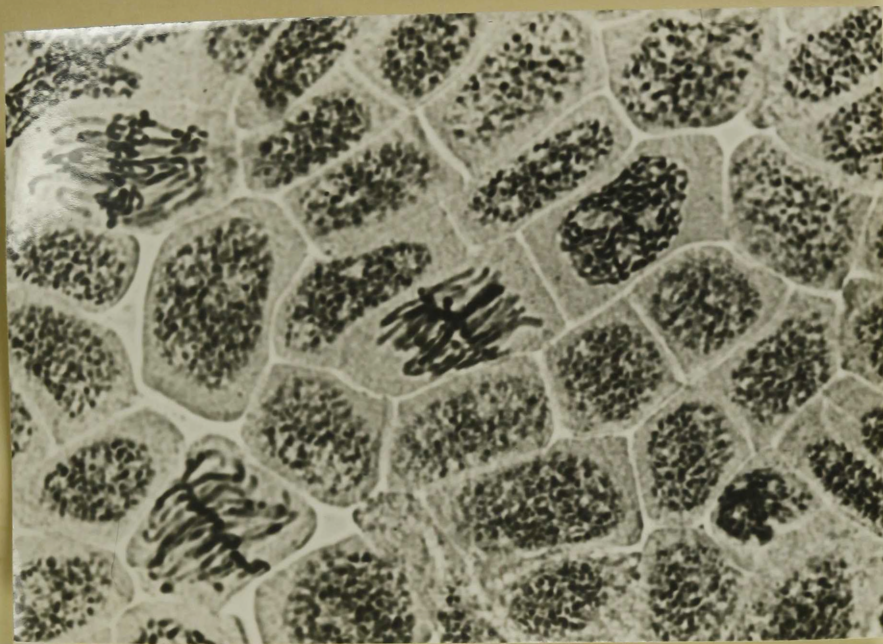
Preparaatide esialgseks läbivaatamiseks kasutati 500-kordset üldsuurendust (okulaar lox , objektiiv 20x). Parimate metafaasfiguuride lähemaks analüüsimiseks kasutati 1500-kordset üldsuurendust (okulaar lox , objektiiv 60x). Fotografeerimiseks kasutati enamasti objektiivi 60x kombinatsioonis fotookulaariga lox, 12,5x, 15x või 20x.

3. Eksperimentaalsed tulemused ja arutelu

Karüoanalüüsi esmaseks ülesandeks on leida preparaadist kromosoomide lähemaks uurimiseks ja mõtmiseks kõige sobivamad metafasaasfiguurid. Okaspuude karüoanalüüsil on see seotud tavalisest suuremate raskustega. Nagu kirjanduse ülevaates juba märgitud, on siin olulisteks takistusteks okaspuude kromosoomide suhteliselt suur pikkus ja samal ajal nende küllaltki suur arv (sugukonnas Pinaceae $2n = 24$). Samuti on idujuurte meristeesrakude mõtmed võrreldes kromosoomide hulga ja suurusega suhteliselt väikesed (joon. 1 ja 2), mis ei võimalda kromosoomide küllaltki hajumist metafasaasis isegi keemilise eelmõjutamise järel (joon. 2). Parim kromosoomide hajuvus saavutatakse suhteliselt suuremates rakkudes ja sedagi ainult pärast keemilist eelmõjutamist. Vastasel juhul kujuneb isegi kromosoomide loendamine metafasaasis väga raskeks.

Erinevate eelmõjutamisviiside järgi valmistatud preparaatide analüüsimisel ja hindamisel võeti aluseks järgmised nõuded:

- 1) võimalikult suur metafasaaside esinemissagedus;
- 2) kromosoomide kontrastne värvumine värvumata tsütoplasma foonil;
- 3) kromosoomide optimaalne kontraktsioon, millega kaasneks kromosoomide võimalikult täielikum sirgenemine



Joon. 1. Hariliku kuuse juuretipu keemiliselt mõjutamata meristeemrakud (x 700).



Joon. 2. Hariliku kuuse juuretipu meristeemrakud pärast 5-tunnilist mõjutamist 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega (x 700).

ja hajumine metafasis;

- 4) kromosoomide peamiste morfoloogiliste tunnuste (primaar- ja sekundaarsooniste) eristamisvõimalus.

Preparaatide hindamine toimus suhteliste hindamisühikute alusel. Hindamisandmed on kokkuvõtlikult esitatud tabelis 1.

Üheks olulisemaks erinevuseks, mis lännes erinevate variantide võrdlemisel, osutus *m e t a f a a s i d e e s i n e m i s s a g e d u s* uuritavais preparaatides. Kolhitsiiniga mõjutatud idujuurtes on metafasiside esinemine suhteliselt sage nii 0,1 %-lise, 0,2 %-lise kui ka 1,0 %-lise lahuse korral. 8-oksükinoliini 0,002-molaarse lahuse mõjul leidub preparaatides metafase mõnevõrra vähem, kuid siiski küllalt piisavalt selleks, et nende hulgast valikut teha. Erinevalt kolhitsiinist ja 8-oksükinoliinist vähendavad kumariin ja paradikloorbenseen metafasiside esinemist preparaatides. Metafaasfiguuride esinemissagedus jääb oluliselt väiksemaks võrreldes esinemisega mõjutamata preparaatides. Leidus isegi preparaate, kus metafasisid (samuti ka teised mitoosi faasid) puudusid praktiliselt täiesti.

Alkaloid kolhitsiini puhul osutub nimetatud tulemus seaduspäraseks. Tugeva käävimürgina tuntud kolhitsiin peatab rakkude jagunemise just metafasisi staadiumis. Kuna seejuures profaasid preparaatides peaaegu puuduvad, võib arvata, et profaaside arvel toimub täiendavalt metafasiside akumulatsioon. See tähendab, et mõjutamise algusmomendil profaasis olevad rakud lähevad üle metafasisi ilma, et ka kõige tugevam kolhitsiinilahuse kontsentratsioon (1,0 %)

Tabel 1

Keemilise eelnõjutamise efektiivset hariliku kuuse kartoonanalüüsil

Eelnõjutamise meetodika			Analüüsitavaid tunnuseid							
Mõjuaine	Lahuse kont- sentratsioon	Mõjute- mise kestvus (t)	Metafaaside osinemine	Kromosoomide värvinine	kontraktsioon	sirgenemine	hajumine	Primärssooniste eristatavus	Sekundaarssooniste eristatavus	
8-oksü- kinoliin	0,002 M	4	piisav	rahuldav	peaaegu puudub	kõik sirge- nemata	vähene	halb	väga halb	
		12	"	"	keskmine	enamus sirge- nemata	"	"	" "	
		23	"	"	tugev	"	"	keskmine	rahuldav	" "
		36	"	"	väga tugev	enamus sir- genenud	küllaldane		hea	" "
Kumariin	küllastatud	12	väga harv	rahuldav	nõrk	kõik sirge- nemata	keskmine	halb	väga halb	
		24	" "	"	keskmine	enamus sir- genenud	küllaldane	rahuldav	halb	
		36	" "	"	tugev	enamus sir- genenud	"	hea	väga halb	
Paradi- kloor- bensoon	küllastatud	4	väga harv	rahuldav	peaaegu puudub	kõik sirge- nemata	vähene	rahuldav	väga halb	
		12	" "	"	keskmine	" "	"	halb	halb	
		16	" "	"	tugev	enamus sir- genemata	keskmine	"	"	
		24	" "	"	väga tugev	enamus sir- genenud	küllaldane	rahuldav	väga halb	
Kolhit- siin	0,1 %	8	sage	rahuldav	keskmine	enamus sir- genenud	keskmine	hea	halb	
		12	"	"	tugev	" "	küllaldane	"	väga halb	
		20	"	"	väga tugev	" "	"	"	" "	
		29	"	"	" "	kõik sirge- nenud	"	halb	" "	
		5	sage	rahuldav	keskmine	enamus sir- genenud	küllaldane	hea	rahuldav	
0,2 %	6	"	"	"	" "	"	"	"		
	4	sage	rahuldav	nõrk	enamus sir- genemata	keskmine	hea	rahuldav		

halvaks seda protsessi. Karüoanalüüsi seisukohalt tuleb positiivseks lugeda veel asjaolu, et hariliku kuuse rakkudes jääb kromosoomide arv ka pärast kirjeldatud mõjutamist kolhitsiiniga siiski diploidseks: kromatiidid jäävad omavahel seotuks ja raku polüploidiseerumist enamasti ei toimu.

8-oksükinoliinil ilmutab samuti teatud antimitootilist toimet, kutsudes esile mitoosi peetumist metafasis. 8-oksükinoliini antimitootiline toime avaldub aga ilmselt vähemal määral kui kolhitsiinil. Nagu selgitavad A.K. Sharma ja A. Sharma (1965) seletub 8-oksükinoliini väiksem k-mitootiline toime erineva toimemehhanismiga. Nimelt ei hävine 8-oksükinoliini mõjul kääviniidistik, nagu see enamasti toimub kolhitsiini mõjul. 8-oksükinoliini keskkonnas säilib nii kääviniidistik kui ka kromosoomide kinnitus nende külge. Kromosoomide liikumist takistavaks teguriks kujuneb hoopis 8-oksükinoliini toimel suurenenud tsütoplasma viskoossus (Stalfelt, 1950).

Kumariini ja paradikloorbenseeni kasutamine hariliku kuuse juuretippude eelmõjutamiseks osutub aga ilmselt ebasobivaks just seetõttu, et nimetatud kemikaalide mõjul rakkude mitootiline jagunemine pidurdub suuremal või vähemal määral. Juba alanud mitoosid kulgevad lõpuni, uusi aga kumariiniga ja paradikloorbenseeniga küllastatud keskkonnas enam ei alga.

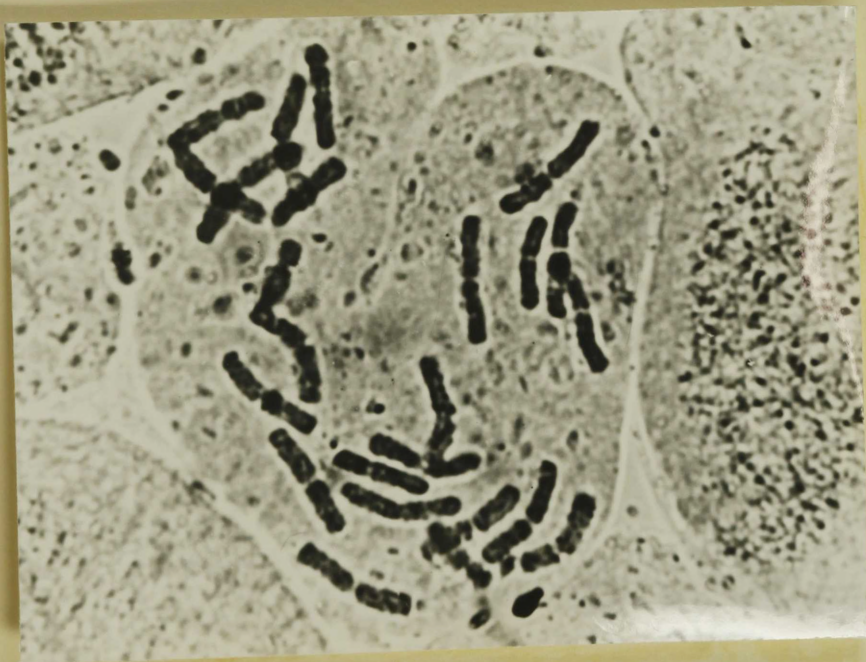
Kromosoomide värvumisel andis täiesti rahuldavaid tulemusi värvimine ortseliiniga. Pärast 2-tunnilist fikseerimist atseeto-etanoolis (1:3) ja värvimist 2%-lise atseeto-ortseliiniga võis kõikide eelmõjutamisviiside korral küllaldase selgusega eristada kromo-

soomide piirjooni värvumata või nõrgalt värvunud tsütoplasma foonil, värvimisel karminiga värvub enamasti ka tsütoplasma liiga tugevasti kaasa. Feulgen-meetodi kasutamine kromosoomide värvimisel on aga üsna tülikas; aeganev. Atseeto-ortseiini lahuse valmistamine ja kasutamine on suhteliselt lihtsam. Seega kromosoomide värvumise sõltuvust eelmõjutamiseks kasutatud keemilise mõjuaine liigist, kasutatud kontsentratsioonist või mõjutamise kestvusest ei täheldatud.

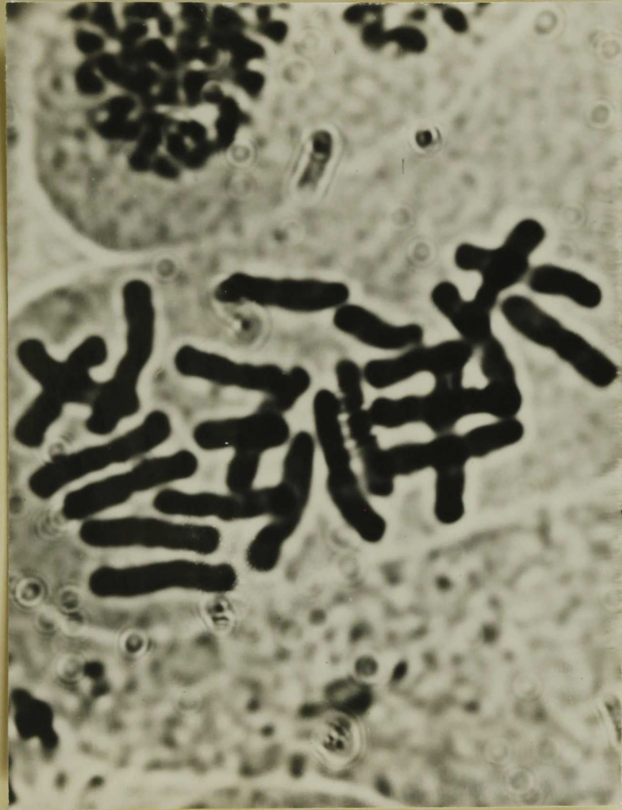
Karüosanalüüsi seisukohalt peetakse materjali eelmõjutamisel üheks tähtsamaks eesmärgiks optimaalseima kromosoomide kontraktsiooniastme saavutamist. Teatavasti suureneb eelmõjutamise kestvuse pikenemisega järk-järgult ka kromosoomide kontraktsioon. Just kontraktsiooniga aga seostub kõige vahetumalt kromosoomide sirgenemine ja samaaegne hajumine metafasis ning primaar- ja sekundaarsooniste eristatavus. Neid kriteeriume silmas pidades osutus vaatluse all olnud kemikaalidest hariliku kuuse kromosoomide morfoloogia uurimiseks kõige sobivamaks kolhitsiin. Kolhitsiini kasutamisel suureneb kromosoomide kontraktsioon koos mõjutamise kestvuse pikenemisega (joon. 3, 4, 5). Samal ajal jääb kontraktsiooniastme sõltuvus kolhitsiinilahuse erinevatest kontsentratsioonidest vähe märgatavaks. Kolhitsiin aitab kõige soodsamalt kaasa kromosoomide õlgade sirgenemisele metafasis, millega samaaegselt kaasneb kromosoomide märgatav hajumine rakus. Viimane asjaolu on eriti oluline nii primaar- kui sekundaarsooniste asukoha kind-



Joon. 3. Metafaas pärast 12-tunnulist raku mõjutamist 0,1 %-lise kolhitsiini- lahusega (x 1800).



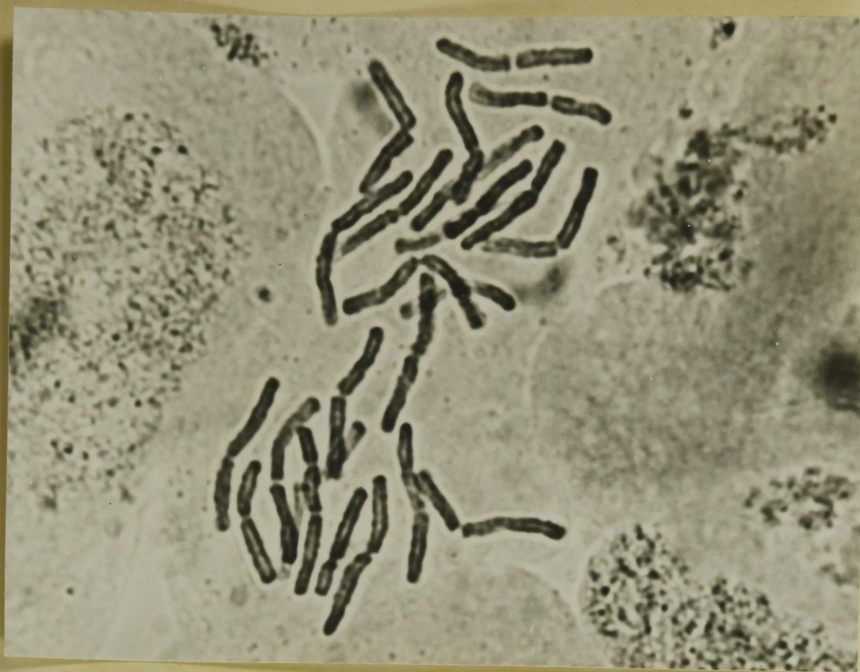
Joon. 4. Metafaas pärast 20-tunnulist raku mõjutamist 0,1 %-lise kolhitsiini- lahusega (x 1800).



Joon. 5. Metafaas pärast 29-tunnilist raku
mõjutamist 0,1 %-lise kolhitsiini-
lahusega (x 1800).

lakstegemisel; kui kromosoomid jäävad omavahel põimunuks, võib mõnedel kromosoomidel sooniste asukoht jääda varjatuks teiste kromosoomide poolt.

S o o n i s t e rahuldava nähtavuse tagamiseks sobib ainult teatud kestvusega mõjutamine. Kõige "tundlikumaks" mõjutamise kestvuse ja seega ka kontraktsioonistme suhtes jääb sekundaarsooniste ilmumine. Paremaid tulemusi annab siin eelmõjutamine 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega 5 kuni 6 tunni vältel. Pärast nimetatud eelmõjutamist võib suhteliselt rohkem leida metafasefigure, mis rahuldavalt sobivad karioteanalüüsiks: kromosoomid ilmnevad enamuses sirgetena, üksteisega vähe põimunutena, raskusteta võib eristada primaarsooniste asukohti ja rahuldava selgusega ilmnevad enamasti ka sekundarsoonised (joon. 6 ja 7). Mõjutamisel 1,0 %-lise kolhitsiinilahusega 4 tunni vältel jäävad kromosoomid suuremal määral looklevaiks ja seega halvemini mõõdetavaiks (joon. 8). Mõjutamine 0,1 %-lise kolhitsiinilahusega 8 tunni kestel põhjustab enamasti juba liiga tugeva kontraktsiooniefekti. Mõjutamine veelgi pikema aja, s.o. 12, 20 ja 29 tunni vältel osutub sekundaarsooniste nähtavuse seisukohalt ilmselt ülemääraseks. Koos kontraktsioonistme suurenemisega väheneb sooniste eristamisvõimalus. Väga tugeva kontraktsioonistme korral osutuvad ka primaarsooniste asukohad raskesti nähtavaiks. Selline tulemus saadi pärast 29-tunnilist mõjutamist 0,1 %-lise kolhitsiinilahusega, kus kromosoomid omandasid lühikeste jämedate pulgakeste kuju, kusjuures primaarsooniste asukohti oli raske märgata (joon. 5). Tuleb lisada, et ka



Joon. 6. Metafaas pärast 5-tunnilist raku
mõjutamist 0,2%-lise kolhitsiini-
lahusega (x 1800).



Joon. 7. Metafaas pärast 6-tunnilist raku
mõjutamist 0,2%-lise kolhitsiini-
lahusega (x 1800).



Joon. 8. Metafaas pärast 4-tunnilist raku mõjutamist 1,0%-lise kolhitsiini- lahusega (x 1800).



Joon. 9. Metafaas pärast 36-tunnilist raku mõjutamist 0,002-molaarse oksükino- liinilahusega (x 1800).

pärast mõjutamist 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega leidub kõrvuti optimaalse kontraktsiooniastme saavutanud metafaasidega rohkesti metafaasfigure, kus kromosoomide kontraktsioon on saavutanud juba liiga tugeva astme või vastupidi, osutub veel suhteliselt nõrgaks. Niisugune varieerumine kontraktsiooniastmes sõltub sellest, millises faasis oli rakk momendil, kui ta allutati eelmõjutamisele kolhitsiiniga.

Sooniste eristamise seisukohalt osutub nii 8-oksükinoliini, kumariini kui ka paradikloorbenseeni kasutamine ebasobivaks. Pärast 36-tunnilist mõjutamist 8-oksükinoliiniga võis leida küll metafaasfigure, millel kromosoomide õlad olid küllaldaselt sirgenenud ja omavahel vähe põimunud ning ka primaarsooniste asukohta võis kindlalt eristada, kuid millel sekundaarsooniste olemasolu jäi raskesti aimatavaks (joon. 9). Sekundaarsooniste eristamine osutub praktiliselt võimatuks ka pärast 12- ja 23-tunnilist mõjutamist 8-oksükinoliiniga, kuigi nimetatud kemikaal on paljude katteseemmeliste hulka kuuluvate taimeliikide kromosoomide uurimisel andnud väga häid tulemusi nii primaar- kui ka sekundaarsooniste eristamisel. Käesolevaid ebarahuldavaid tulemusi tuleb tõenäoselt seletada nii 8-oksükinoliini toimemehhanismi iseärasustega kui ka klassikaliselt tüüpiliste satelliitide puudumisega uuritava liigi kromosoomidel. J.H. Tjio ja A. Levani (1950) järgi toimub 8-oksükinoliiniga mõjutatud kromosoomide kontraktsioon kummaski õlas eraldi, õla otstest (s.t. telomeerist ja tsentromeerist) keskkoha suunas. Okaspuude kromosoomidele enamasti iseloomulike, nn. lineaarsete

satelliitide korral võib sekundaarsoonis paikneda õla keskkoha läheduses, teiste sõnadega kohas, kus kromatiinaine kondenseerumine toimub nagu kahest suunast, kusjuures tõenäoselt täitub kromatiinainega ka sekundaarsoonise piirkond.

Kumariini kasutamisel toimub kromosoomide kontraktatsioon samuti enam-vähem võrdeliselt mõjutamise kestvusega (joon. 10, 11, 12). Põhiliseks takistuseks kumariini kasutamisel hariliku kuuse karüoanalüüsil jääb eespoolnimetatud madal metafasaaside esinemissagedus uuritavais preparaatides. Muus osas võib näiteks pärast 24-tunnilist mõjutamist lugeda tulemusi küllalt rahuldavaiks. Nimelt leidub pärast sellist mõjutamist vähesel arvul metafasaasfigure, kus kromosoomid ilmnevad suhteliselt sirgetena ja vähe põimunutena. Ka primaarsooniste asukohta võib rahuldavalt eristada. Sekundaarsoonised ilmnevad märksa halvemini. Siiski võiks selliseid metafasaasfigure karüoanalüüsil kasutada (joon. 11), kui neid arvukamalt leidsuks.

Veelgi ebasobivamaid tulemusi andsid katsed paradikloorbenseeni kasutamisel hariliku kuuse kromosoomide uurimisel. Mõjutamine 4 tunni vältel ei anna peaaegu mingit efekti kromosoomide kontraktatsiooni suhtes. Kestvam mõjutamine 12, 16 või 24 tunni vältel võib järk-järgult esile kutsuda vägagi tugeva kromosoomide kontraktatsiooni (joon. 13, 14, 15), saavutamata jääb aga nii primaar- kui ka sekundaarsooniste rahuldav eristatavus. Ka mõõdukama kontraktatsiooniastme juures, pärast mõjutamist 12 ja 16 tunni jooksul, pole sooniste asukohad hästi eristatavad.



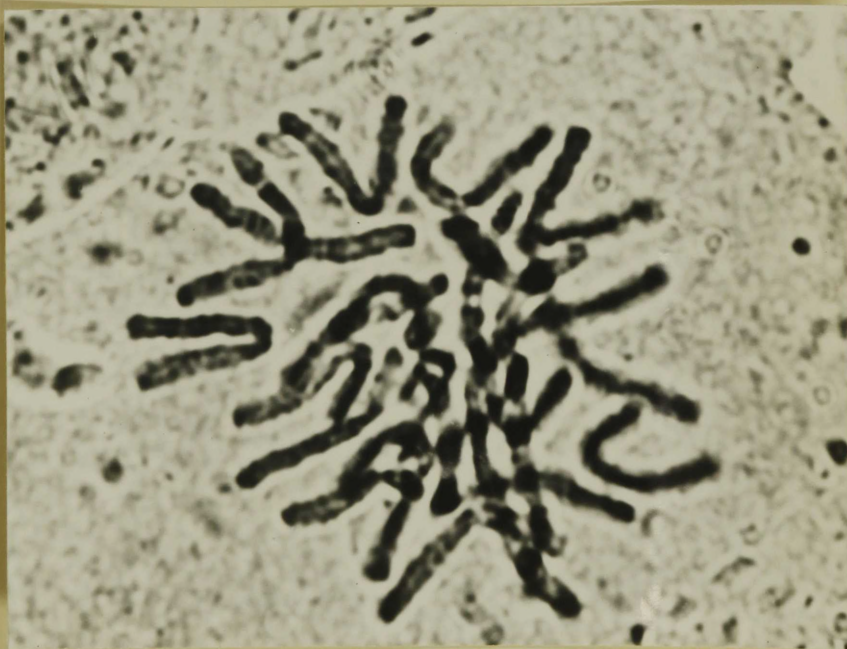
Joon. 10. Metafaas pärast 12-tunnilist raku
mõjutamist kumariinilahusega (x 1800).



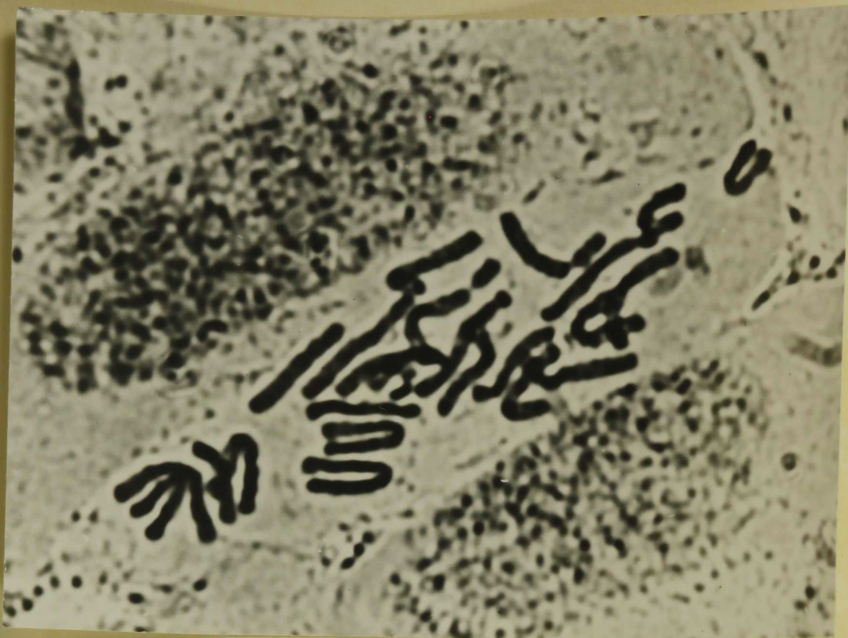
Joon. 11. Metafaas pärast 24-tunnilist raku
mõjutamist kumariinilahusega (x 1800).



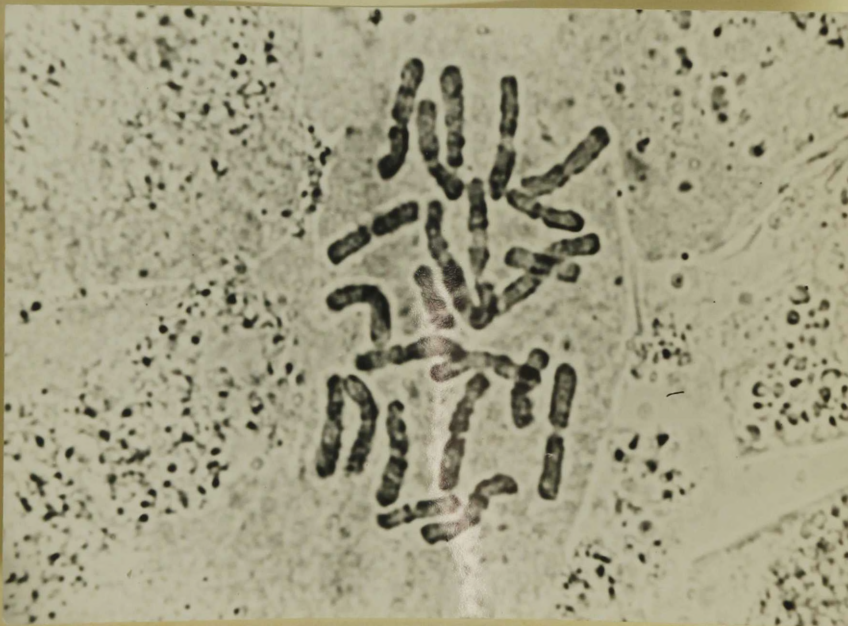
Joon. 12. Metafaas pärast 36-tunnilist raku
mõjutamist kumariinilahusega (x 1800).



Joon. 13. Metafaas pärast 12-tunnilist raku
mõjutamist paradikloorbenseenila-
husega (x 1800).



Joon. 14. Metafaas pärast 16-tunnilist raku mõjutamist paradikloorbenseenilahusega (x 1800).



Joon. 15. Metafaas pärast 24-tunnilist raku mõjutamist paradikloorbenseenilahusega (x 1800).

Samal ajal jäävad kromosoomid valdavalt veel looklevaiks ja üksteisega põimunuks.

Tehes kokkuvõtet erinevate kemikaalide kasutamisevõimaluste uurimise tulemistest harilikku kuuse karüoanalüüsiks võib märkida järgmist:

- 1) metafafaaside esinemissagedus preparaatides sõltub otseselt eelmõjutamiseks kasutatavast keemilisest reaktiivist ja osutub kõige suuremaks kolhitsiiniga mõjutamisel;
- 2) kromosoomide värvumine ortseiiniga jääb kõigi eelmõjutamisvariantide korral rahuldavaks ega sõltu märgatavalt kasutatavast reaktiivist, lahuse kontsentratsioonist ega mõjutamise kestvusest;
- 3) kromosoomide kontraktsioon ei ole reaktiivspetsiifiline, kuid sõltub mõjutamise kestvusest, suurenedes mõjutamisaja pikenemisega;
- 4) kromosoomide sirgenemine ja hajumine metafafaasis on üldiselt korrelatsioonis kromosoomide kontraktsiooniga; kestvamal mõjutamisel ja seega kontraktsiooniastme suurenemisel toimub kõige märgatavam kromosoomide sirgenemine ja hajumine;
- 5) primaarsooniste eristatavus sõltub nii mõjuaine liigist kui ka mõjutamise kestvusest; 8-oksikinoliini ja kumariini kasutamisel suureneb primaarsooniste eristatavus koos mõjutamise kestvuse suurenemisega; kolhitsiini kasutamisel ilmneb vastupidine nähe - kestvamal mõjutamisel väheneb primaarsooniste eristamisvõimalus; paradikloorbenseeni kasutamisel aga osutub primaarsooniste avaldumise suhtes kõige vähem sobivaks keskmise

kestvusega mõjutamine, paremini ilmnevad primaarsoonised pärast 4- ja 24-tunnilist mõjutamist.

- 6) sekundaarsooniste eristamiseks sobib kõige enam mõjutamine 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega 5 kuni 6 tunni kestel.

Seadud tulemused kinnitavad mitmete okaspuude karüoanalüüsiga tegelnud autorite õigustatud valikut kasutada uuritava materjali eelmõjutamiseks kolhitsiini. Enamasti ei ole aga lähemalt põhjendatud, miks valiti eelmõjutamiseks kolhitsiinilahuse üks või teine kontsentratsioon ja vastav mõjutamise kestvus. Kasutatud kontsentratsioonid varieeruvad erinevatel autoritel alates 0,01 %-st kuni 1,0 %-ni, kusjuures erinevused mõjutamise kestvuses ulatuvad ühest kuni neljakümne kaheksa tunnini. Selline suur varieeruvus viitab asjaolule, et ilmselt on valik ühe või teise mõjutamisrežiimi kasuks tehtud juhuslikult. Suuremat tähelepanu okaspuude karüoanalüüsi meetodilisele küljele on pööranud vaid vähesed autorid. Kolhitsiini ja 8-oksükinoliini kasutamisevõimalusi sitka kuuse (Picea sitchensis) karüoanalüüsil on lähemalt analüüsinud J. Burley (1965). F. Mergen ja J. Burley (1964) on samalaadse võrdluse läbi viinud mitmete nululiikide (Abies sp.) karüoanalüüsil. Sitka kuuse karüoanalüüsil uuris J. Burley 0,002 M 8-oksükinoliini toimet 24-tunnilisel mõjutamisel, 1,0 %-lise kolhitsiinilahuse toimet 5-tunnilisel mõjutamisel ja nende mõlema koosmõju: 5-tunnilisele mõjutamisele kolhitsiiniga järgnes 24-tunniline mõjutamine 8-oksükinoliiniga. Nululiikide karüoanalüüsil katsetati lisaks nimetatud variantidele veel 0,5 %-lise kolhitsiinilahuse

toimet 5-tunnilisel mõjutamisel. Mõlemas töös jäid autorid peatuma 1,0 %-lise kolhitsiinilahuse kasutamise juurde. 8-oksükinoliini kasutamine leiti olevat vähem sobiv seetõttu, et metafaaside esinemissagedus preparaatides oli märgatavalt väiksem kui pärast kolhitsiiniga mõjutamist. Autorid avaldasid arvamust, et 8-oksükinoliin on mitoosi aktiivsust pärssivaks faktoriks. Käesoleva töö põhjal võib seda kinnitada küll ainult kumariini ja paradikloorbenseeni suhtes.

Nimetatud autorid ei ole aga küllaldast tähelepanu pööranud eelmõjutamise kestvusele, millest otseselt sõltub nii kromosoomide kontraktsiooniate kui ka sekundaarsooniste ilmumine. Väljendatakse arvamust, et sekundaarsooniste esinemine ja paiknemine on liiga varieeruv selleks, et neid täie kindlusega kasutada kromosoomide eristamisel (Mergen, Burley, 1964). Teatud määral on selles väites midugi tõtt. Nagu ilmnes ka käesoleva töö käigus, ei taga isegi katseliselt optimaalseks tunnustatud kromosoomide eelmõjutamine mitte alati sekundaarsooniste järjekindlat avaldumist samadel kromosoomidel. Sellest hoolimata on põhjust arvata, et just liiga pikaajaline eelmõjutamine ei lasknud mitmel okaspuude karüoanalüüsiga tegelnud autoril rahuldavalt eristada sekundaarsooniseid. Näiteks mõjutades 0,1 %-lise kolhitsiinilahusega 20 tunni kestel musta kuuse (Picea mariana) ja punase kuuse (Picea rubens) juuretippe, ei suutnud E.K. Morgenstern (1962) kromosoomidel kindlapiirilisel eristada sekundaarsooniseid. Pigmänni (Pinus rigida) karüoanalüüsil kasutas K.B. Yim (1963) 0,2 %-list kolhitsiinilahust, mõjutades sellega juuretipp-

pe 24 tunni kestel. Ka tema jätab nimetatud liigi kromosoomidel sekundaarsooniste arvu ja asukoha üle otsustamise esialgu veel lahtiseks.

Isegi 0,01 %-line kolhitsiinilahus on pärast 24-tunnist mõjutamist esile kutsunud Pinus wallichiana kromosoomide liiga tugevaastmelise kontraktsiooni (Shams-ur-Rehman Perveen, 1970). Töös esitatud metafasaasi fotol on kromosoomidel isegi primaarsooniseid raske eristada.

Nagu selgub käesolevas peatükis esitatud tulemustest, aitab katseliselt leitud optimaalne eelmõjutamisrežiim oluliselt kaasa kromosoomide põhiliste morfoloogiliste tunnuste eristamisele kariioanalüüsil. Edaspidises töös hariliku kuuse kromosoomide morfoloogia uurimisel jäädi peatuma variandi juurde mõjutada idujuurekesi 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega 5 tunni kestel. Nimetatud meetod võimaldab leida preparaatidest suhteliselt rohkem metafasaasifiguure, kus kõrvuti primaarsoonistega ilmnevad rahuldava selgusega ka sekundaarsoonised.

II MITOOSIDE ÖÖPÄEVASEST DÜNAAMIKAST HARILIKU KUUSE IDUJUURTES

1. Kirjanduse ülevaade

Rakkude jagunemise ja sellega seostuva taimede kasvu perioodilisuse uurimine on bioloogias küllaltki vana probleem. Esimesed ulatuslikumad uurimused ulatuvad tagasi sajandivahetusse. Sealt alates püsis vastav uurimistemaatika võrdlemisi aktuaalsena kuni kahekümnendate aastate lõpuni, millele järgnes uuesti vaikuseperiood: pika aja jooksul pöörati nimetatud uurimisalale suhteliselt vähe tähelepanu. Alles 1949. a. tõstatati probleem uuesti I. Braueri poolt.

Mitootilise jagunemise rütmilisuse küsimus on tähtis ka kõigile karüoanalüüsiga tegelevatele uurijatele. Mitmetes karüoanalüüsi käsitlevates töodes on rõhutatud kindlat kellaega ööpäevas, millal osutus sobivamaks fikseerida uuritavat materjali ja tagada sellega jagunevate rakkude maksimaalne esinemine preparaatides (Sharma, Mallick, 1965; Ourecky, 1966; jt.).

Üks esimesi, kes uuris mitooside ööpäevast dünaamikat, oli A.C. Lewis (1901). Tema poolt uuritavaks liigiks oli Allium cepa. Normaalse valguse-pimeduse vahelduse juures täheldas autor kõige arvukamat rakkude jagunemist kesköhtundidel.

Allium cepa on mitooside dünaamika seisukohalt hiljem veel korduvalt olnud mitmete teistegi uurijate huviobjektiks. Enamasti on jõutud järeldusele, et Allium cepa juurterakkudes esineb teatud rütmilisus. Kellaajaliselt ei lange mitooside sageduse maksimumid erinevatel autoritel aga ühte ja erineb ka nende poolt täheldatud maksimumide arv (kord üks, kord kaks maksimumi). Et erinevad autorid on kasutanud erisugust metoodikat (peamiselt taime kasvutingimuste osas), on nende poolt saadud tulemused omavahel raskesti võrreldavad. Oma osa võib olla ka seasonsusest tingitud erinevustel.

Nii täheldas W.E. Kellicott (1904) Allium cepa juurtes normaalse valguse-pimeduse vahelduse tingimustes kaks maksimumi rakkude jagunemise sageduses. Üks katseseeriaist näitas isegi kolmanda maksimumi olemasolu. R.C. Friesner (1920) märgib täielikus pimeduses ja konstantsel temperatuuril kasvatatud Allium cepa juurtes samuti kolme maksimumi olemasolu. Kellaajaliselt ei langenud nimetatud autorite tulemused aga ühte. Tunduvalt hiljem, 1958.a., märgivad W.A. Jensen ja L.G. Kavaljian, et normaalse valguse-pimeduse vahelduse juures esineb Allium cepa'l mitooside ööpäevases sageduses kaks maksimumi.

Suhteliselt rohkem on mitooside ööpäevast dünaamikat uuritud veel Pisum sativum'i ja Vicia faba juurtes (Stalfelt, 1919; Friesner, 1920; Stalfelt, 1920; Brauer, 1949; Rotta, 1949; Brown, 1951; Bünning, 1952). M.G. Stalfelt (1919) leidis väga suure varieeruvuse herneseemikute (Pisum sativum) erinevatest juurtest saadud loendustulemuste vahel. Stalfelt järeldas, et mitooside rütmilisus küll

esineb, kuid on endogeense iseloomuga ja taime erinevates juurtes täiesti asünkroonne. Autoril õnnestus saavutada mitooside sünkroonsust elektrivoolu abil juhtides seda juhet mööda, mis oli keritud ümber taime juurte. 1920.a. avaldatud töös märgib M.G. Stalfelt, et tal siiski õnnestus määrata kindel rütmilisus Pisum sativum'i mitooside ööpäevases dünaamikas. Maksimumarv mitoose esines ennelõunastel tundidel ja seda olenemata valgustustingimuste muutusest.

Huvitavad on H.C. Friesneri (1920) poolt tehtud tähelepanekud ja järeldused Pisum sativum'i uurimisel. Tema leidis, et mitooside arvukuse ööpäevased kõikumised ei seostu mitte niivõrd mingi kindla kellaajaga kui võrdtaimes aktiivse metaboolse tegevuse algusega. Teiste sõnadega, kui kaks erinevat herneseemet hakkavad idanema eri ajal, üks varem ja teine näiteks 5 tundi hiljem, siis ka maksimumid mitooside sageduses langevad teisel taimel ligikaudu 5 tundi hilisemale kellaajale.

Vastupidiselt eelnimetatud autoritele leidis R. Brown (1951), et pimedas kasvanud Pisum sativum'i juurtes puudus igasugune mitooside perioodilisus, kusjuures normaalse valguse-pimeduse vahelduse tingimustes esines rütm ühe maksimumiga ööpäevas, mis langes kesköötunnile.

Põltoa (Vicia faba) uurimisel H. Rotta (1949) ja E. Binning (1952) ei täheldanud juuremeristeemis märkimisväärtset kõikumist mitooside esinemissageduses ning seda olenemata valgustingimuste muutusest. I. Brauer (1949) aga leidis, et Vicia faba juurtes siiski esines rütmili-

sus rakkude jagunemises. Tema nimetab ühte maksimumi mittooside sageduskõveral.

Mittooside ööpäevast dünaamikat on uuritud veel mitmete teiste taimeliikide juurtes. Uuritud liikidest võib nimetada selliseid nagu Lupinus albus (Friesner, 1920), Melilotus alba (Alfieri, Evert, 1968), Zea mays (Karsten, 1915), Zea everta (Friesner, 1920), Podophyllum peltatum (Kellicott, 1904), Vicia amphicarpa (Abele, 1925), Crepis capillaris (Ono, 1937), Hordeum sp. (Hageman, 1956; Гриф, 1959), Gladiolus sp. (Winter, 1929), Secale sp. (Федоров и др., 1971), Triticum sp. (Мовсесян, 1970) jt. Eri autorite poolt erinevate liikidega läbi viidud uurimustes on rida metoodilisi erinevusi ja ka uurimisteks püstitatud ülesanded ei lange täiesti ühte. Kõrvuti liikidega (Lupinus albus, Melilotus alba, Vicia amphicarpa, Hordeum sp., Secale sp. jt.), mille juurtes esines teatud rütmilisus mittooside ööpäevases dünaamikas, leidis liike (Podophyllum peltatum, Zea mays, Zea everta, Gladiolus sp. jt.), millel ei täheldatud mittooside arvukuse kõikumises selgelt väljenduva rütmilisuse olemasolu.

Mis puutub mittooside ööpäevase dünaamika uurimisse okaspuude juurtes, siis on käesoleva töö autoril seni võimalust olnud tutvuda ainult ühe seda nähtust põhjalikumalt käsitleva uurimusega. Jugoslaavia autor B. Bevilacqua (1965) uuris mittooside rütmilisust musta männi (Pinus nigra) juuretippudes. Töö eesmärgiks oli küll selgitada erinevate kiirgusdooside mõju mittooside sagedusele. Paralleelselt kiiritatud materjaliga aga uuriti ka kiiritamata kontrollmaterjali. Juuretippude fikseerimine

toimus tunniajaliste intervallide järel ööpäeva kestel. Kiiritamata materjali uurimisel leidis autor kolm teravamalt väljendunud maksimumi mitooside sageduskõveral. Samal ajal võib aga töös esitatud graafikul kõrvuti kolme teravamini väljenduva maksimumiga näha veel teisigi tippe. Kogu variatsioonikõver on üldse "hüpleva" iseloomuga ja kolme maksimumi väljalugemine üsna tinglik. Tulemusi ei ole ka statistiliselt lähemalt analüüsitud. Ilma selleta on aga raske otsustada mitooside ööpäevases sageduses esinevate kõikumiste tõenäosuse üle. Nimetatud puudus esineb kahjuks enamuses sellealastes uurimustes.

Mitooside dünaamikat on küllalt palju uuritud ka mitmete taimeliikide võrsete kasvukuhikus (Karsten, 1915; 1918; Rotta, 1949; Bünning, 1952; Savelkoul, 1957; Popham, 1958; Edgar, 1961; Gagnebin, 1969 jt.).

G. Karsten (1915, 1918) oli esimene, kes uuris mitooside sagedust kõrgemate taimede võrsetes. Uuritud liikide seas oli ka üks männiliik (Pinus austriaca), mille võrsetes normaalse valguse-pimeduse vahelduse tingimustes esineb Karsten'i tähelepanekute järgi mitooside arvukuses rütmilisus, kusjuures maksimumarv rakkude jagunemisi langeb varastele hommikutundidele. Karsten uuris ka mitooside ööpäevast dünaamikat paralleelselt maisi (Zea mays) juurtes ja võrsetes (Karsten, 1915). Kui juurtes ei õnnestunud täheldada selgelt väljenduvat kõikumist mitooside ööpäevases sageduses, siis võrsetippudes avaldus see isegi nelja erineva valgustusrežiimi tingimustes. Täielikus pimeduses kasvatatud taimedel esines maksimumarv mitoosi kell 4 varahommikul. Samal kellaajal esines

rakkude jagunemises maksimum ka normaalse päeva tingimustes kasvatatud taimedel. Katsevariandis, kus taimi kasvatati nn. "ümberpööratud päeva" tingimustes, s.o. valgustatuna 12 tunni kestel öistel tundidel, leidis autor kaks maksimumi mitooside sageduskõveral: üks maksimum kell 6 hommikul, teine kell 6 õhtul, seega 12-tunnilise intervalliga maksimumide vahel. Huvitav on, et pideva valgustuse juures teine maksimumidest kadus ja avaldus ainult varahommikune maksimum. Karsteni katsed maisiga viitavad küllaltki olulisele seosele mitooside rütmilisuse ja valguse-pimeduse perioodilise vaheldumise vahel. Teisest küljest aga näitavad katsed ka taimedele endogeenselt omase mitooside rütmilisuse olemasolu.

E. Bünning (1952) võrdles omavahel pikapäevataimi (Spinacea oleracea ja Papaver somniferum) ning lühipäevataimi (Perilla ocymoides ja Soja sp. var. "Peking"), kasvatades kõiki ühesugustes tingimustes, valgustatuna võrdse aja jooksul ja samal kellaajal. Ilmnes, et kõikide nimetatud liikide võrsetes esineb mitooside sageduses maksimum ligilähedaselt ühel ja samal ajal ööpäevas. Autor järeldas sellest, et valguse ja pimeduse vaheldusel on siiski teatav reguleeriv mõju rakkude jagunemise endogeensele rütmile.

Üldiselt võib märkida, et kui juurtes paljudel taimeliikidel võivad puududa selgelt väljenduvad kõikumised mitooside sageduses, siis võrsetes avaldub see enamikul liikidel kas ühe või kahe maksimumiga ööpäeva vältel. Kuid tuntakse ka taimi, mille võrsetes normaalse valguse-pime-

duse vahelduse tingimustes mitooside rütmilisust ei esi-
ne. Sellisteks liikideks on näiteks Chrysanthemum mori-
folium (Popham, 1958) ja Elodea densa (Savelkoul, 1957).

Kõigest eelpoolrefereeritud kokkuvõtet tehes võib
öelda, et pika aja jooksul on kogunenud küllaltki hulga-
liselt informatsiooni mitooside ööpäevase dünaamika koh-
ta paljudel taimedel nii punga- kui ka juuremeristeemi
osas. Samal ajal tuleb aga tunnistada, et probleem ei ole
kaugeltki veel lahendatud. On ilmne, et veenvate üldis-
tuste saamiseks ei ole tänapäeval üleliigsed veel ühegi
autori uurimistulemused, kes püüab nimetatud probleemi
lahendusse selgust tuua.

Lähtudes faktist, et taimedel võib rakkude jagunemise
sageduses ööpäeva vältel siiski küllalt olulisi kõikumisi
esineda, peeti vajalikuks uurida mitooside ööpäevast dü-
naamikat ka hariliku kuuse juuremeristeemis. Tulemused on
vajalikud hariliku kuuse karüoanalüüsi optimaalse metoo-
dika väljatöötamiseks.

2. Materjal ja metoodika

Hariliku kuuse Picea abies (L.) Karst./ seemned varuti ühest populatsioonist (puistust) Elva metsamajandi piires.

Uurimused planeeriti kahes erinevas variandis. Vastavalt sellele idandati seemneid erisugustes tingimustes:

- 1) täielikus pimeduses, termostaadis $+26 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$ juures,
- 2) spetsiaalses valguskapis $+26 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ juures. Viimasel juhul idandati seemneid valguse-pimeduse vahelduse tingimustes, kusjuures seemneid valgustati päevastel tundidel, ca 10 tundi ööpäevas. Valgustati päevavalguslampidega, päevavalgusele lähedase valgustugevuse juures. Pimeduses idandamine viidi läbi erinevatel aastaaegadel: juunis ja oktoobris, vahelduvas valguses idandati ainult oktoobris.

Juurekesed fikseeriti atseetoetanoolis 2-tunniliste intervallide järel 24 tunni jooksul. Fikseerimiseks kasutati juurekesi, mis olid saavutanud 8-10 mm pikkuse. Mitooside loendamiseks valmistati surupreparaadid atseeto-ortseiiniga värvimise meetodil, mis on täpsemalt kirjeldatud I peatükis.

Arvestades seda, et erinevate taimeliikide juurtes võib rakkude jagunemise tsooni ulatus olla väga erinev

(Балодис, 1968, 1971), määrati selnevalt mitoositsooni ligikaudne ulatus uuritava liigi idujuurekestes. Mikro-

toomi abil juurekestest valmistatud pikilõikude alusel hinnati mitoositsiooni ulatuseks ca 0,4 - 1,4 mm alates idujuurekese tipust. Erinevates juurekestes võib see ulatus mõnevõrra varieeruda.

Surupreparaadi valmistamiseks asetati idujuur alusklaasile ja lõigati terava skalpelli abil ristlõiguke ca 0,8 mm kauguselt juurekese tipust. Abivahendina kasutati alusklaasi alla asetatud millimeeterskaalaga paberit. Iga kellaja (fikseerimise) kohta valmistati 10 preparaati, iga preparaadi jaoks kasutati erinevat juurekest.

Mitooide sageduse määramiseks loeti igal preparaadil jagunevate rakkude hulk 500 meristeemraku kohta. Jagunevate rakkude hulk loendati erinevate mitoosifaaside kaupa. Mitoosindeks määrati kui jagunevate rakkude % loendatud meristeemrakkude üldarvust.

P r o f a a s i n a loendati rakud, mille tuumades võis näha esimeste niitjate struktuuride moodustumist kuni pikkade niitjate kromosoomide ilmneniseni (joon. 16, 17, 18 ja 19). Kõige raskem on interfassist profaasi üleminekumomendi hindamine. Harilikku kuuse interfassi tuumadele on üldiselt omane peente täppidena esinev struktuur. Ka värvuvad interfassi tuumad väiksema kontrastsusega kui profaasi tuumad. Joonisel 16 on näha varases profaasis olev tuum kõrvuti kahe interfassis oleva tuumaga.

M e t a f a a s i n a loeti need rakud, milles võis täheldada juba kromosoomide koondumist metafasaalplaadile (prometafaas) kuni kromosoomide asetumiseni rangelt ühte tasapinda (joon. 20, 21, 22 ja 23).

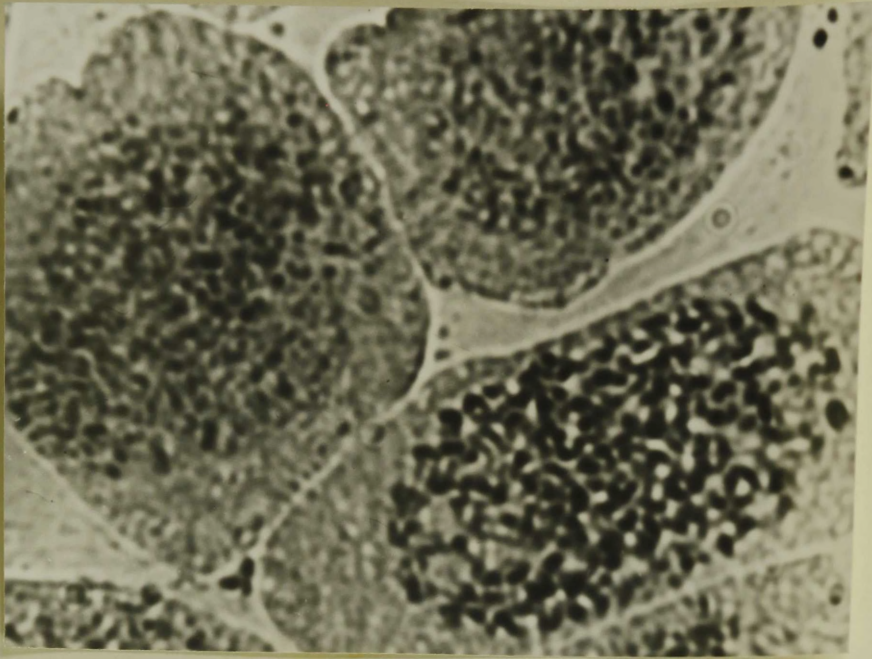
A n a f a a s i n a loendati rakud, kus võis näha kromatiidipaaride tsentromeeride esimesi nihkeid poolus-

te suunas kuni kromosoomide jõudmiseni poolustele ja nende esialgse koondumiseni (joon. 24, 25 ja 26).

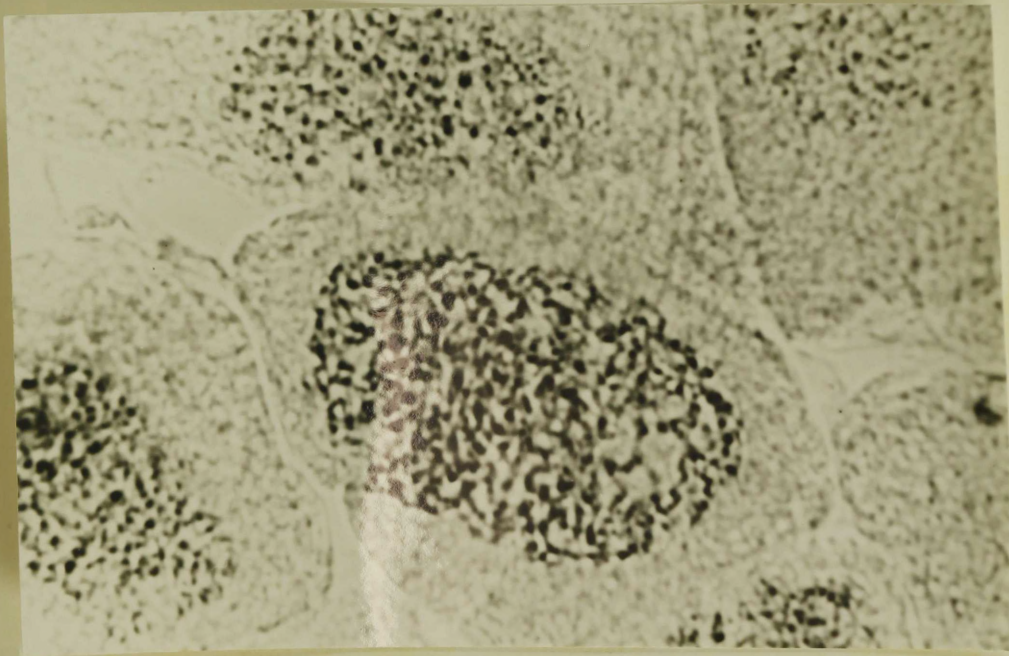
T e l o f a a s i n a eristati rakud, milles toimus kromosoomide nähtava individuaalsuse kadumine, uute tuumade formeerumine ja tütarrakkude tuumade vahele membraani kujunemine (joon. 27 ja 28).

Preparaatide tsütoloogiline uurimine viidi läbi mikroskoobiga **MSM**-6, kasutades loo-kordset üldsuurendust (ok. lox, obj. 40x).

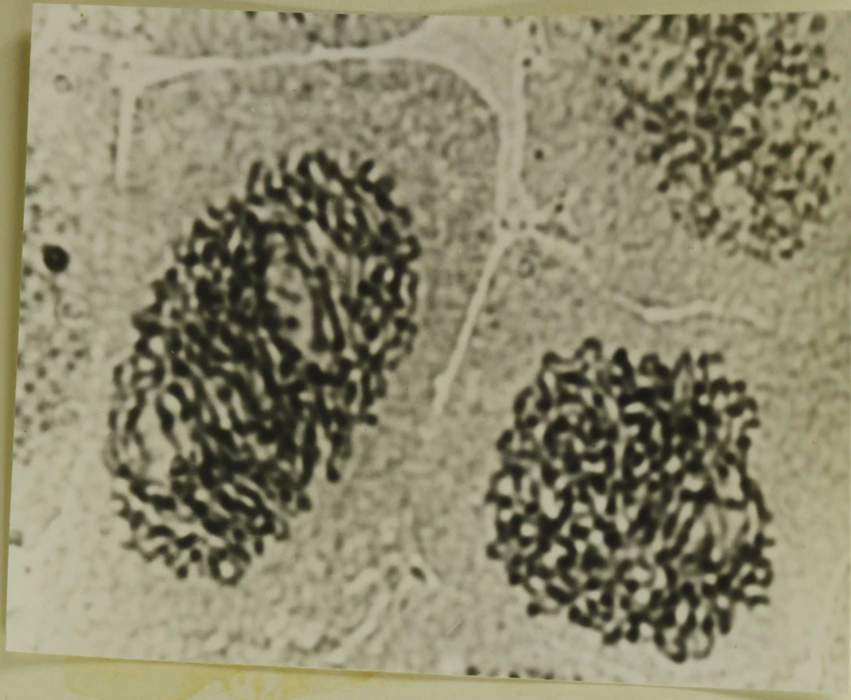
Mitoosiindeksi aritmeetiliste keskmiste erinevusi hinnati t-testi alusel. Oluliseks loeti vahet kui $P_{dif.} \leq 0.05$.



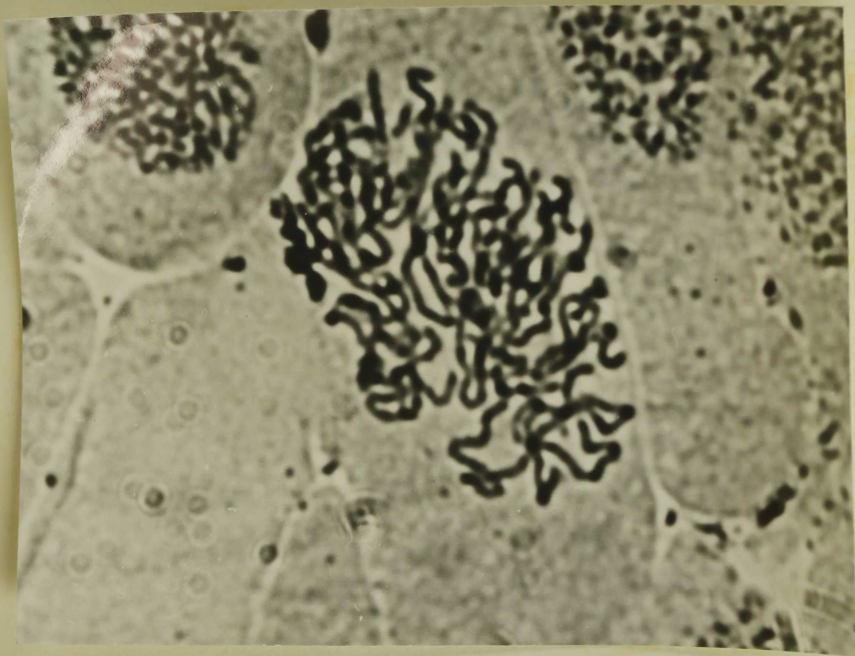
Joon. 16. Profraasi varasem staadium
(paremal all) x 1800.



Joon. 17. Profraasi varasem staadium (x 1800).

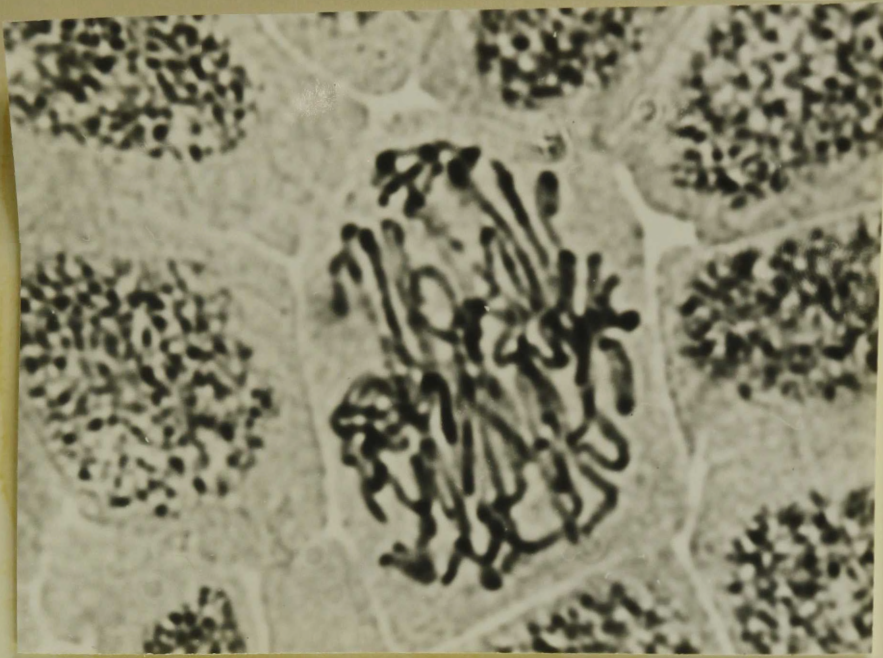


Joon. 18.

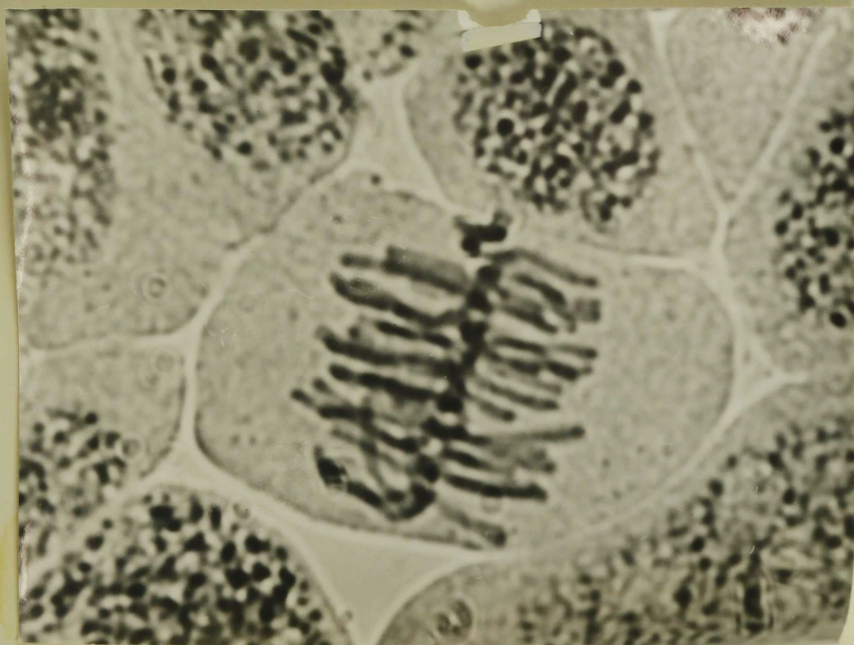


Joon. 19.

Joon. 18. ja 19. Profraasi hilisemad
staadiumid (x 1800).



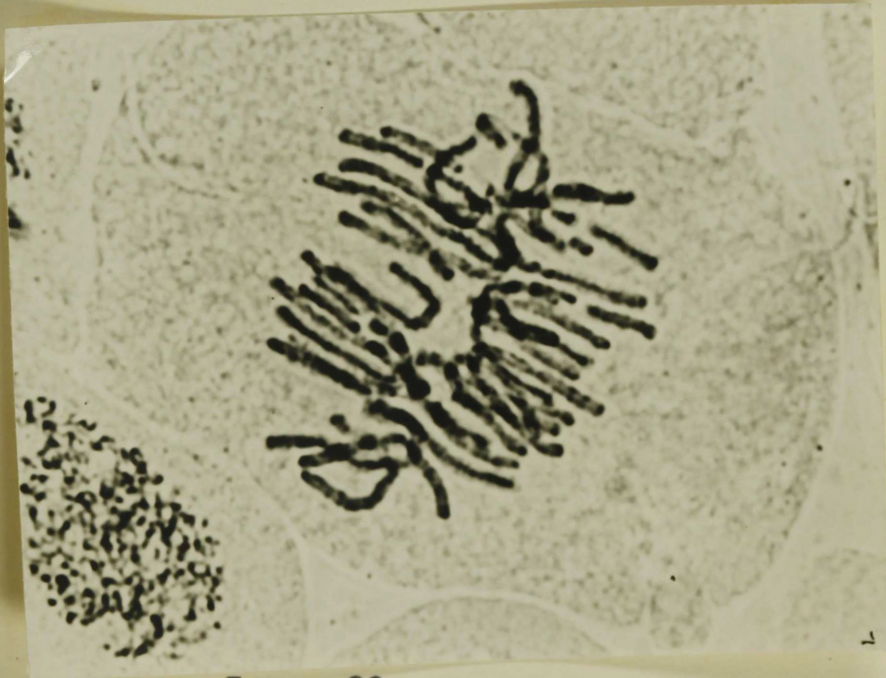
Joon. 20. Prometafaas (x 1800).



Joon. 21. Metafaas külgvaates (x 1800).



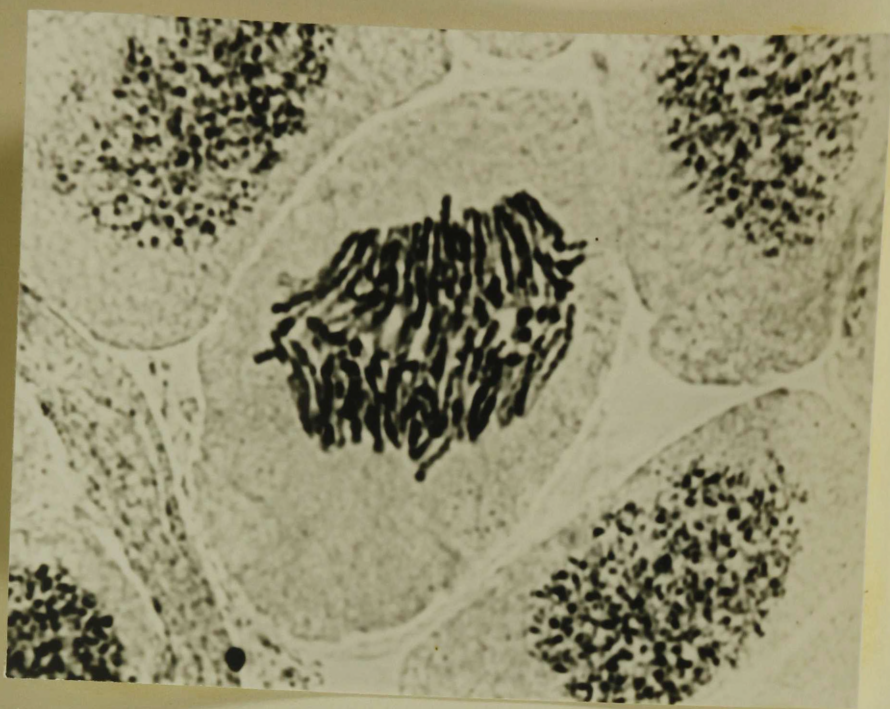
Joon. 22.



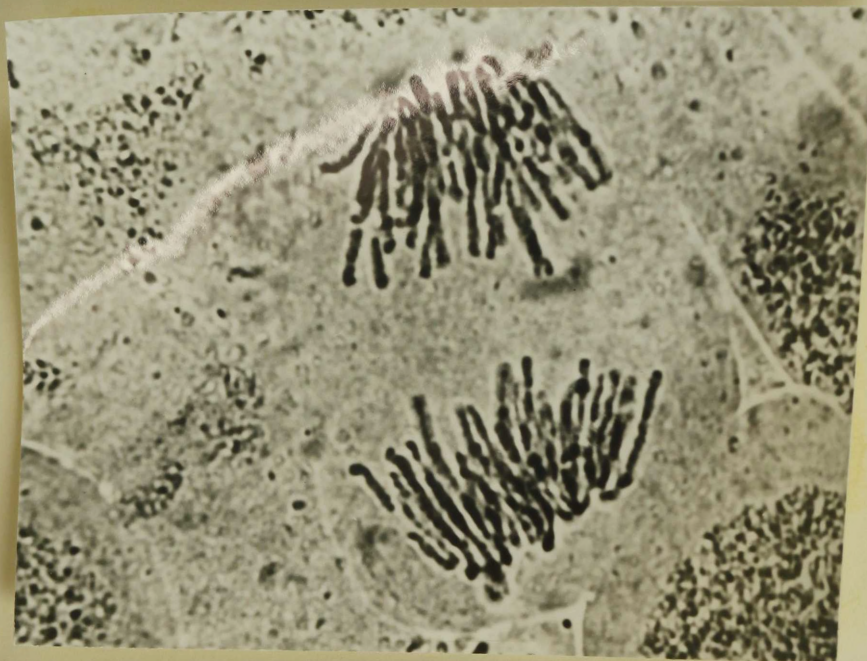
Joon. 23.

Joon. 22 ja 23. Metafaas (pealtvaates)

(x 1800).

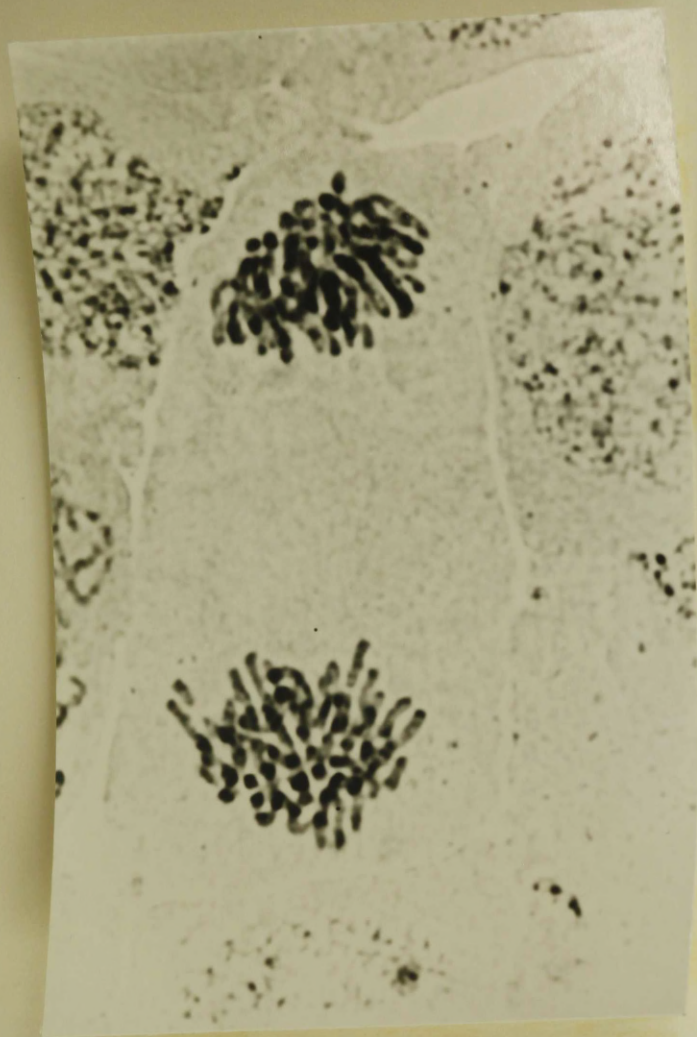


Joon. 24.

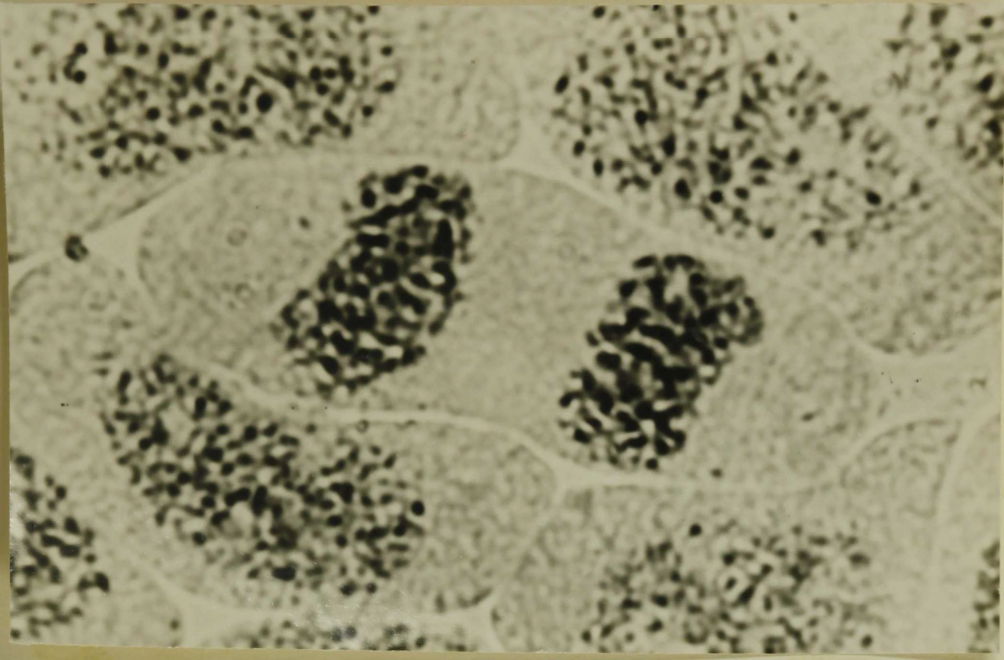


Joon. 25.

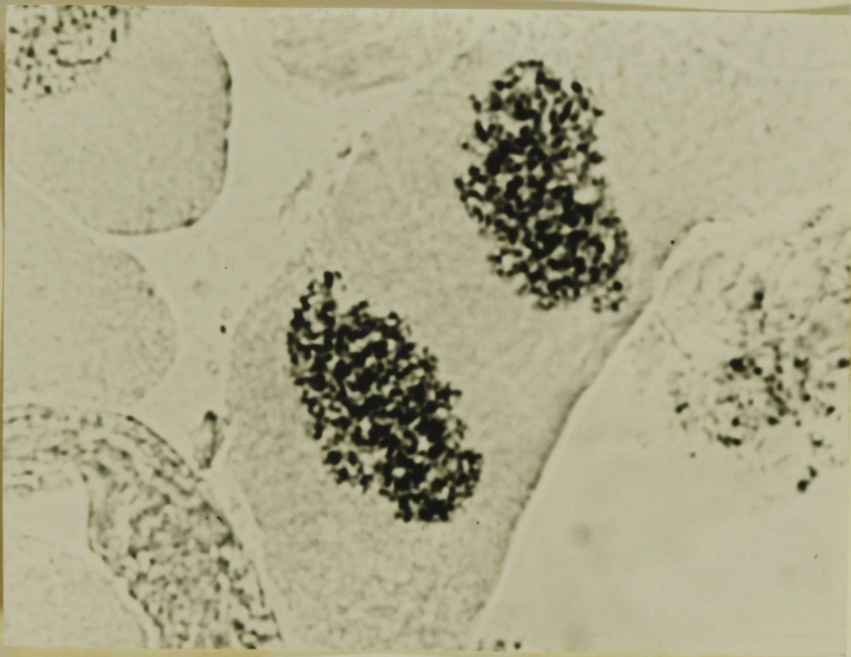
Joon. 24 ja 25. Anafaas (x 1800).



Joon. 26. Anafaasi hilisem staadium
(x 1800).



Joon. 27.



Joon. 28.

Joon. 27 ja 28. Telofaas (x 1800).

3. Eksperimentaalsed tulemused ja arutelu

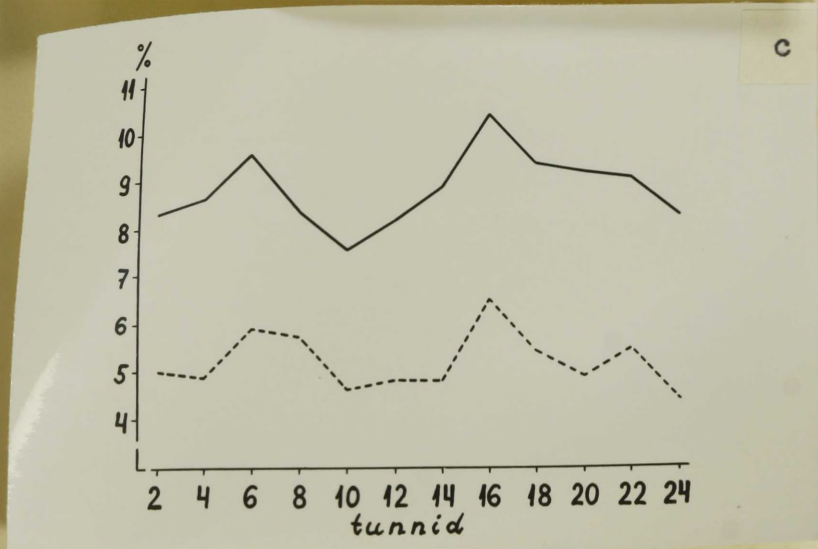
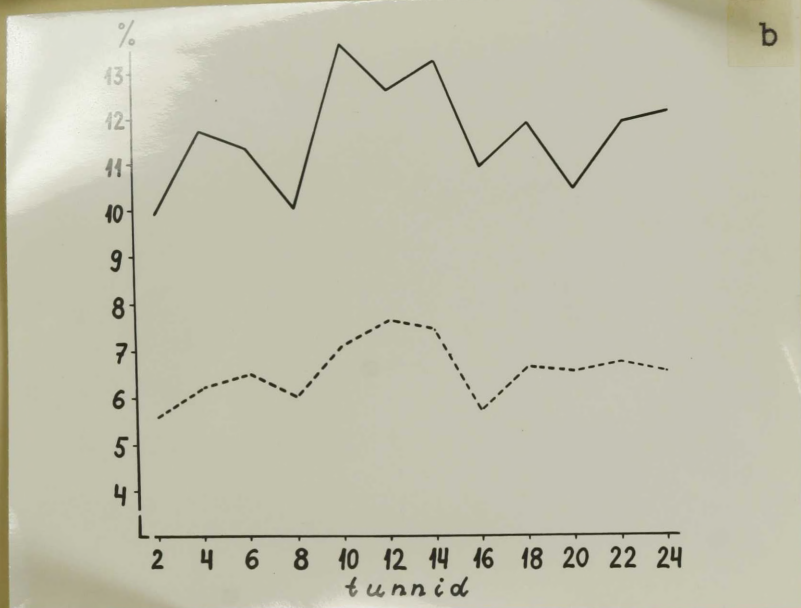
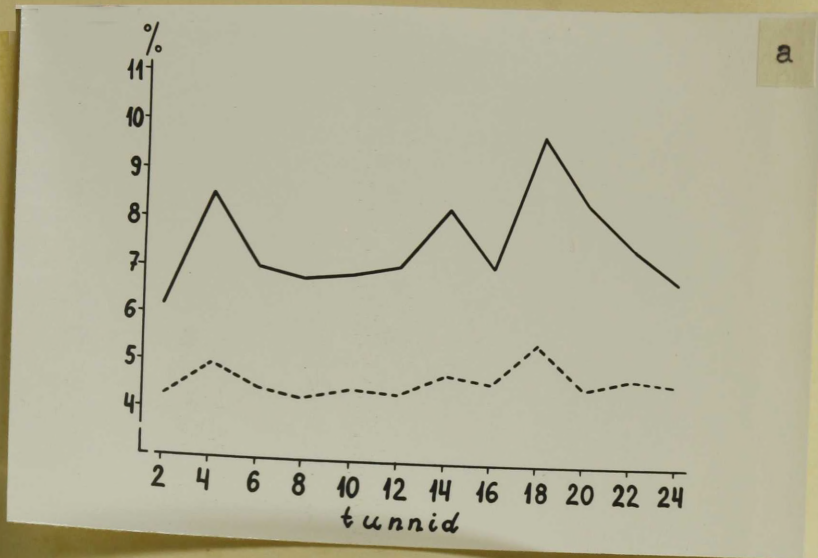
Kuna varasema profaasi eraldamine interfaasist on suurel määral subjektiivne, leiti mitooside ööpäevasest dünaamikast objektiivsema pildi saamiseks mitoosiindeksi väärtused nii kõikides jagunemisfaasides olevaid rakke koos arvestades kui ka profaasis olevaid rakke loendamisest välja jättes. Igal fikseerimisel vastava kellaaja kohta arvutatud mitoosiindeksi aritmeetilised keskmised on esitatud tabelis 2. Graafilises vormis on iga katsevariandi kohta mitoosi ööpäevane dünaamika toodud joon. 29.

Nagu selgus, on hariliku kuuse juuremeristeemis mitoosiindeksi suhteliselt kõrge kogu ööpäeva vältel. Kõiki mitoosifaase arvestades ja kõiki katsevariante silmas pidades ulatub mitoosiindeksi kõrgeim väärtus 13,5 %-ni ja madalaim langeb 6,2 %-ni. Ainult meta-, ana- ja telofaase arvestades ulatuvad vastavad arvud 7,6-st kuni 4,3 %-ni. Nimetatud arvud ületavad tunduvalt E.T. Orlenko poolt avaldatud arvu, kes on samuti loendanud jagunevate rakkude hulka hariliku kuuse juuremeristeemis (Orlenko, 1970). Tema ei teinud seda küll mitoosi ööpäevase dünaamika selgitamise eesmärgil ja töös ei ole märgitud, millisel kellaajal fikseeriti materjal. Autor märgib lühidalt, et

Tabel 2

Nitroside ööpäevane dünaamika hariliku kuu juureeristees

Fik- see- ri- mise aeg	Täielikus pimeduses				Valguse-pimeduse vahelduses			
	Juunis 1970		Oktoobris 1970		Jaguneva- te rekku- de %		Oktoobris 1970	
	Jaguneva- te rekku- de % $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	P dif. Profassi- ta $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Jaguneva- te rekku- de % $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	P dif. Profassi- ta $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Jaguneva- te rekku- de % $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	P dif. Profassi- ta $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Jaguneva- te rekku- de % $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	P dif. Profassi- ta $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
02	6,2±0,34	4,3±0,19	9,9±0,45	5,6±0,32	8,3±0,44	5,0±0,26		
04	8,5±0,49 < 0,01	5,0±0,33 > 0,05	11,7±0,40	6,2±0,41	8,6±0,41	4,9±0,34		
06	7,0±0,31	4,5±0,19	11,3±0,49	6,5±0,39	9,5±0,38 < 0,05	5,9±0,24 < 0,05		
08	6,8±0,24	4,3±0,20	10,0±0,33	6,0±0,24	8,3±0,28	5,7±0,25		
10	6,9±0,28	4,5±0,18	13,5±0,55	7,1±0,35	7,5±0,66	4,6±0,50		
12	7,1±0,26	4,4±0,25	12,5±0,32 < 0,05	7,6±0,35 < 0,01	8,1±0,46	4,8±0,32		
14	8,3±0,56	4,9±0,37	13,1±0,34	7,4±0,38	8,8±0,31	4,8±0,27		
16	7,1±0,29	4,7±0,29	10,9±0,61	5,7±0,42	10,3±0,47 < 0,01	6,5±0,39 < 0,01		
18	9,8±0,27 < 0,001	5,5±0,33 < 0,05	11,8±0,48	6,6±0,43	9,2±0,65	5,4±0,33		
20	8,4±0,26	4,6±0,42	10,4±0,31	6,5±0,32	9,1±0,43	4,9±0,43		
22	7,5±0,33	4,8±0,31	11,8±0,57	6,7±0,46	9,0±0,56	5,5±0,29		
24	6,8±0,05	4,7±0,04	12,0±0,60	6,5±0,32	8,2±0,26	4,4±0,41		



Joon. 29. Mitooside ööpäevane dünaamika hariliku

kuuse idujuurtes:

a) I kordus pimeduses;

b) II kordus pimeduses;

c) valguse-pimeduse vahelduse tingimustes.

valmistati 324 preparaati ja vaadeldi üldsummas 11265 rakku, mille seas jagunevate rakkude hulk ulatus 4,7 %-ni.

Nagu näha, ulatub nimetatud arv vaevalt näitajani, mis saadi käesolevas töös isegi profaasis olevaid rakke mitte arvestades.

Huvitav on märkida, et pideva pimeduse tingimustes kahel erineval aastaajal läbi viidud loendamise järgi esineb märgatavalt arvukamalt mitoose just oktoobris, kui looduses on vegetatsiooniperiood praktiliselt lõppenud. Juunis, kui looduses on sesoonselt kõige intensiivsem kasvuperiood, osutub mitooside ^{esinemis} sagedus väiksemaks kui oktoobris. Samal ajal võib veel tähele panna, et valguse-pimeduse vahelduses (katse oli samuti oktoobris) esineb mõningane langus mitooside arvukuses võrreldes täielikus pimeduses saadud tulemustega, kuigi ka vahelduvas valguses jääb mitooside arvukus suhteliselt kõrgemaks kui pimeduse tingimustes samal aastaajal.

Esitatud andmetest ilmneb, et hariliku kuuse juuremeristeemis on mitooside sageduse ööpäevased muutused suhteliselt tagasihoidlikud. Juunis, pimeduses idandamisel, võib kõikide mitoosifaaside loendamist arvestades näha graafikus (joon. 29a, ülemine kõver) kahte teravamini väljenduvat maksimumi (kell 4 ja 18), mille olulisus t-testi alusel ületab 99 %-lise tõenäosuse taseme. Jättes aga profaaside loendamistulemused välja (graafikul alumine kõver), väljenduvad need maksimumid väga tagasihoidlikult. Ainult üht neist (kell 18) võib hinnata olulisena tõenäosusega 95 %. Teise pimeduses läbi viidud katsevariandi kor-

ral (oktoobris) ilmneb mõlema kõvera osas (joon. 29b) üks maksimum päevastel tundidel (vahemikus kell 10 kuni 14). Võrreldes neid maksimumväärtusi vastavate miinimumväärtustega ööpäeva jooksul, osutuvad mõlemad olulisteks vähemalt 95 %-lise tõenäosusega. Seega võib mõlema nimetatud katsevariandi puhul küllalt tõenäoseks pidada ühte maksimumi mitooside sageduses ööpäeva jooksul, kuigi erinevates kordustes ei lange need ajaliselt ühte. Viimase asjaolu põhjendusena võib oletada kas erineva aastaaja mõju või lihtsalt rakkude jagunemisel maksimumi järk-järgulist ajalist nihkumist selle tõttu, et mitoositsükkel ei ühti täpselt 24 tunniga.

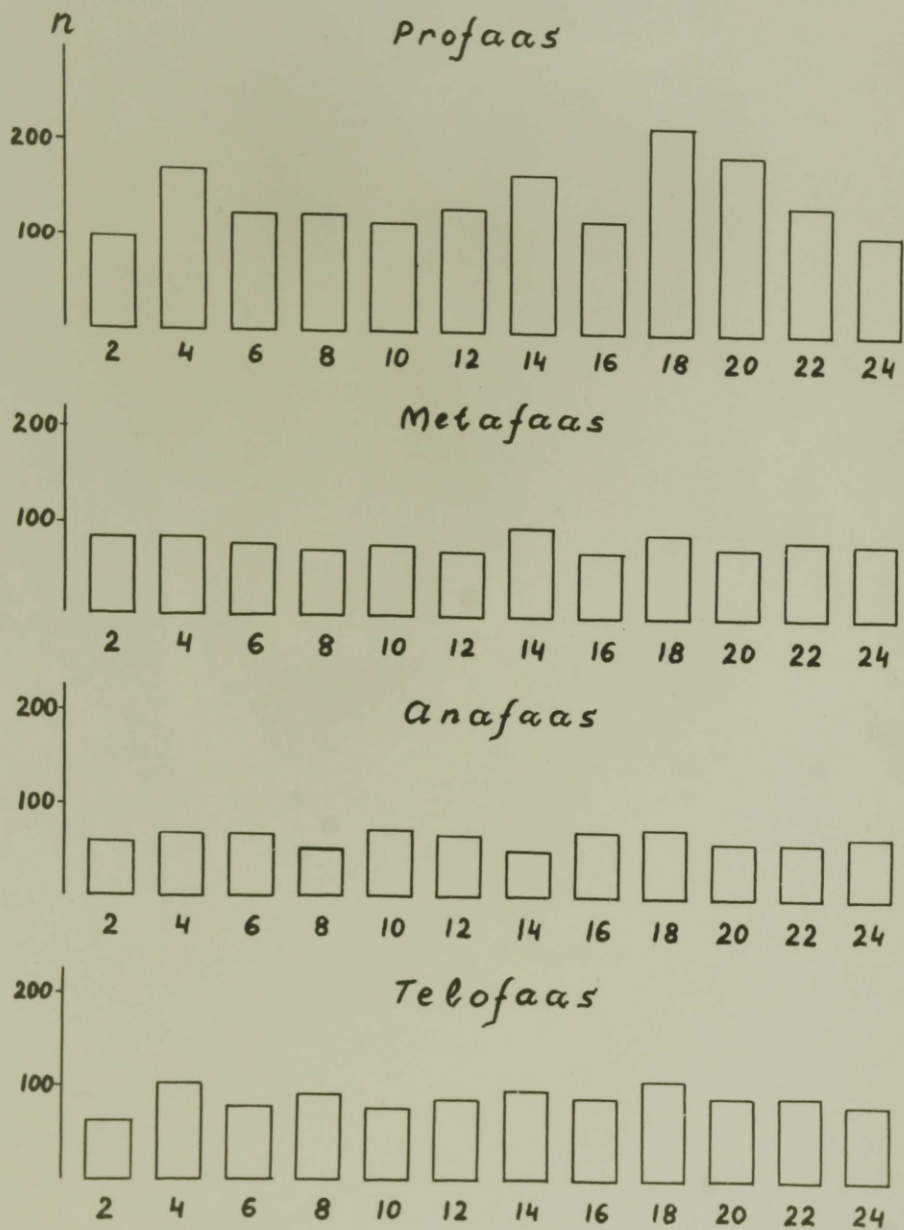
Katsevariant, milles seemneid isandati valguse-pimeduse vahelduse tingimustes, andis kaks maksimumi mitooside sageduses ööpäeva jooksul (joon. 29c): üks maksimumidest langes pimedusperioodi lõputundidele (6.00), teine valgusperioodi lõputundidele (16.00). Idanevaid seemneid valgustati nimelt ajavahemikul kella 8-st kuni 18-ni. Ka kahe maksimumi vahemik oli ajaliselt ca 10 tundi. Sellest võib oletada, et valgustingimuste muutusel võib olla seos teise maksimumi ilmnemisega mitooside sageduses. Mõlemaid maksimume võib pidada olulisteks vähemalt 95 %-lise tõenäosusega, nii kõiki mitoosifaase arvestades kui ka profaase mitte loendades. Üldiselt võib öelda, et sageduskõver ilma profaaside loendamistulemusteta "jälgeb" kõikide katsevariantide korral ligilähedaselt samasuguseid muutusi mitooside arvukuses kui kõver, mis iseloomustab kõigi nelja mitoosifaasi loendamistulemusi.

Võrreldes käesolevas töös esitatud hariliku kuuse (Picea abies) uurimistulemusi Pinus nigra mitooside ööpäe-

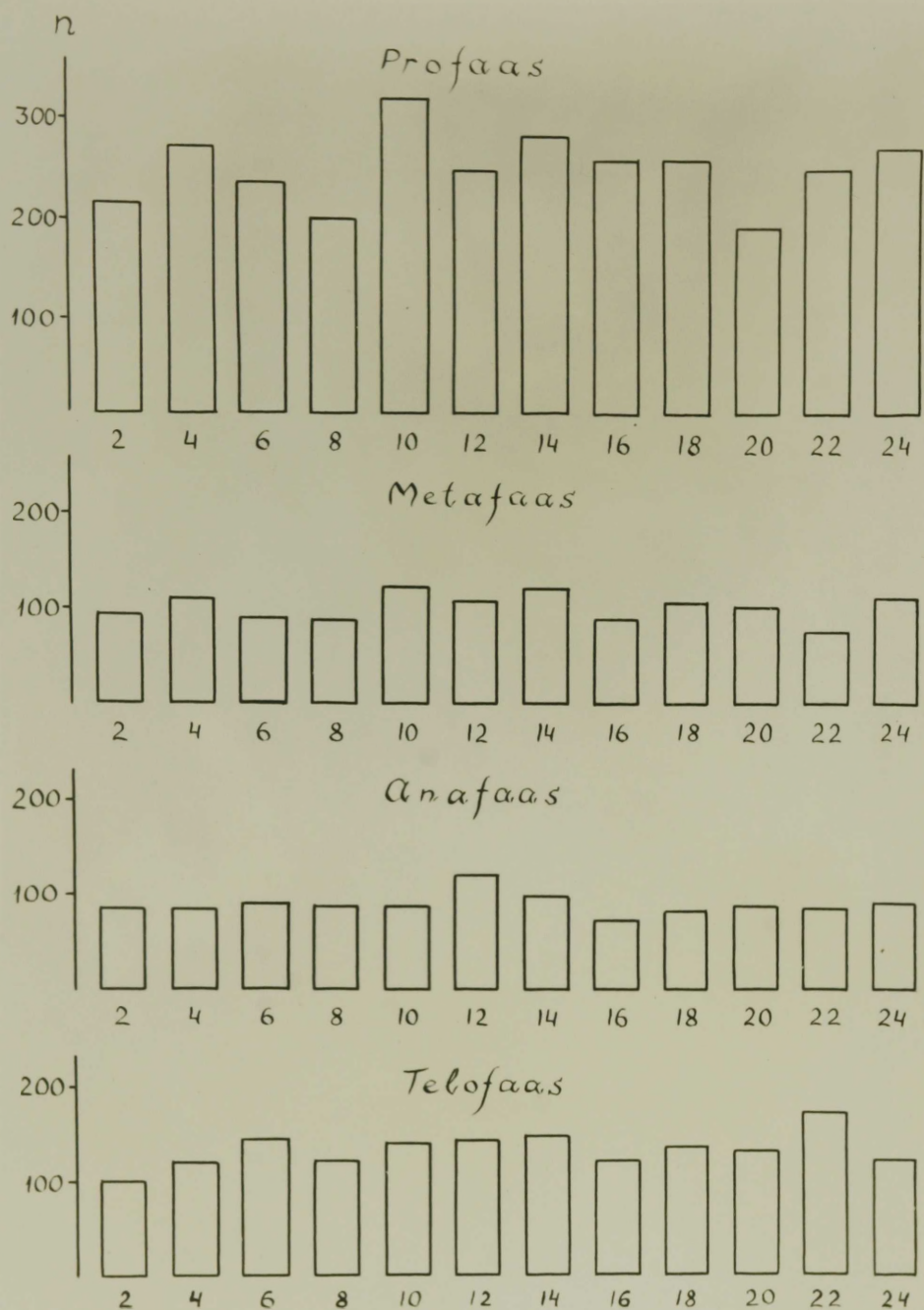
vase dünaamika uurimistulemustega (Bevilacqua, 1965), mis olid ainukesed kättesaadavad tulemused mitooside sageduse osas okaspuudel, ilmneb märgatav erinevus. Nimelt ei täheldatud käesolevas töös harilikul kuusel mitooside sageduses kõikumisi ööpäeva jooksul selliste järskude muutustena, nagu seda kirjeldab B. Bevilacqua Pinus nigra osas. Tema poolt esitatud andmetest ilmneb, et mõnel kellaajal ööpäevas lakkas rakkude mitootiline jagunemine peaaegu täielikult, kusjuures juba paar tundi hiljem (fikseeritud oli tunniajaliste intervallide järel) võis mitooside arv olla lähedane maksimumile. Käesolevas töös jäi mitooside arvukuse varieeruvus teatavasti kõikidel juhtudel märksa tagasihoidlikumaks. Hariliku kuuse karüoanalüüsi seisukohalt võib seetõttu välistada otsesest vajadust arvestada mingi kindla kellaajaga ööpäevas, et leida uuritavais preparaatides võimalikult palju jagunevaid rakke. Lisaks sellele, nagu juba märgitud, ei lange ilmnenuid maksimumid mitooside sageduskõveral ka erineval aastaajal ühele ja samale kellaajale.

Üksikute mitoosifaaside omavahelisest suhtest hariliku kuuse juurtes annavad ülevaate joon. 30, 31 ja 32 esitatud diagrammid. Nagu näha, leidus preparaatides kõige arvukamalt profaasi ja telofaasi staadiumis olevaid rakke. Märgatavalt vähem võis leida metafase ja anafase. Saadud tulemused viitavad kaudselt sellele, et profaas ja telofaas on hariliku kuuse rakkude jagunemistsüklis ajaliselt kõige pikemad faasid.

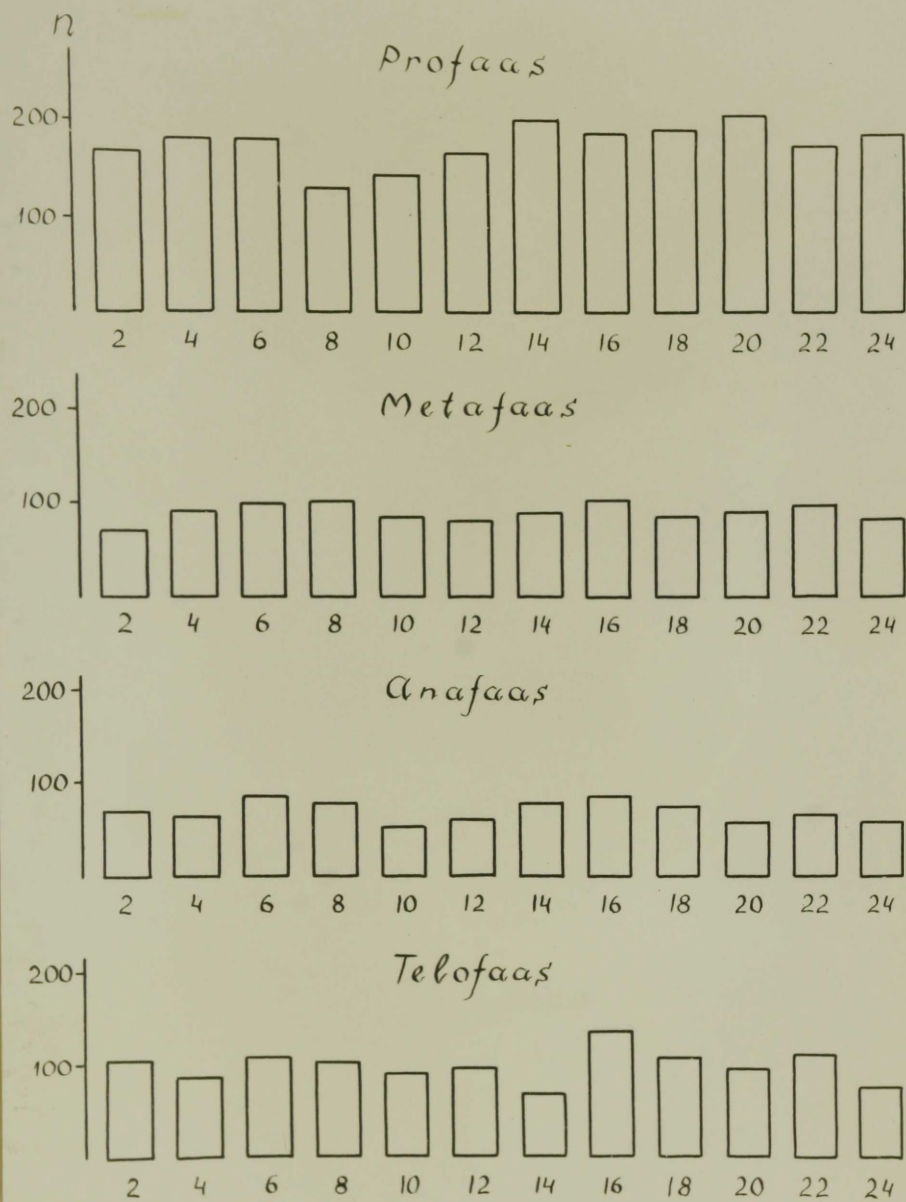
Ka iga faasi eraldi vaadates (joon. 30 - 32) võib näha nende esinemissageduses sarnaseid kõikumisi nagu need



Joon. 30. Mitoosi erinevate faaside loendustulemuste diagramm (I kordus pimeduses).



Joon. 31. Mitoosi erinevate faaside loendustule-
muste diagramm (II kordus pimeduses).

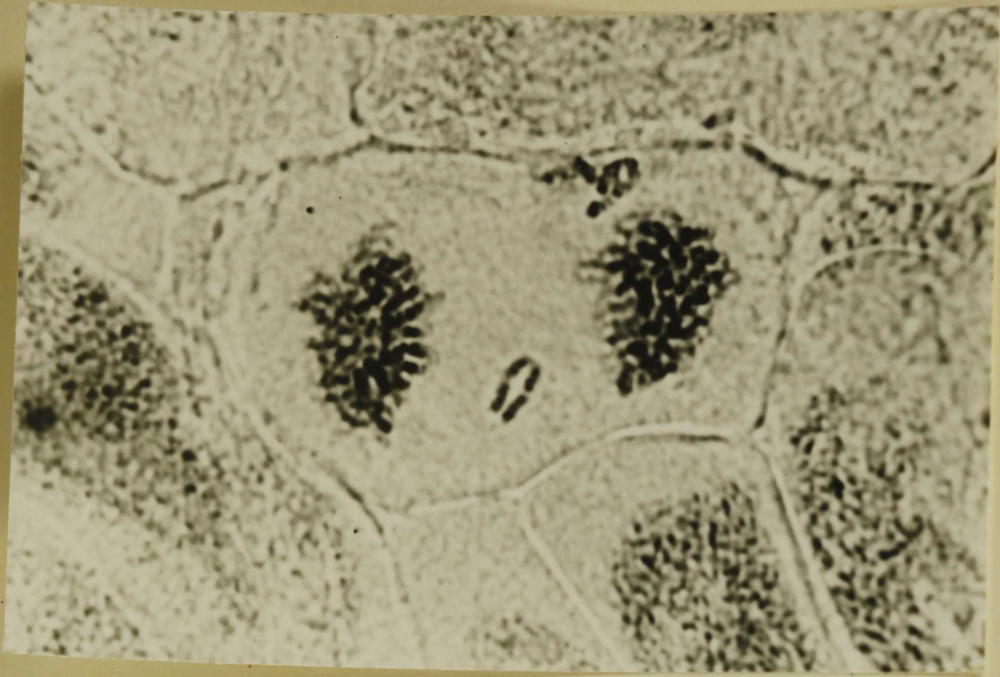


Joon. 32. Mitoosi erinevate faaside loendustule-
 muste diagramm (valguse-pimeduse vahel-
 duse tingimustes).

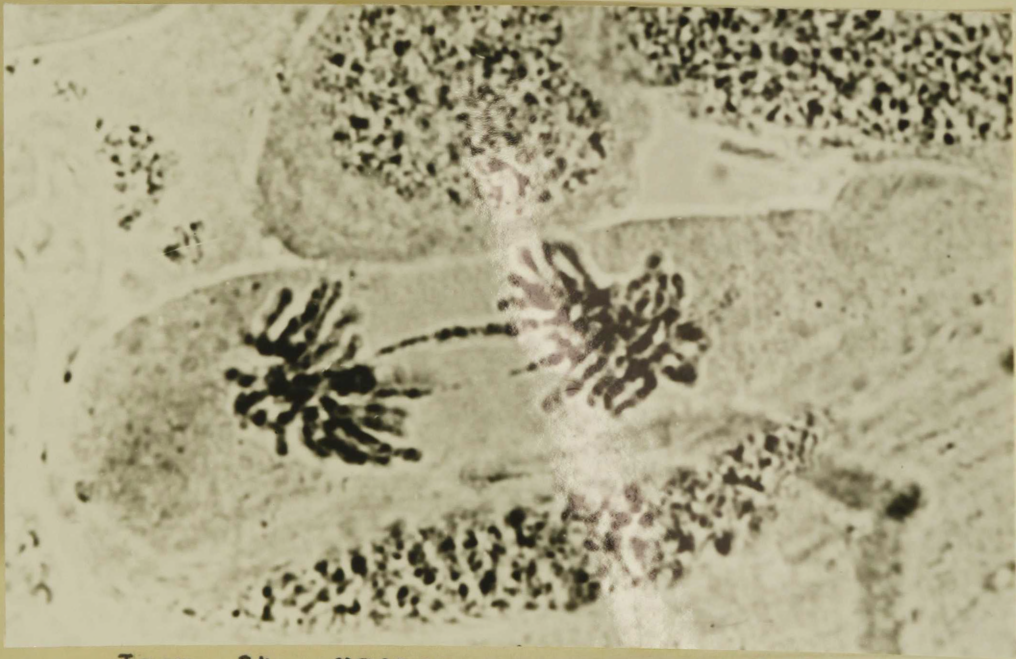
ilmnevad ka kõiki faase summaarselt iseloomustaval mitoosiindeksi kõveral (joon. 29).

Hariliku kuuse jagunevate rakkude vaatlemisel tehtud tähelepanekutest ilmneb, et kõrvuti normaalselt kulgevate mitoosidega esineb preparaatides vähesel määral ka aberratiivseid ana- ja telofaase. Nende, enamasti "sildadena", "hilinenud" kromosoomidena või mikrotoomakestena esinevate aberratsioonide (joon. 33 ja 34) esinemissagedust siiski täpsemalt ei määratud.

Nagu selgub juba käesoleva peatüki kirjanduse ülevaatest, on erinevate liikide mitooside ööpäevase dünaamika uurimistulemustest väga raske üldistusi teha. Ilmselt võivad erinevaid liike käsitlevad uurimistulemused juba objektiivselt erineda, kuigi leidub ka näiteid, kus ühe ja sama liigi korral osutuvad erinevate uurijate tulemused vasturääkivaiks. Antud töö andmed lubavad teha esialgse järelduse, et hariliku kuuse juuremeristeemis toimub rakkude jagunemine suhteliselt stabiilse sagedusega kogu ööpäeva vältel. Niihästi täielikus pimeduses kui ka valguse-pimeduse vahelduse tingimustes idandatud juurekeste meristeemkoe rakkude jagunemise sageduses ilmnevad maksimumid suhteliselt tagasihoidlikult.



Joon. 33. "Hilinenud" kromosoomid (x 1900).



Joon. 34. "Sild" anafaasis (x 1900).

III HARILIKU KUUSE /PICEA ABIES (L.) KARST./

KARUOTUUP

1. Kirjanduse ülevaade

Nagu esimeses peatükis juba nimetatud, on viimastel aastatel kogu maailmas hakatud intensiivselt tegelema taimede kromosoomide uurimisega. Eriti arvukalt on vastavaid karioloogilisi uurimusi ilmunud India uurijatelt (Mitra, 1965; Sharma, Mukhopadhyay, 1965; Bose, 1966; Datta, 1966; Ghosh, 1966; Mitra, 1966; Sheriff, Nagaraj, 1966; Shetty, Subramanyam, 1967; Das, Sikdar, 1968; Ghosh, 1968 a, b; Krishna, 1968; Sharma, Ghosh, 1968; Datta, Biswas, 1969; Ghosh, 1969; Pahuja, Kumar, 1969; Sheriff, Mahalakshmi, 1969; Biswas, Bhattacharyya, 1970; Ghosh, 1970; Sampathkumar, 1970 jt.). Arvukalt on avaldanud karioloogilisi uurimusi ka Jaapani autorid (Kawano, 1965; Kawano et al., 1966; 1967; Hirahara, Tatuno, 1967; Tanaka, 1967 jt.), samuti Rootsi, USA, Tšehhoslovakkia, Bulgaaria jt. maade tsütogeneetikud.

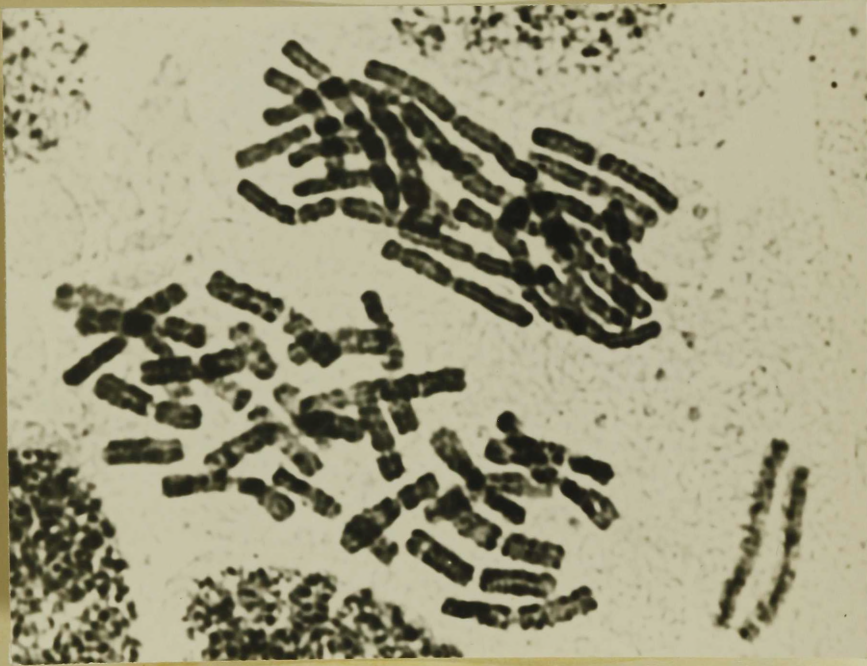
Ka NSUkogude Liidus on viimastel aastatel avaldatud mitmeid uurimusi taimede karioloogilisi alalt (Вехтина, 1964; 1965; Круликс, 1967; Назарова, 1968; Шленниадвилли, 1968; Абрамова, 1970; Орленко, 1970; Павулсоне и др, 1970;

Чеботарь и др., 1970; Шапова, 1970; Абрамова, 1971; Круклис, 1971 а, б; Свешникова, 1971; Чешмеджиев, 1971 jt.). Üsna pikka aega ^{oli} aga meil teatavasti isegi termin "kromosoom" põlu all, mis ei jätnud oma mõju avaldamata kariöanalüüsi käsitlevate tööde tasemele. Näiteks okaspuuliikide kromosoomide uurimiseni on Nõukogude Liidus jõutud alles mõne viimase aasta jooksul, kusjuures sageli jääb kariöanalüüsi probleemile lähenemine veel üsna pealiskaudseks.

Tutvudes viimastel aastatel maailmas avaldatud töödega kariöanalüüsi alalt, võib tähele panna, et kuigi kromosoomide morfoloogia uurimine on üldplaanilt võrdlemisi standardse iseloomuga, osutub erinevate uurijate probleemikäsitus väga erinevaks.

Paljud autorid on oma uurimused ja üldistused kariöotüübi kohta teinud andmete põhjal, mis on saadud ainult 5 - le , vahel isegi vaid kolme-nelja metafasaasfiguuri kromosoomide mõõtmise alusel (Pai, Natarajan, 1958; Heneen, 1962 a; Schulz-Schaeffer, Jurasits, 1962; Simak, 1962; Kabarity, 1966 a, b; Smith, 1966; Jagathesan, Ratnambal, 1967; Popova, 1967; Chen Chi-Chang, Grant, 1968; Baker, 1968; Ferakova, 1968; Lewis, Suda, 1968; Torres, 1968; Rychlewski, 1970; Viinikka, 1970 jt.). Seejuures on enamikul juhtudel ilmselt jäetud tähele panemata fakt, et erinevatel metafasaasfiguuridel võib kromosoomide kontraktsiooniaste oluliselt erineda. Nimetatud ajaalule on vähesed autorid tähelepanu pööranud (Bhattacharyya, Jenkins, 1960; Heneen, 1962 b; Patil, Deodikar, 1967; Grover, Malik, 1969; Hedberg, 1970). Et metafasaasi kromosoomide kuju (pikkus,

läbimõõt, õlgade suhe) võib erineva kontraktsiooniastme tõttu oluliselt erineda, seda illustreerib hariliku kuuse osas joon. 35. Põhjalikumalt on ülealnimetatud nähtust uurinud Allium cepa, Allium fistulosum'i ja ka inimese kromosoomide karüoanalüüsi näidetel mitmed nõukogude tsütogeneetikud. (Гиндилис, 1966; Павулсоне и др., 1970; Павулсоне и Иорданский, 1971). Teatavasti toimub jagunevate rakkude elutsüklis nii kromosoomide kondensatsioon kui ka dekondensatsioon. Pärast sünteesiperioodi lõppu alluvad kromosoomid rakus järk-järgulisele kondensatsioonile. Protsess jätkub ka veel metafasis, mille kestel kromosoomid pidevalt lühenevad ning samal ajal jämenevad. Et kõik metafasid ei kulge sünkroonselt, "tabatakse" fikseerimisel erinevate rakkude kromosoomid erinevas kondensatsiooni järgus. Olukorda komplitseerib veelgi karüoanalüüsil kasutatav kromosoomide keemiline eelmõjutamine, mille üheks peamiseks eesmärgiks on saavutada kromosoomide täiendav lühenemine. Lähemalt on uuritud kolhitsiini kasutamist keemiliseks eelmõjutamiseks. Näiteks pani 1961. a. jaapani tsütoloog M. Sasaki inimese kromosoomide uurimisel tähele, et erinevate kromosoomide pikkus ja õlgadevaheline suhe varieerub eriti suurelt pärast keemilist eelmõjutamist kolhitsiiniga. Sasaki tegi kindlaks, et kolhitsiini mõju erinevatesse kromosoomidesse on erinev. Tema tähelepanekute järgi kontraheeruvad kolhitsineerimisel pikemad kromosoomid ja ka submetatsentriliste kromosoomide pikemad õlad suhteliselt tugevamini kui sama metafasi lühemad kromosoomid ja kromosoomide lühemad õlad. See aga tähendab, et metafasi eri järkudes (hinnatuna



Joon. 35. Kaks erineva spiralisatsioonistmega metafasefiguuri (x 1900).

kontraktsiooniastme järgi) fikseeritud kromosoomid võivad erineda oma põhiliste morfoloogiliste näitajate (pikkuse ja õlgade suhte) poolest. Teiste sõnadega, ühe ja sama liigi piires võib konstrueerida erinevad idiogrammid, kui mõõtmistulemused on ühel juhul saadud tugevamini kontraheerunud kromosoomidega metafasaasfiguride põhjal ja teisel juhul nõrgalt kontraheerunud kromosoomidega metafasaaside alusel. Kirjeldatud asjaolu silmas pidades osutub karüoanalüüsil oluliseks teada kromosoomide kontraktsiooniastet uuritavail metafasaasfiguridel. Originaalset ja lihtsat moodust kasutasid kromosoomide kontraktsiooniastme hindamisel nõukogude tsütogeneetikud V.M. Gindilis, S.A. Pavulsone jt. (Гиндилис, 1966; Павулсоне и др., 1970). Toetusdes M. Sasaki (1961) tähelepanekule eri suurusega kromosoomide erinevast kontraheerumisest kolhitsineerimisel leidsid nimetatud uurijad, et metafasaasi kõigi kromosoomide üldpikkus (seega ka kontraktsiooniaste) korreleerub metafasaasi kahe kõige väiksema kromosoomi üldpikkuse suhtega kahe kõige pikema kromosoomi üldpikkusesse. Selle, protsentides väljendatud suhtearvu, nimetasid autorid *s p i r a l i s a t s i o o n i i n d e k s i k s* (I^S). Järelikult selle asemel, et mõõta kõigi kromosoomide pikkus metafasaasis, piisab spiralisatsioonindeksi kasutamisel ainult kahe paa-ri kromosoomide pikkuse mõõtmisest, et hinnata kromosoomide kontraktsiooniastet metafasaasfiguril. See tähendab karüoanalüüsil olulist võitu ajas ja töö mahus.

Käesoleva töö käigus aga selgus, et spiralisatsioonindeksi korrelatsioon metafasaasi kromosoomide üldpikkusega jääb siiski ebapiisavaks. Sellele puudusele juhtisid 1971.a.

Allium cepa ja Allium fistulosum'i karüoanalüüsi näidetel tähelepanu ka samad autorid (Павулсоне и Морданский, 1971), kes varem spiralisatsioonindeksi kasutamist olid soovitanud. Metafaasi kromosoomide üldpikkust ning seega ka kontraksiooniastet paremini iseloomustava suurusena pakkusid need autorid mitte enam kõige lühema ja kõige pikema kromosoomipaari üldpikkuste suhet, vaid lihtsalt karütüübi mingi kahe või enama paari homoloogiliste kromosoomide üldpikkuse määra.

Erineva kontraksiooniastmega kaasnevaid muutusi kromosoomide morfoloogias silmas pidades peaks karüoanalüüsil kromosoomide keskmiste morfoloogiliste parameetrite saamiseks mõõtma võimalikult palju kromosoomi. Kahjuks jääb ajakulu ja töö maht seejuures võrdeliseks analüüsitud metafaasfiguuride arvuga. Paljud uurijad on aga püüdnud karüoanalüüsil ajakulu viia miinimumini. Rohkesti on avaldatud töid, kus puuduvad igasugused andmed tehtud mõõtmistööde mahu kohta ja sageli ei esitata ka mingeid arvilisi tulemusi töös toodud järelduste tõestuseks (Huziwara, 1962; Dvořak, 1965; Sheriff, Srinath, 1965; Strid, 1965 a; Rüdénberg, Green, 1966; Sharma, Bhattacharya, 1966; Shopova, 1966; Dey, Sharma, 1967; Jones, Smith, 1967; Kuzmanov, Kožuharov, 1967; Mesiček, 1967; Rüdénberg, 1967; Smith, Levin, 1967; Kožuharov, Kuzmanov, 1968; Mehra, Singh, 1968; Datta, Ghoshal, 1969; Pillay, 1969; Ghosh, 1970; Koul, Gehil, 1970; Mahanty, 1970; Markova, 1970; Gurecky, 1970; Pillay, 1970; Tara, Kamemoto, 1970 jt.). Tunduvalt vähem võib nimetada niisuguseid karüoloogilisi uurimusi, kus karütüüpi on püütud iseloomustada küllaldase põhjalikkusega

(Caucoli, Skorda, 1966; Singh, Singh, 1966; Ramanna, Prakken, 1967; Bentzer, 1969; Chen Chi-Chang, 1969; Giorgi, Bozzini, 1969 a, b, c, d; Kaul, 1969 jt.). Mõned uurijad on püüdnud probleemi sügavamaks lahendamiseks lisaks mitoosi metafasaasi kromosoomide morfoloogiale uurida paralleelselt ka sama liigi pahhüteeni kromosoomide (Ramanna, Prakken, 1967; Krishnan et al., 1970). Pahhüteeni kromosoomide uurimine osutub võimalikuks aga ainult väga lühikeste kromosoomidega liikidel.

Kromosoomide mõõtmist on eri autorid läbi viinud erisugusel viisil. Valdavas enamuses on mõõdetud joonistusaparaadi abil joonistatud kromosoomide. Vähem on mõõdetud kromosoomide metafasaaside fotodelt. Leidub ka töid, kus mõõtmisi on tehtud vahetult okulaarmikromeetri abil (Schulz-Schaeffer, Jurasits, 1962; Rajhathy, Sadasivaiah, 1968; Шиннишвили, 1968, Пранци и Шершукова, 1971). Okulaarmikromeetri abil on siiski raske saada täpseid mõõtmistulemusi, eriti pikkade looklevate kromosoomide mõõtmisel. Meetod, mis tugineb joonistamisele ja mõõtmisele jooniselt, on suhteliselt tõhus ja seotud teatud osas ka mõnevõrra suurema veaga kui kromosoomide mõõtmine metafasaasi fotodelt. Jooniste kasutamise ilmseks eeliseks tuleb aga lugeda asjaolu, et nimetatud meetodil saab jäädvustada ja edukalt analüüsida ka selliseid metafasaasfiguure, mille kromosoomid ei ole täiesti ühes tasapinnas. Kromosoomide osaline omavaheline kattumine-põimumine ei osutu analüüsimisel enam ületamatuks takistuseks, kuna joonistamise käigus saab üksteisega kattuvaid kromosoomide eraldi fokuseerida ning küllaldase kindlusega määrata sooniste

asukoht ka juhul, kui soonist varjab teine kromosoom.

Mõõtmistulemuste tõlgendamisel on osa autoreid jäänud peatuma kromosoomide pikkuse absoluutarvude juurde, esitades vastavad mõõtmehmm-tes (Koshy, 1968; Runemark, Heneen, 1968; Raj, Seethaiah, 1969; Kuroki, Kurita, 1970 jt.). Seejuures on mindud aritmeetiliste keskmiste arvutamisel täpsuse osas mõnikord isegi äärmustesse. Näiteks A.S. Raj ja L. Seethaiah (1969) esitavad oma töös Vitis vinifera erinevate varieetide kromosoomide mõõtmed 0,001 mikromeetrilise täpsusega. Kuigi märgitud liigi kromosoomid on väikesed (autori andmetel 0,786 kuni 2,163 μm), ei õigusta see märgitud äärmuslikku täpsust aritmeetilistes keskmistes, sest teatavasti piirdub valgusmikroskoobiga saavutatav maksimaalne eraldusvõime vaid 0,25 mikromeetriga.

Eri metafasaasfiguuride erinevast kontraktsioonistmest tingitud varieeruvust kromosoomide absoluutmõõtmete osas aitab vähendada suhteliste pikkusühikute kasutuselevõtmine. Pärast kromosoomide mõõtmete üleviimist suhtelistele pikkusühikutele varieeruvus mõnevõrra nivelleerub ja hõlbustub kromosoomide eristamine erinevate metafasaasfiguuride piires. Paljud uurijad ongi oma töödes esitanud mõõtmistulemused suhtelistes pikkusühikutes. Nii on kromosoomide pikkust väljendatud protsendina haploidse kromosoomide kogumi absoluutsest kogupikkusest (Strid, 1965 b; Hounsell, 1968). Samal viisil on üksikute kromosoomide suhtelist pikkust arvutatud ka diploidse kromosoomide kogumi (kahe genoomi) absoluutse kogupikkuse suhtes (Ising, 1969). Suhtelist pikkust on ar-

vutatud ka protsendina haploidse kromosoomide kogumi kõige pikemast kromosoomist (Malik, Thomas, 1966) ning diploidse kogumi keskmisest, s.o. aritmeetilise keskmisena arvutatud kromosoomist (Pederick, 1967, КрукиНС, 1967; 1971 a. 6).

Erinevalt on tõlgendatud ka k r o m o s o o m i - t ü ü p i d e n o m e n k l a t u u r i , mille järgi kromosoomid jagatakse metatsentrilisteks, submetatsentrilisteks ja akrotsentrilisteks. Nimetatud jaotuse aluseks on teatavasti tsentromeeri asupaik kromosoomil. Kahjuks kahtuvad erinevad autorid ning isegi üks ja sama autor erinevates töödes tsentromeeri asetuse kohta käivaid termineid (mediaanne, submediaanne jne.) erinevas tähenduses. Sageli jääb arusamatuks, millist konkreetset tähendust on silmas peetud. Kuigi mitmed autorid (Battaglia, 1955; Levan et al., 1964; Hirahara, Tatuno, 1967; Murin, 1970; Невцера, 1970) on püüdnud neid termineid konkretiseerida, puudub praeguseni üldtunnustatud seisukoht selles suhtes.

E. Battaglia (1955) järgi on kromosoom mediaanse tsentromeeriga õlgade suhte korral 1:1, submediaanse tsentromeeriga õlgade suhte korral alates 1:1 kuni 1:2,9 ja subterminaalse tsentromeeri asetusega õlgade suhte juures alates 1:3 ja rohkem. Terminaalse tsentromeeriga kromosoomidel on õlgade suhe 0:1, s.t. kromosoomid osutuvad üheõlgseiks.

A. Levani et al. (1964) ja A. Murin (1970) eristavad tsentromeeri paiknemist kas täpselt mediaanses punktis (õlgade suhe 1:1) või mediaanses tsoonis. Levani järgi

asub tsentromeer mediaanses tsoonis kui pikema Δ la suhet lühemasse iseloomustab suhtearv 1,0 kuni 1,7. Erinevalt Levaniist nimetab Murin mediaanse tsooni korral Δ lgade suhteks 1: 0,99 kuni 1: 0,75. Seega juhul, kui Levani järgi on kromosoom veel mediaanse tsentromeeriga, siis Murini nomenklatuuri järgi võib tsentromeer paikneda juba submediaanselt (1:0,75 kuni 1:0,50). Levani järgi jääb submediaanse tsentromeeri korral vastav suhtearv vahemikku 1,7 kuni 3,0. Ka subterminaalse ja terminaalse tsooni ulatust määratlevad nimetatud autorid erinevalt.

Jaapani autorid S. Hirahara ja S. Tatuno (1967) valisid oma nomenklatuuri aluseks lühema Δ la suhte kromosoomi kogupikkusesse (väljendatuna protsentides). Kui lühem Δ lg moodustab kromosoomi kogupikkusest 50 kuni 45 %, loevad Hirahara ja Tatuno tsentromeeri asetust mediaanseks, 44 kuni 34 %-lise pikkuse korral - submediaanseks, 33 kuni 13 %-i korral - subterminaalseks ja alates 12 %-st - terminaalseks.

Belpoolkirjeldatust erinevad alused kromosoomide klassifitseerimiseks esitab ka L.S. Nemtseva (Немцова, 1970).

Nagu näha, tõlgendatakse ühte ja sama mõistet erinevalt. Seepärast tuleb eriti oluliseks pidada asjaolu, et kromosoomide kirjeldamisel selgitatakse täpselt kasutatud nomenklatuuri. Kahjuks enamuse karioloogilistega tegelevaid autoreid seda ei tee.

Töodes, kus uuritava liigi kromosoomi võib morfoloogiliste tunnuste sarnasuse järgi jagada gruppideks, päiratakse sageli iga üksiku kromosoomipaari kirjeldamise

asemel nende grupiviisilise kirjeldamisega (Strandhede, 1965; Sharma, Bhattacharya, 1966; Sharma, Ghosh, 1968; Sharma, Tulsı Kaju, 1968; Strid, 1968; Sisodia, 1970).

Hariliku kuuse karüoloogiat on seni teadaolevail andmeil käsitletud USA uurijad K. Sax ja H. J. Sax (1933) ning viimastel aastatel ka mitmed nõukogude autorid (Юркович и Парфенов, 1967; Юркович и др., 1967; Орленко, 1970; Правдин и Шершукова, 1971).

K. Sax'i ja H. J. Sax'i töö oli üldse esimene ulatuslikum uurimus okaspuude kromosoomide morfoloogia alalt. Töös on esitatud 18 okaspuuliigi idiogrammid, s.t. liiki iseloomustavad kromosoomid on kujutatud graafiliselt, joonisenä. Esitatud on ka hariliku kuuse (Picea abies) idiogramm. Kahjuks puuduvad töös täielikult arvulised andmed kromosoomide kohta. Ka töö metoodikat on kirjeldatud tagasihoidlikult. Idiogrammid koostati endospermi rakkude uurimise alusel, milles okaspuude kromosoomid esinevad teatavasti haploidse kogumina. Uuritava materjali eelmõjutamist tõenäoselt ei tehtud. Autorid märgivad, et hariliku kuuse karüotüübis on 3 ebavõrdse pikkusega õlgadega kromosoomi ja 9 enam-vähem võrdõlgset kromosoomi.

E. T. Orlenko (Orlenko, 1970) poolt avaldatud töö käsitleb hariliku kuuse Picea excelsa (=Picea abies) kromosoomide morfoloogiat liigisisese varieerumise seisukohalt, nagu käesolevaski töös. Orlenko uurimus käsitleb hariliku kuuse kolme teisendit: P. excelsa var. europaea, var. acuminata apiculata ja var. acuminata ligulata. Kasutatud metoodika erineb aga märgatavalt käesolevas töös kasutatud metoodikast, peamiselt uuritava materjali keemilise eelmõ-

jutamise osas. Orlenko kasutas kromosoomide uurimisel eelmõjutamiseks 0,002 %-list oksükinoliinilahust, mõjutades juuretippe ja okaste meristeemkude 3 kuni 4 tundi. Käesoleva töö andmeil annab aga hariliku kuuse juurekeste mõjutamine 8-oksükinoliinilahusega halvemaid tagajärgi kui mõjutamine kolhitsiinilahusega. Kolme erineva teisendi karüotüübi iseloomustamiseks analüüsis Orlenko kokku 56 metafaasfiguuri kromosoomi. Uurimistulemused on esitatud aga ainult kromosoomide sõnalise kirjelduse vormis. Autor nimetab erinevusi erinevate teisendite kromosoomide suuruses ja tsentromeeri paiknemises ning märgib ka suurt varieeruvust sekundaarsoonistega kromosoomide arvus ja asukohas. Töös puuduvad nii fotod kui ka idiogrammide.

Hariliku kuuse erinevate vormide (*f. europaea* ja *f. deflexa*) kromosoomide morfoloogiat käsitleb ka L. F. Pravdini ja O. P. Šeršukova (*Правдин и Шершукова*, 1971) töö. Autorid on aga lähemalt vaatluse alla võtnud ainult kromosoomide pikkuse, tehes seda mõlema vormi korral vaid kümne metafaasfiguuri kromosoomide mõõtmise põhjal. Mõõtmised tehti vahetult okulaarmikromeetri abil. Märgitakse oluliste erinevuste olemasolu nimetatud vormide kromosoomide absoluutse pikkuse osas. Suhteliste pikkusühikute kasutamisel olulisi erinevusi ei täheldatud. Erinevustele kromosoomide primaar- ja sekundaarsooniste paiknemise osas ei ole aga küllaldast tähelepanu osutatud.

Muhtavad ja samal ajal ka teatud määral kahtlustatavad on mõnede valgevene autorite (*Оркенитч и Парфенов*, 1967; *Оркенитч и др.*, 1967) poolt tehtud tähelepanekud hariliku kuuse karüoloogia osas. Nimelt kinnitavad nimeta-

tud autorid, et Valgevene metsades kasvavad var. europaea ja f. acuminata erinevad juba oma ploidsusastme poolest. Kui var. europaea rakkudes loendati kõikides uuritud preparaatides 24 kromosoomi, siis f. acuminata ja ka f. ligulata metafasis loendati 40 - 48 (!) kromosoomi. Samal ajal on aga üldiselt teada, et polüploidus osutub okaspuude seas väga haruldaseks nähtuseks ning sellistel liikidel nagu harilik kuusk ja harilik mänd kaasneb ploidsusastje suurenemisega puudulik okastus võrsetel, vähene viitaalsus ja üldine mahajäämus kasvus. Elujõulisi polüploidseid metsapuid ei ole nimetatud liikide juures kirjeldatud. Tekib kahtlus, et nimetatud autorite järeldus tehti ennatlikult. Pealegi ei olnud hariliku kuuse karüoloogia nende autorite töödes põhiküsimuseks.

2. Materjal ja metoodika

Käesoleva töö põhiliseks ülesandeks kujunes mõnede viljasoomuse kuju järgi määratavate hariliku kuuse Picea abies (L.) Karst./ vormide kromosoomide morfoloogiliste iseärasuste selgitamine. Esmalt viidi vastav karüoanalüüs läbi kahe Eestis kasvava hariliku kuuse vormi osas, milleks valiti var. europaea Tepl. ja var. acuminata Beck. Vastavate viljasoomuste tüüpide esinemissagedus on Eestist varutud käbipartiides 77,6 % ja 15,0 % (Hainla, 1967). Esimese vormi (var. europaea) viljasoomused on rombjad, lühikese tipuga, kõige laiemal kohaga viljasoomuse keskkohal (joon. 36). Teisel vormil (var. acuminata), nagu näha joon. 37, on viljasoomus enam-vähem rombjas, aga pika, kitsa, saagjaservalise tipuga (Lindquist, 1948).

Seemned karüoanalüüsiks varuti Järvselja metsamajandist, ühe populatsiooniga (puistu) piirest. Erinevad vormid määrati viljasoomuste kuju järgi Eesti Metsainstituudi teadlaste poolt.

Et selgitada kromosoomide morfoloogiat hariliku kuuse levila ulatuses geograafiliselt võimalikult kaugete populatsioonide isenditel, varuti seemneid lisaks Eestile veel Põhja-Soomest, Pallastunturist ja levila lõunaosast, Karpaatidest, Ivano-Frankovski oblasti piirest (kõrguselt



Joon. 36. Picea abies var. europaea käbi
ja viljasoomused (1:1).



Joon. 37. Picea abies var. acuminata käbi
ja viljasoomused (1:1).

800 m.ü.m.p.). Soomest varutud käbid pärinesid puudelt, mis viljasoomuse kaju alusel määrati kui tüüpiline var. fennica Reg. (ka Picea fennica Reg.). ↵

Var. fennica le on iseloomulikud ümardunud tipuga viljasoomused (joon. 38). Karpaatidest varutud seemned esindasid populatsioonini kui tervikut, s.t. seemned varuti populatsioonisisest erinevaid vorme eraldamata.

Seemned idandati termostaadis, juuretippe eelmõjutati 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega 5 tunni kestel, fikseeriti, värviti ja valmistati surupreparaadid esimeses peatükis kirjeldatud meetodil.

Kromosoomide morfoloogiliste iseärasuste eristamiseks valiti võimalikult hajutatud kromosoomidega metafasiid, millel kromosoomid vähem kataksid üksteist. Iga preparaadi kohta valiti joonistamiseks üks metafasiifiguur, mille kromosoomid joonistati joonistusaparaadi PA-1 abil suurendusega 2200 x (joonisel). Joonistati spetsiaalselt mikroskoobi MBM-6 jaoks valmistatud joonistuslauda kasutades. Joonistatud metafasiifiguuridest tehti täiendavalt ka mikrofoto.

Nagu juba kirjanduse ülevaates märgiti, on metafasiid kromosoomide joonistamisele tugineva meetodi tugevaks küljeks võimalus jäädvustada ja analüüsida ka selliseid metafasiifiguure, mille kromosoomid ei ole täiesti ühes tasapinnas. Iga kromosoomi on võimalik joonistamisel eraldi fokuseerida ja jäädvustada joonisel ka selliste sooniste asukoht, mida varjab mõni teine kromosoom. Kasutatud joonistamismeetodi näiteks esitatakse ühe metafasiifiguuri kromosoomid nii mikrofoto (joon. 39 ja 40) kui ka joo-



Joon. 38. Picea abies var. fennica käbi
ja viljasoomused (1:1).

nistatuna (joon. 41). Nimetatud metafafaasfiguur on toodud kahel mikrofotel (ühel fotol 20 kromosoomi, teisel 4 kromosoomi), sest raku purunemise tõttu olid 4 kromosoomi ülejäänutest nii palju eemaldunud, et ei mahtunud kõik korraga objektiivi vaatevälja.

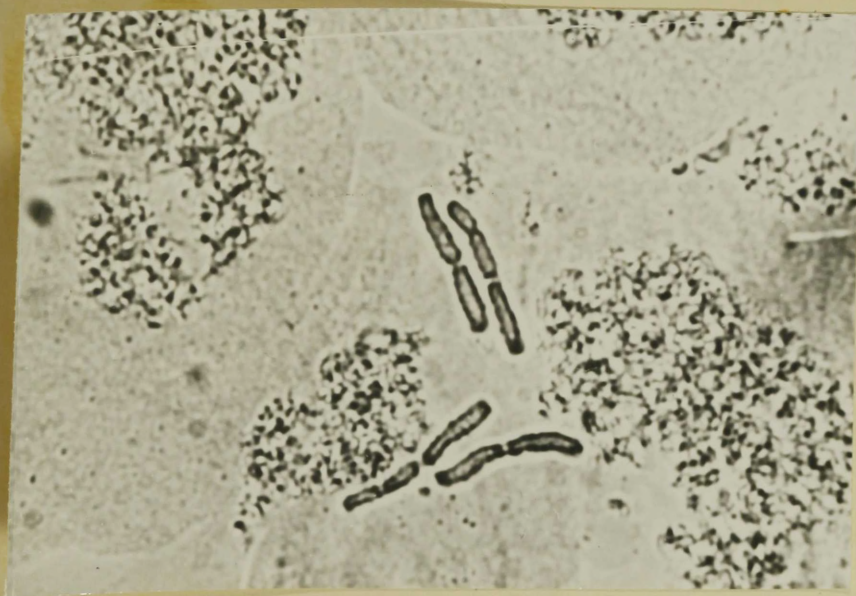
Kromosoomide joonistamisele tugineva meetodiga kaasneb aga kahjuks joonistusaparaadi projektsioonist tingitud optiline viga: vaatevälja perifeersesse ossa sattunud kromosoomid projekteeruvad joonisel suhteliselt suurematena kui vaatevälja tsentraalses ossa paiknevad kromosoomid. Selle vea vähendamiseks nihutati joonistamise käigus preparaati selliselt, et ka perifeersemlt asetsevad kromosoomid jääksid joonistamisel võimalikult objektiivi tsentraalsesse piirkonda.

Joonistati diploidse kromosoomgarnituuri ($2n=24$) kõik kromosoomid. Joonisel mõõdeti kromosoomide õlgade pikkus sirkli ja täpselt gradueeritud joonlaua abil. Kõrverdunud kromosoomide korral mõõdeti nende pikkus lühemate sirgjooneliste segmentide pikkuse summeerimise teel. Mõõtmistulemusi hinnati 0,2 mm täpsusega. Tsentromeeri ja sekundaarsoonise piirkond jäeti kromosoomi kogupikkuse määramisel arvesse võtmata.

Kromosoomide mõõtmisel valiti võimalikult ühtlase kontraktsiooniastmega metafafaasfiguurid. Kasutati kahe sugust meetodit: ühtlasema kontraktsiooniastmega metafafaasfiguuride valikut karüoanalüüsiks spiralisatsioonindeksi (I^S) ja metafafaasi kromosoomide üldpikkuse (Σl) alusel. Arvestades asjaolu, et spiralisatsioonindeksi korrelatsioon kromosoomide üldpikkusega osutus nõrgaks, kasutati kont-

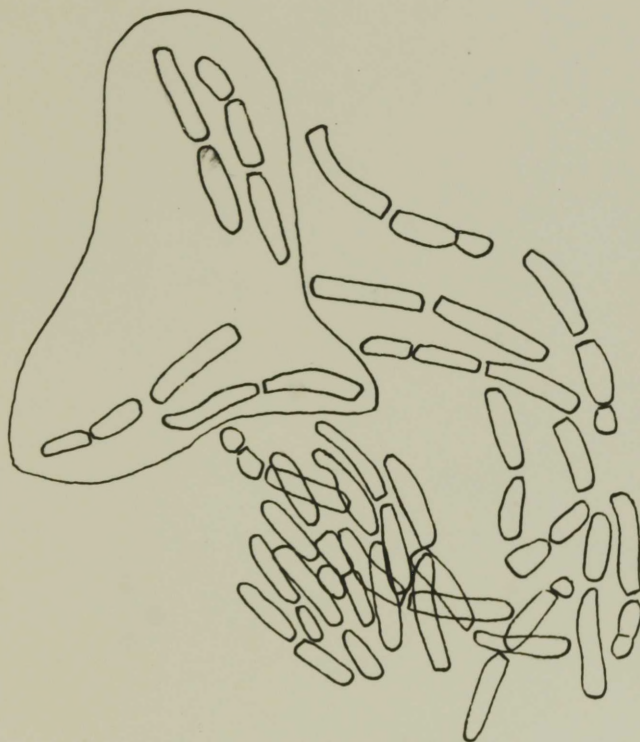


Joon. 39.



Joon. 40.

Joon. 39 ja 40. Metafaasfiguur (kahes osas),
Mõjutatud 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega
5 tunni kestel (x 1800).



Joon. 41. Foto joon. 39 ja 40 näidatud
metafaasi joonisest (x 2200).

rektsiooniastme hindamiseks põhiliselt kromosoomide üldpikkuse määramist, mis kõige täielikumalt iseloomustab kromosoomide kontraktsiooniastet metafasaasfiguuril. Et võrrelda kahe erineva meetodi abil saadavaid tulemusi hariliku kuuse karüotüübi uurimisel, määrati var. acuminata karüotüüp mõlema meetodi alusel. Spiralisatsiooniindeks arvutati ja väljendati protsentides metafasaasi kahe kõige väiksema kromosoomi üldpikkuse jagamisel kahe kõige pikema kromosoomi üldpikkusega.

Kromosoomide mõõtmistulemuste alusel arvutati iga kromosoomi suhteline pikkus (L^r) ja tsentromeeriindeks (I^c). Suhteline pikkus väljendati protsentides metafasaasi kromosoomide aritmeetilise keskmisena arvutatud nn. "standardkromosoomi" suhtes. "Standardkromosoomi" pikkus määrati diploidse kromosoomide kogumi absoluutse kogupikkuse jagamisel 24-ga. Võttes selliselt määratud pikkuse võrdseks 100 ühikuga (100%) arvutati selle suhtes kõigi 24 kromosoomi pikkus suhte arvuna. Tsentromeeriindeksi määramiseks arvutati kromosoomi pikema õla suhe lühemasse.

Töös esitatud karüogrammid, s.t. metafasaasfiguuri mikrofoto alusel välja lõigatud ja homoloogia põhjal reastatud kromosoomide diagrammid koostati enamasti ühest ja samast metafasaasist tehtud mitme mikrofoto põhjal. Nimetatud võtte tingis asjaolu, et mitte kõik kromosoomid ei ole metafasaasis objektiivis suhtes alati rangelt ühes tasapinnas. Seejuures võivad suuremal või vähemal määral fookusest välja jäänud kromosoomidel paista soonised väga halvasti. Iga üksiku kromosoomi morfoloogiliste detailide täpsaks väljatoomiseks fotografeeriti karüogrammi koostamiseks vajaduse

korral isegi ainult ühte kromosoomi korruga fokuseerides.

Kromosoomide klassifitseerimisel võeti aluseks nomenklatuur Levan et al. (1964) järgi.

Erinevuste olulisust hariliku kuuse eri vormide karütüüpide vahel hinnati t-testi alusel.

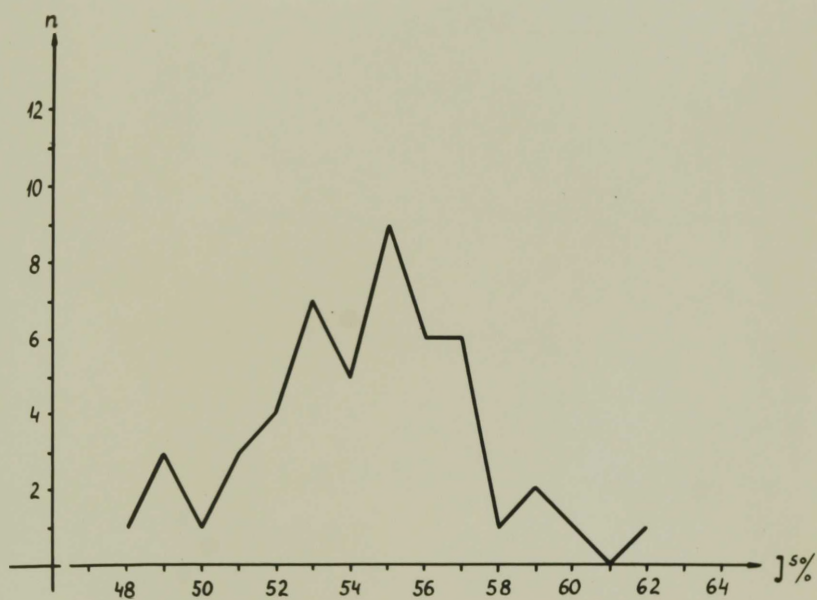
3. Hariliku kuuse kariöanalüüsi tulemused

a) Picea abies var. acuminata kariöanalüüs spiralisatsioonindeksi alusel

Picea abies var. acuminata kromosoomide morfoloogia uurimiseks joonistati 50 metafasaasfiguuri. Kõigil joonistatud metafasaasfiguuridel mõõdeti kõige lühema ja kõige pikema kromosoomipaari pikkus ja saadud andmete alusel arvutati spiraliseerumisindeks I^S . Erinevate metafasaasfiguuride spiraliseerumisindeks kõikus vahemikus 48 % kuni 62 %. Saadud tulemused näitavad erinevate metafasaaside kromosoomide kontraktseerumistasmes küllaltki suurt erinevust. Graafiliselt on erineva kontraktseerumistasmega metafasaasfiguuride sageduskõver kujutatud joon. 42. Spiraliseerumisindeksi keskmiseks suuruseks oli 54,4 %. Absoluutarvudes varieerus 50 kolhitsineeritud metafasaasfiguuril kõige pikema kromosoomi pikkus 11 - 17 mikromeetrit ja kõige lühema kromosoomi pikkus 6 - 9 mikromeetrit.

Kõigi kromosoomide täpseks mõõtmiseks ja edasiseks analüüsiks valiti 50 metafasaasfiguuri seast välja 36, mille spiraliseerumisindeks kõikus keskmisele lähedases vahemikus: 51,8 %-st kuni 57,2 %-ni.

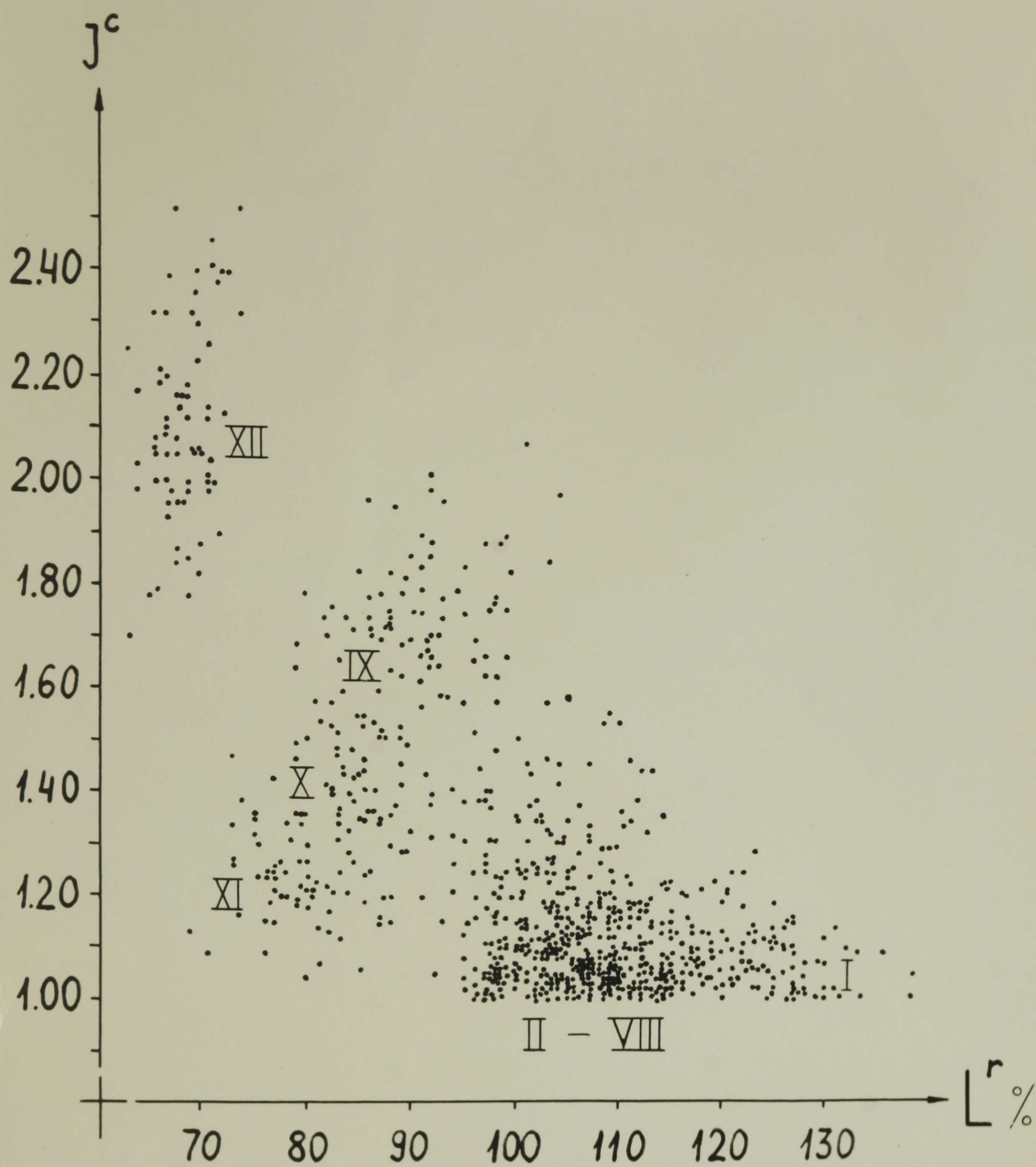
Hariliku kuuse kromosoomide omavahelistest suhetest



Joon. 42. Picea abies var. acuminata erineva kontraktsiooniastmega (hinnatud spiralisatsiooniindeksi I^S alusel) metafafaaside sagedusköver.

ülevaate saamiseks koostati polükariogramm (joon. 43), millel 35 metafasisfiguuri kõik kromosoomid on esitatud graafiliselt punktide kujul nende kahe kõige iseloomulikuma morfoloogilise parameetri - suhtelise pikkuse (L^r) ja tsentromeeriindeksi (I^c) alusel. Polükariogrammilt selgub, et harilikul kuusel mistahes kromosoomipaari morfoloogia varieerub oluliselt erinevates metafasisides. Suhtelise pikkuse varieerumine on suurem pikemate kromosoomide osas, ning väiksem kõige lühema kromosoomi (XII) osas. Tsentromeeriindeks varieerub aga märgatavamalt just kõige lühema kromosoomi juures ning jääb tunduvalt vähem varieeruvaks kõige pikema kromosoomi osas.

Samuti selgub polükariogrammilt, et hariliku kuuse var. acuminata kromosoomide uurimisel esinevad olulised raskused tõeliste homoloogiliste kromosoomide kindlakstelemisel metafasis, kuivõrd mitu paari kromosoomi on suuruselt ja ehituselt väga sarnased. Suhtelise pikkuse ja tsentromeeri asetuse alusel on kõikidel metafasisfiguuridel raskusteta eristatavad kõige pikem (I) ja kõige lühem (XII) kromosoomipaar. Suhteliselt kergemini saab eristada ka IX, X ja XI paari kromosoomi. Nimetatud kromosoomide eristamisel lisandub täiendava tunnusega veel sekundaarsoonis X paari kromosoomide lühemal õlal. Seitse paari kromosoomi (II - VIII) on aga suuruse alusel praktiliselt võimatu eristada. Ka tsentromeeri asetuse järgi on nimetatud seitsmest kuue paari kromosoomid kõik peaaegu võrdõlgised. Kirjeldatud seitse paari kromosoomide eristamisel saab usaldusväärsemalt toetuda vaid sekundaarsooniste olemasolule; nelja paari kromosoomidel ilmneb iseloomuliku asetusega sekundaar-



Joon. 43. Picea abies var. acuminata polükariogramm, koostatud spiralisatsioonindeksi (I^S) alusel valitud 35 metafaasfiguuri kromosoomide põhjal.

soonis kas lühemal või pikemal ülal. Kolme paari kromosoomide individuaalsuse kindlakstegemiseks puudub aga igasugune alus. Sageli ei ole aga võimalik selgepiirilisel eristada kõiki sekundaarsooniseid ning seetõttu jääb homoloogiliste kromosoomide kindlakstegemine siiski raskeks ja vigadega seotuks.

Homoloogiliste kromosoomide kindlakstegemiseks okaspuude karüoanalüüsil on V. Černa ja J. Černý (1969) välja töötanud spetsiaalse graafilise meetodi. Siiski ei ärata ka nimetatud meetod usaldust kui võrd meetodi väljatöötamisel lähtusid autorid eeldusest, et homoloogidel on teoreetiliselt võrdse pikkusega ülal. Käesoleva töö käigus aga selgus, et kolhitsineerimisel võib ka homoloogiliste kromosoomide kontraktsioon toimuda asünkroonselt. Kõige tõepärasemalt võis selles nähtuses veenduda pikima (I) ja lühima (XII) kromosoomipaari mõõtmisel. Harva leidus metafase, milles ühelgi nimetatud paaridest olid homoloogilised kromosoomid täpselt võrdse pikkusega. Leida võis aga metafase, milles näiteks kahe kõige pikema kromosoomi, s.t. I paari homoloogide pikkus erines 10-12 suhteühiku võrra. Ühes metafasis ulatus kahe kõige pikema kromosoomi pikkusevahe isegi 24 ühikuni. Kõige lühema kromosoomi (XII) osas võis näiteks homoloogiliste kromosoomide pikkusevahe ulatuda suhtearvudes 7-8 ühikuni.

Spiralisatsioonindeksi alusel valitud 35 metafasfiiguuri kromosoomide mõõtmistulemuste põhjal arvutati var. acuminata kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi aritmeetiline keskmine. Vaastavad tulemused koos statistiliste põhinäitajatega / standardhälve $\pm s$ ja variatsioonikoefitsient $V(\%)$ / on esitatud tabelis 3. Usal-

Tabel 3

Picea abies var. *acuminata* kromosoomide subteline pikkus ja tsentromeeriindeksi spiralisatsioonindeksi (IS) alusel valitud metafaseide kogumis

Kromosoomi järk. nr.	Subteline pikkus			Tsentromeeriindeks		
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\pm S$	V (%)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\pm S$	V (%)
I	126,4 \pm 0,5	2,95	2,3	1,07 \pm 0,01	0,047	4,4
II	114,3 \pm 0,6**	3,27	2,9	1,10 \pm 0,01**	0,072	6,5
III	114,3 \pm 0,6*	3,28	2,9	1,12 \pm 0,01*	0,059	5,3
IV } V } VI }	103,9 \pm 0,6	6,05	5,8	1,09 \pm 0,01	0,072	6,6
VII	103,5 \pm 0,6**	3,64	3,5	1,32 \pm 0,01**	0,080	6,1
VIII	103,4 \pm 0,5***	3,14	3,0	1,10 \pm 0,01***	0,061	5,5
IX	91,2 \pm 0,7	4,22	4,6	1,73 \pm 0,02	0,110	6,4
X	86,7 \pm 0,6*	3,49	4,0	1,47 \pm 0,02*	0,123	8,4
XI	79,1 \pm 0,5	3,09	3,9	1,26 \pm 0,01	0,076	6,0
XII	68,7 \pm 0,3	1,61	2,3	2,12 \pm 0,03	0,151	7,1

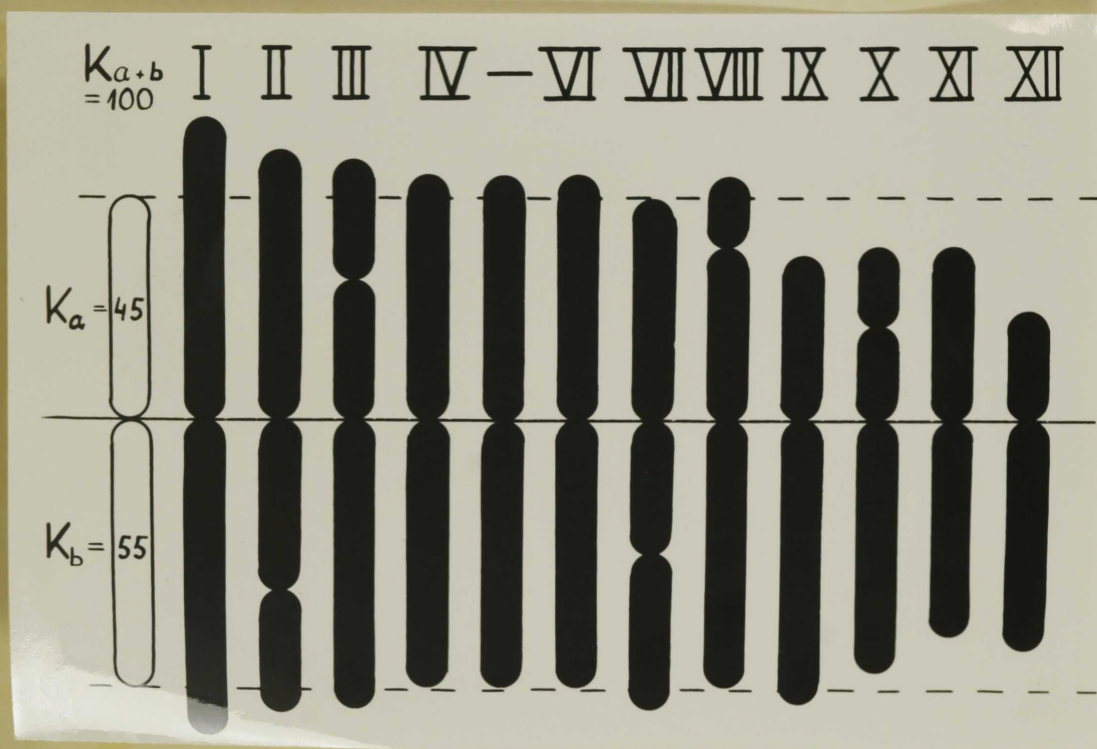
* SAT - kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal õlal

** SAT - kromosoom " pikemal õlal

*** SAT - kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal õlal

dusväärsete kriteeriumide puudumise tõttu oli võimatu eristada IV - VI paari kromosoomi ning seepärast arvutati nende suhteline pikkus ja tsentromeeriindeks kuue kromosoomi mõõtmise keskmisena. Tabelis 3 esitatud tulemuste põhjal konstrueeriti var. acuminata idiogramm, millel kromosoomid reastati samuti rangelt pikkuse alanemise järjesses nagu tabelis 3: esimesel kohal kõige pikem kromosoom ja viimasel kohal kõige lühem kromosoom. Idiogrammil paigutati kõik kromosoomid lühema otsaga ülespoole, kusjuures tsentromeeri koht asetati kõigil kromosoomidel ühele joonele (joon. 44).

Nagu idiogrammit näha, võib var. acuminata karütöübis kindlaks teha 5 paari sekundaarsoonisega kromosoomi. Peab märkima, et sekundaarsooniste kindlakstegemine osutub kõige raskemaks probleemiks. Kuigi metafasaasfiguuride valimisel joonistamiseks asetati eriline rõhk sellele, et võimalikult selgemini ilmneksid kromosoomide sekundaarsoonised, oli nende arv erinevates metafasaasides siiski erinev. Kõige sagedamini võib ühe metafasaasi kromosoomidel kahtluseti eristada 6 kuni 8 sekundaarsoonist, harvemini 9 kuni 10 soonist. Sageli esineb kromosoomidel kõrvuti tõenäoste sekundaarsoonistega teisi, soonistesarnaseid akromaatilisi piirkondi. Sageli võib mõne sekundaarsoonisega kromosoomipaari korral soonist kahtluseti eristada ainult ühel homologilistest kromosoomidest. Teisel homologil võib sekundaarsoonis jääda ilmnemata. Käsitleva töö andmeil avaldusid var. acuminata kromosoomidel spiralisaatsiooniindeksi alusel valitud metafasaasides sekundaarsoonised järgmise sagedusega: II kromosoomil avaldus sekundaarsoonis 68,6 %-li-



Joon. 44. *Picea abies* var. *acuminata* idiogramm, koostatud spiralisatsioonindeksi (I^S) alusel valitud metafaseide karüoanalüüsi andmetel.

se sagedusega, s. t., et 35 paari kromosoomidel, mis eri metafasaaside keskmisena asetusi idiogrammil pikkuse järgi teisele kohale, võis sekundaarseoonist kahtluseta eristada 48 kromosoomil, s. o. 68,6 % 70-st, 22 kromosoomil avaldus soonis kas väga nõrgalt või puudus praktiliselt täiesti. III kromosoomil avaldus sekundaarseoonis 82,8 %-lise sagedusega, VII kromosoomil esines soonis 74,3 %-lise sagedusega, VIII kromosoomil esines väike lineaarne satelliit 65,7 %-lise sagedusega ning X kromosoomil täheldati sekundaarseoonist 84,3 %-lise sagedusega.

Hariliku kuuse kardonaalüüsi komplitseerib veel asjaolu, et erinevate metafasaaside vastavad kromosoomid ei satu pärast nende pikkuse järgi reastamist kariogrammidel samadele kohtadele. Erinevates metafasaasides esinenud kromosoomide pikkusjärjestuse varieeruvusest annab viie SAT-kromosoomi näitel ülevaate tabel 4. Näiteks esines idiogrammil kümnendal kohal näidatud SAT-kromosoom tegelikult sellisel kohal ainult 15 metafasaasfiguuri kromosoomide reastamisel, mis moodustab ca 43 % analüüsitud 35 metafasaasist, 20 %-l metafasaasidest asetub nimetatud kromosoom kariogrammil teisele (II) kohale, 26 %-lise sagedusega - neljandale kohale, 8 %-lise sagedusega - viiendale kohale ja 3 %-lise sagedusega - kuuen-dale kohale. Väiksem pikkusjärjestuse varieerumine avaldus idiogrammil kümnenandana näidatud SAT-kromosoomi osas. Nimetatud kromosoom esines kümnen-dal kohal 75 %-lise sagedusega, üheksandal kohal - 23 %-lise sagedusega ning üheteistkümnen-dal kohal - 3 %-lise sagedusega.

Li Kromosoomide asünkroonse kontraktsiooni tõttu esines

Tabel 4

Picea abies var. *acuminata* SAT-kromosoomide pikkusjärjestuse varieerumine erinevatel karüogrammidel

Jrk. nr. ididogramm	Tsentro- meeriindeks	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
		Kromosoomi tegelik jrk. nr. erinevatel karüogrammidel									
		Esinemissagedus erinevatel kohtadel %des									
II	1,10	66	26	8							
III	1,12	20	43	26	8	3					
VII	1,32		3	8	29	23	14	23			
VIII	1,10			14	11	38	20	17			
X	1,47								23	74	3

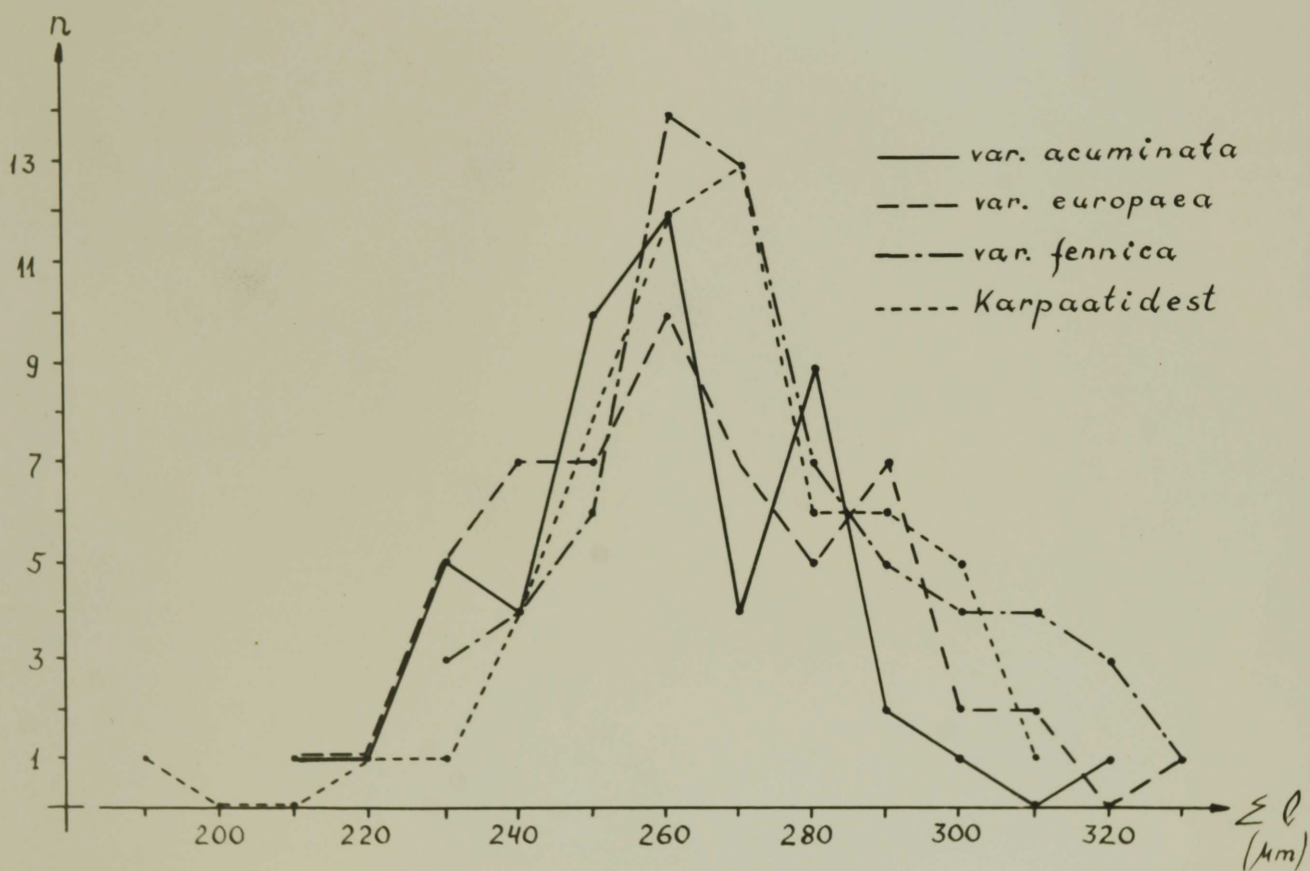
mõningaid raskusi isegi sekundaarsoonistega kromosoomide II ja III tšeliste homoloogide kindlakstegemisel, kuigi ühel neist (III) ^{asub} sekundaarsoonis lühemal õlal ning teisel (II)-pikemal õlal. Seejuures on nimetatud kromosoomid pikkuse ja ka tsentromeeri paiknemise poolest võrdlemisi sarnased. Mainitud sarnasuse ning ühtlasi asünkroonselt toimunud kontraktsiooni tõttu võiski leida metafasefigure, milles mõlemad nimetatud kromosoomid paistsid täiesti võrdõlgseina. Mõnedes metafases võis isegi näha, et II kromosoomipaari ühel homoloogilistest kromosoomidest või isegi mõlemal homoloogil oli sekundaarsoonisega õlg lühemaks.

Eelitatud andmetest (tabel 3, idiogramm) selgub, et tegemist on küllaltki sümmeetrilise kariotüübiga, s.t. kromosoomid on võrdlemisi ühesuguse pikkusega ning seejuures kõik kas mediaanse või submediaanse tsentromeeriga. Kahe- teistkümnest kromosoomipaarist kümnel paikneb tsentromeer mediaanses tsoonis (I^c jääb vahemikku 1,0 kuni 1,7) ning ainult kahel kromosoomil (IX ja XII) asub tsentromeer submediaanselt (I^c vahemikus 1,7 kuni 3,0).

b) Picea abies var. acuminata karüoanalüüs
metafaasi kromosoomide üldpikkuse alusel

Nagu selgus var. acuminata kromosoomide uurimisel, osutub spiralisatsioonindeks (I^S) kromosoomide kontraktsiooniastme näitajana ebatäpseks: võrdse spiralisatsioonindeksiga metafaaside kromosoomide üldpikkus võib suurel määral erineda, või ka vastupidi, s.t. võrdse kromosoomide üldpikkusega metafaaside I^S osutub oluliselt erinevaks. Näiteks võis leida kaks metafaasi, mille kromosoomide üldpikkus oli 249 ja 284 mikromeetrit, spiralisatsioonindeks osutus aga võrdseks - 54,8 %. Arvestades öeldut, rakendati var. acuminata karüotüübi iseloomustamiseks lisaks spiralisatsioonindeksiist lähtuvalle meetodile ka võtet, mis metafaasi kromosoomide kontraktsiooniastme hindamisel tugineb kromosoomide üldpikkuse mõõtmisele. Selleks mõõdeti kõigi kromosoomide pikkus 50 metafaasfiguuri joonisel. Kromosoomide üldpikkus (Σl) varieerus erinevates metafaasides 213 kuni 316 mikromeetrini, ulatudes seega 1,5-kordseni. Erineva kontraktsiooniastmega metafaaside esinemisest annab ülevaate joon. 45 esitatud variatsioonikõver.

Kromosoomide keskmiste morfomeetriliste parameetrite arvutamiseks valiti Σl alusel 26 metafaasfiguuri, mille kromosoomide kontraktsiooniastet iseloomustas suhteliselt väiksem varieerumine: kromosoomide üldpikkus jäi vahemikku

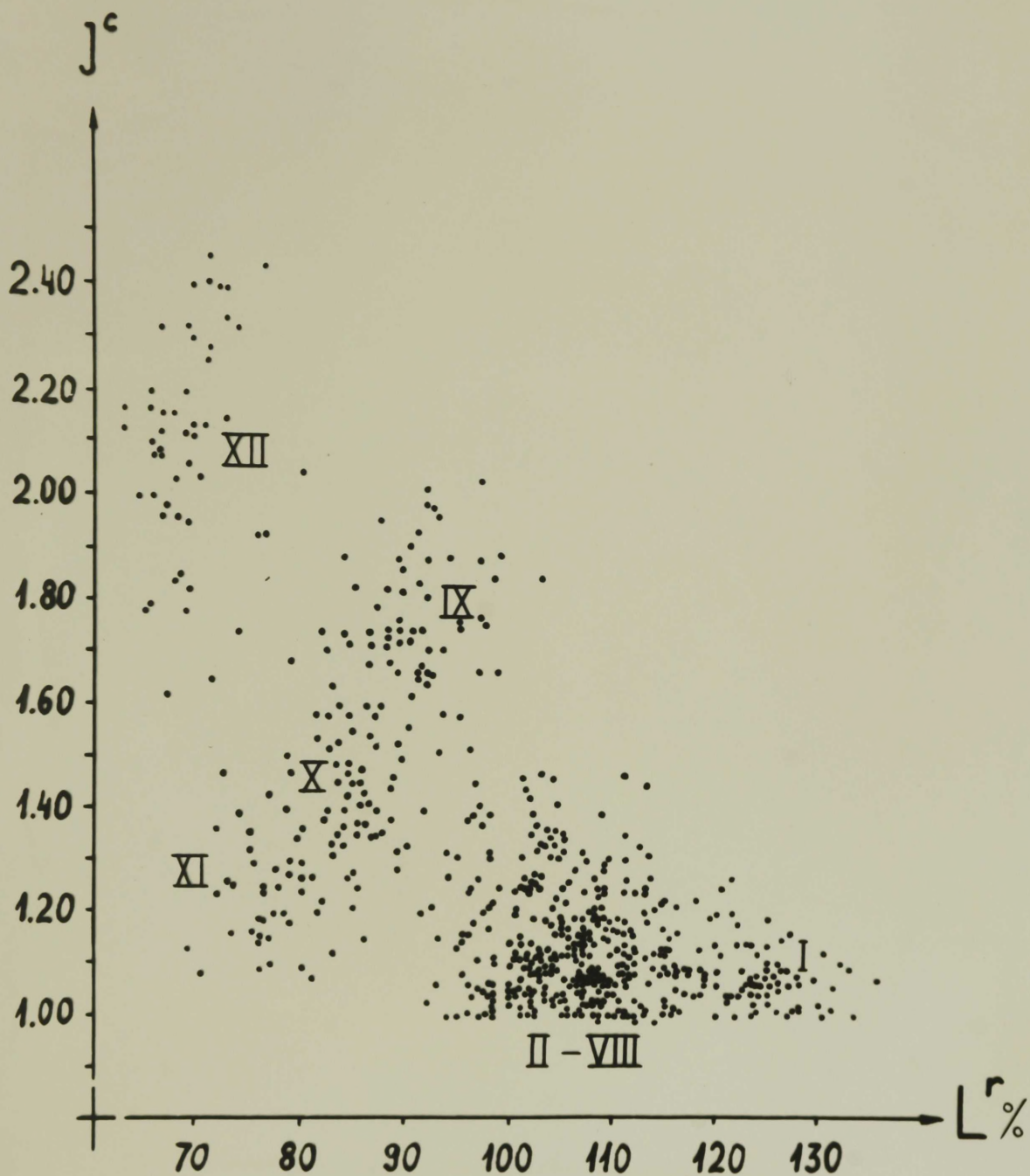


Joon. 45. Erineva kontraktsioonistmega (hinnatud kromosoomide üldpikkuse Σl alusel) metafaaside sageduskõverad.

249 kuni 275 μ m. Nimetatud 26 metafasaasi kromosoomide suhtelise pikkuse (L^r) ja tsentromeeriindeksi (I^c) alusel koostati polükariogramm (joon. 46). Kuigi antud viisil valitud 26 metafasaasi kromosoomide kontraktsiooniaste on ühtlasem, võrreldes I^s alusel valitud 35 metafasaasi kromosoomide kontraktsiooniastmega, osutub polükariogramm üldjoontes sarnaseks joonisel 43 esitatud polükariogrammiga. Kromosoomide eristamisel kehtivad samad raskused nagu spiralisatsiooniindeksi alusel valitud metafasaaside kromosoomide analüüsilgi: erinevate metafasaasfiguuride kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi varieerumine osutub endiselt suureks ning mitu paari kromosoomi (II-VIII) suuruse ja tsentromeeri asetuse poolest praktiliselt ei erine. Viimaste eristamisel saab toetuda ainuüksi sekundaarsooniste olemasolule.

Kromosoomide üldpikkuse alusel valitud 26 metafasaasfiguuri mõõtmistulemuste alusel arvutatud var. acuminata kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi keskmised koos statistiliste põhinäitajatega on esitatud tabelis 5. SAT-kromosoomide morfoloogiast (lineaarsete satelliitide keskmisest suurusest) annavad täiendavalt ülevaate tabelis 6 esitatud andmed.

Tabelis 7 on esitatud kahel meetodil (metafasaaside kontraktsiooniastme hindamisel spiralisatsiooniindeksi ja kromosoomide üldpikkuse alusel) määratud var. acuminata kariotüübi erinevuste olulisuse hindamistulemused (tabelites 3 ja 5 toodud tulemuste võrdlus). Tabelis 5 toodud keskmiste põhjal konstrueeritud idiogramm on näidatud joon. 47. Nagu nähtub kahel meetodil saadud idiogrammide (joon. 44



Joon. 46. Picea abies var. acuminata polükariogramm, koostatud kromosoomide üldpikkuse alusel valitud 26 metafasaasfiguuri kromosoomide põhjal.

Tabel 5

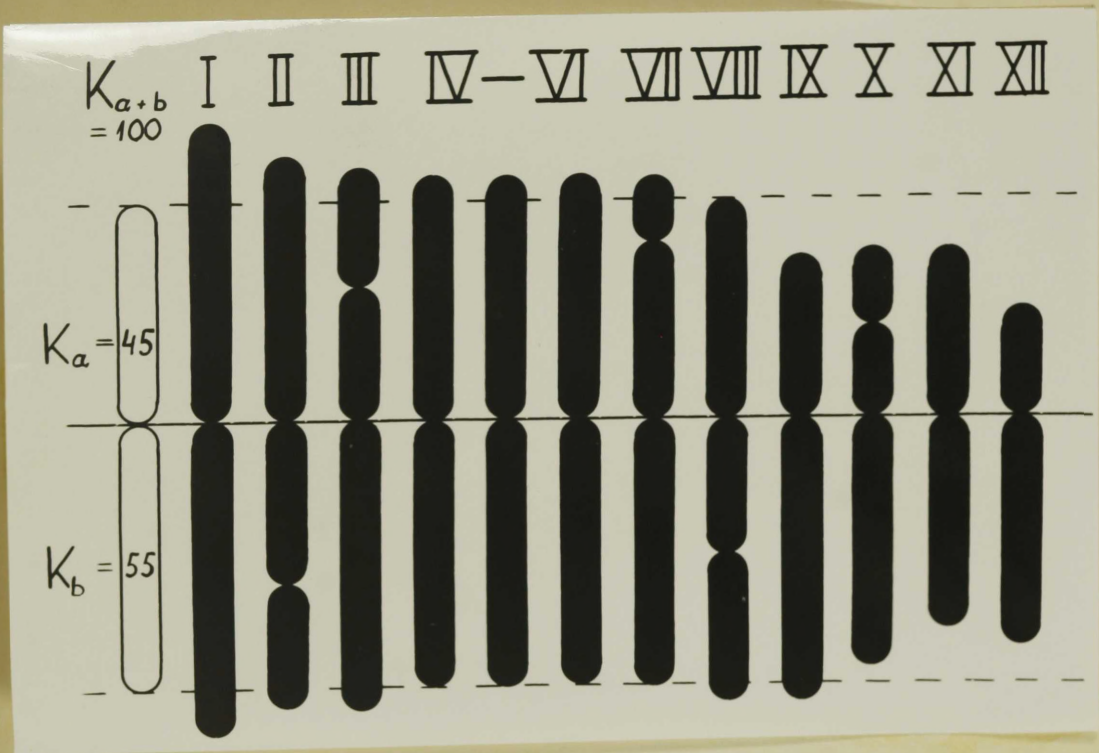
Picea abies var. *acuminata* kromosoomide suhteline pikkus ja tsentromeetri-
indeksi kromosoomide ulgpikkuse (ΣL) alusel valitud metafaseide kogumis

Kromosoomi jrk. nr.	Suhteline pikkus			Tsentromeetriindeks		
	$\Sigma \pm S_{\Sigma}$	$\pm S$	V (%)	$\Sigma \pm S_{\Sigma}$	$\pm S$	V (%)
I	126,0 \pm 0,7	3,23	2,6	1,06 \pm 0,01	0,037	3,5
II	113,2 \pm 0,6**	2,90	2,6	1,09 \pm 0,01**	0,050	5,5
III	111,4 \pm 0,6*	3,24	2,9	1,15 \pm 0,01*	0,075	6,5
IV } V } VI }	105,0 \pm 0,7	5,97	5,7	1,10 \pm 0,01	0,078	7,1
VII	104,9 \pm 0,8***	3,85	3,7	1,11 \pm 0,01***	0,058	6,1
VIII	103,5 \pm 0,5**	2,70	2,6	1,31 \pm 0,01**	0,070	5,3
IX	91,9 \pm 0,6	3,30	3,6	1,75 \pm 0,03	0,131	7,5
X	86,2 \pm 0,5*	2,77	3,2	1,51 \pm 0,02*	0,106	7,0
XI	78,5 \pm 0,7	3,50	4,5	1,26 \pm 0,02	0,083	6,6
XII	69,5 \pm 0,5	2,72	3,9	2,10 \pm 0,03	0,150	7,1

* SAT-kromosoom lineaarse setelliidiga lühemal õlal

** SAT-kromosoom " pikemal õlal

*** SAT-kromosoom väikese lineaarse setelliidiga lühemal õlal



Joon. 47. *Picea abies* var. *acuminata* idiogramm, koostatud kromosoomide üldpikkuse alusel valitud metafasaaside karüoanalüüsi andmetel.

Tabel 6

Erinevete kerütüüpide SAT-kromosoomide satelliitide keskmine suurus (%-des kromosoomi pikkusest)

SAT-kromosoomi iseloomustus ja tsentromeeriindeks (I^C)	A h a l ü s i t u d k a r ü o t ü ü b i d		var. acuminata		var. europaea		var. fennica		Populatsioon Karpastidest	
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	V(%)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	V(%)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	V(%)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	V(%)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	V(%)
Satelliit pikemal õlal $I^C = 1,06 - 1,09$	$22,5 \pm 0,5$	13,4	$23,6 \pm 0,3$	7,7	$23,2 \pm 0,3$	7,3	$23,1 \pm 0,4$	10,2		
Satelliit lühemal õlal $I^C = 1,15 - 1,19$	$21,5 \pm 0,6$	16,5	$20,6 \pm 0,4$	12,4	$20,9 \pm 0,3$	9,0	$20,4 \pm 0,3$	8,4		
Väike satelliit lühemal õlal $I^C = 1,09 - 1,13$	$12,7 \pm 0,5$	25,2	$12,3 \pm 0,3$	14,7	$12,4 \pm 0,2$	13,3	$11,9 \pm 0,3$	9,3		
Satelliit pikemal õlal $I^C = 1,31 - 1,35$	$30,0 \pm 0,3$	7,0	$30,2 \pm 0,4$	9,2	$29,7 \pm 0,4$	8,2	$29,1 \pm 0,3$	8,7		
Satelliit lühemal õlal $I^C = 1,47 - 1,51$	$18,3 \pm 0,4$	13,4	$18,5 \pm 0,3$	10,5	$17,9 \pm 0,2$	10,0	$17,4 \pm 0,3$	14,4		

Tabel 7

Kahel meetodil valitud metatsesside ensüümsil määratud var. acuminata karvotüüpide võrdlus

Suhteline pikkus		var. acuminata I alusel		Tsentromeeriindeks		
var. acuminata I alusel	var. acuminata I alusel	var. acuminata I alusel	var. acuminata I alusel	var. acuminata I alusel	var. acuminata I alusel	
Jrk. nr. idioogramm	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Jrk. nr. idioogramm	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
					P dif.	
I	126,0 ± 0,7	I	126,4 ± 0,5	1,06 ± 0,01	1,07 ± 0,01	> 0,05
II	113,2 ± 0,6**	II	114,3 ± 0,6**	1,09 ± 0,01**	1,10 ± 0,01**	> 0,05
III	111,4 ± 0,6*	III	111,3 ± 0,6*	1,15 ± 0,01*	1,12 ± 0,01*	> 0,05
IV	105,0 ± 0,7	IV	103,9 ± 0,7	1,10 ± 0,01	1,09 ± 0,01	> 0,05
V						
VI		VI				
VII	104,9 ± 0,8***	VIII	103,4 ± 0,5***	1,11 ± 0,01***	1,10 ± 0,01***	> 0,05
VIII	103,5 ± 0,5**	VII	103,5 ± 0,6**	1,31 ± 0,01**	1,32 ± 0,01**	> 0,05
IX	91,9 ± 0,6	IX	91,2 ± 0,7	1,75 ± 0,03	1,73 ± 0,02	> 0,05
X	86,2 ± 0,5*	X	86,7 ± 0,6*	1,51 ± 0,02*	1,47 ± 0,02*	> 0,05
XI	78,5 ± 0,7	XI	79,1 ± 0,5	1,26 ± 0,02	1,26 ± 0,01	> 0,05
XII	69,5 ± 0,5	XII	68,7 ± 0,3	2,10 ± 0,03	2,12 ± 0,03	> 0,05

* SAT-kromosoom linearsee stelliidiga lühemal õlal

** SAT-kromosoom " pikemal õlal

*** SAT-kromosoom väikese linearsee stelliidiga lühemal õlal

ja 47) võrdlemisest, on SAT-kromosoomid VII ja VIII vahetanud idiogrammidel oma järjestuse. Kuid sisuliselt võib siiski mõlemaid idiogramme lugeda identseiks, kui võrd suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi erinevused jäävad kõigi vastavate kromosoomide osas ebaolulisteks (Paif. > 0,05). Peab märkima, et töö käigus kujunes autoril seisukoht lugeda antud meetodi rakendamisel saadud erinevusi karüotüübis olulisteks ainult 99,9 %-lise tõenäosuse taseme juures. 95 %-list ja 99 %-list tõenäosuse taset peeti ebapiisavaks, et tõestada erinevuste olulisust karüotüüpide vahel, millised on kirjeldatud niiöelda kromosoomide "ilmnevale sarnasusele" tugineval kromosoomide eristamisel. Vastavalt eelöeldule võib ka konstrueeritud idiogrammi nimetada nn. "ilmnevaks idiogrammiks" (inglise keeles "apparent idiogram") nagu seda defineeris rootsi uurija M. Simak (1964). Nimetatud "ilmneva sarnasuse" tõttu võivad aga oksaspuude karüoanalüüsil esineda mitmesugused olulised vead:

- 1) kromosoomide ära vahetamine erinevates metafasis, kui võrd teatud kromosoomide pikkusjärjestus võib eri metafasiside karüogrammidel erineda ning samal ajal mitu kromosoomipaari näivad väga sarnased;
- 2) kromosoomide õlgade ära vahetamine enam-vähem võrdõlgsete kromosoomide korral, kui võrd teatud kromosoomi lühem õlg võib mõnes metafasis osutada hoopiski pikemaks õlaks.

Ülal kirjeldatud eksimisevõimaluste tõttu peetigi vajalikuks lugeda erinevate karüotüüpide erinevusi usaldusväärselt olulisteks ainult 99,9 %-lise tõenäosuse taseme juures.

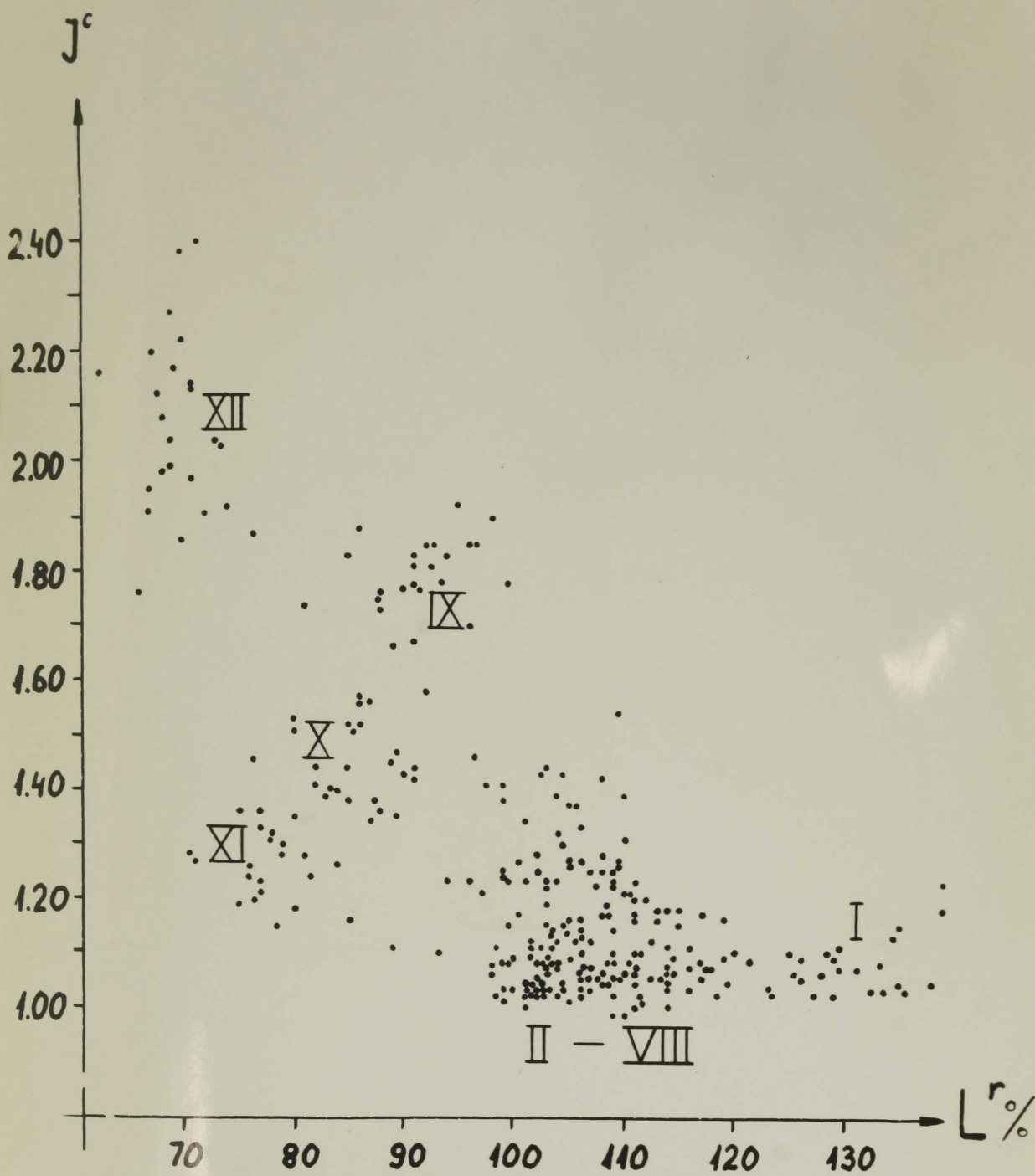
Nimetatud vigade esinemist on detailselt uurinud ning nende esinemise sagedust euroopa lehise (Larix decidua) karüoanalüüsi näitel hinnanud rootsi autorid B. Matern ja M. Simak (1968; 1969). Mõnede kromosoomide osas ulatus nende vigade tõenäosus näiteks 50 %-ni. Põhjusteks on eri kromosoomide suhteliselt väikesed morfoloogilised erinevused ühe metafasi piires ning samade kromosoomide suur individuaalne varieerumine erinevates metafasides.

c) Picea abies var. europaea karüoanalüüs

Hariliku kuuse teisendi var. europaea kromosoomide uurimiseks joonistati 56 metafafaasfiguuri, millel mõõdeti kõigi kromosoomide pikkus. Uksikute metafafaasfiguuride kromosoomide üldpikkus varieerus 208 kuni 326 mikromeetrit, seega ligi 1,6-kordselt (joon. 45).

Kromosoomide üldpikkuse alusel valiti 24 metafafaasfiguuri, mille kromosoomide iseloomustas suhteliselt ühtlasem kontraktsiooniaste: kromosoomide üldpikkuse varieerumine jäi vahemikku 245 kuni 273 mikromeetrit. Nimetatud 24 metafafaasfiguuri kõigi kromosoomide suuruse ja morfoloogia arvuliseks väljendamiseks arvutati nende suhteline pikkus ja tsentromeeriindeks. Mainitud parameetrite põhjal koostati ka var. europaea kromosoomide polükarüogramm (joon. 48), mis osutub sarnaseks var. acuminata polükarüogrammiga (joon. 46). Selgub, et var. europaea kromosoomide eristamisel on tegemist sarnasuguste raskustega nagu var. acuminata karüoanalüüsilgi. Kõige raskem on eristada II - VIII paari kromosoomide: nelja paari kromosoomide osas saab toetuda sekundaarsooniste olemasolule ja iseloomulikule asetusele, kolme paari kromosoomide eristamine jääb aga praktiliselt võimatuks kuivõrd nii suuruselt kui ka ehituselt on need väga sarnased ning puuduvad ka sekundaarsoonised.

Mainitud 24 metafafaasi analüüsi tulemusena arvutatud



Joon. 48. Picea abies var. europaea polükarüogramm.

var. europaea kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi aritmeetilised keskmised koos statistiliste põhinäitajatega on esitatud tabelis 8. Arvutustulemuste alusel konstrueeriti var. europaea idiogramm (joon. 49). Andmeid viie SAT-kromosoomi lineaarsete satelliitide keskmisest suurusest on näha tabelis 6.

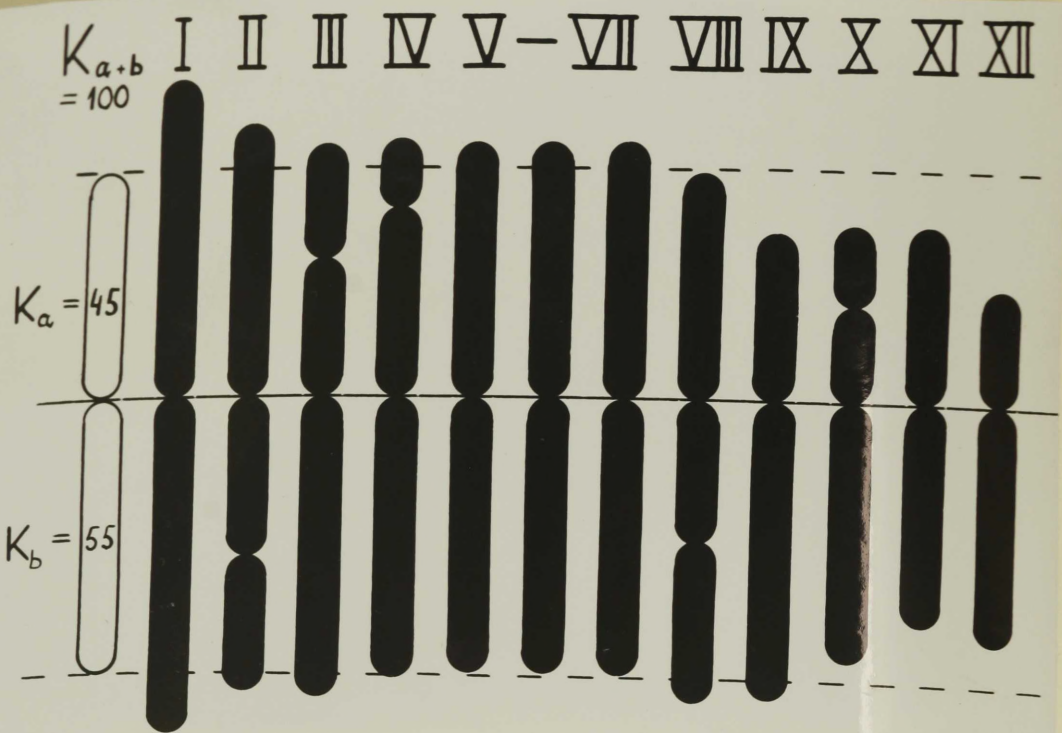
Var. europaea ja var. acuminata kariotüüpide võrdlustulemused t-testi alusel on esitatud tabelis 9. Võrdlusest selgub kariotüüpide suur sarnasus. Rangelt pikkuse alane mise alusel järjestatult on idiogrammidel (joon. 47 ja 49) kromosoomide järjestus küll mõnevõrra erinev: SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lähemal õlal on var. europaea kariotüüpi andmeil pikem kolme ühiselt eristatud paari (V - VII joon. 49) kromosoomide keskmisest pikkusest ning asetub IV kohale, var. acuminata kariotüüpi andmeil asetub sama kromosoom pikkuse alusel aga VII kohale (joon. 47), kui võrd tema pikkus osutub veidi väiksemaks kolme ühiselt eristatud kromosoomi keskmisest pikkusest. Kahe nimetatud kariotüüpi vastavate kromosoomide suhtelise pikkuse erinevused osutuvad aga enamasti minimaalseiks ($P_{dif.} > 0.05$). Mõnevõrra märgatavamad erinevused ilmnevad vaid I ja III paari kromosoomide suhtelise pikkuse osas, jäädes siiski allapoole 99,9 %-list tõenäosuse taset. Tsentromeeriindeksi erinevused osutuvad aga kõigi kromosoomide osas täiesti ebaolulisteks ($P_{dif.} > 0.05$). Seega 99,9 %-lise tõenäosuse puhul osutuvad ühes ja samas populatsioonis kahe eri vormi (var. europaea ja var. acuminata) kariotüübid niivõrd sarnasteks, et autori arvates õigustub hariliku kuuse üksikõik millise populatsiooni tsütogeneetiline iseloomustamine

Tabel 8

Picea abies var. *europaea* kromosoomide suhteline pikkus ja tsentrimeeriindeks

Kromosoomide jrk. nr.	Suhteline pikkus			Tsentromeeriindeks		
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\pm s$	V (%)	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\pm s$	V (%)
I	130,0 ± 1,1	5,37	4,1	1,07 ± 0,01	0,052	4,9
II	112,2 ± 0,7**	3,66	3,3	1,08 ± 0,01**	0,053	4,9
III	108,9 ± 0,9*	4,50	4,1	1,19 ± 0,01*	0,059	5,0
IV	106,4 ± 0,8***	3,94	3,7	1,10 ± 0,01***	0,056	5,1
V	104,8 ± 0,7	6,09	5,8	1,09 ± 0,01	0,072	6,6
VI						
VII	103,7 ± 0,8**	3,90	3,8	1,35 ± 0,02**	0,083	6,1
VIII						
IX	91,8 ± 0,7	3,62	3,9	1,78 ± 0,02	0,095	5,3
X	85,7 ± 0,7*	3,62	4,2	1,47 ± 0,02*	0,100	6,8
XI	78,0 ± 0,7	3,66	4,7	1,27 ± 0,02	0,090	7,1
XII	69,5 ± 0,6	3,11	4,5	2,06 ± 0,03	0,158	7,7

* SAT-kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal õlal
 ** SAT-kromosoom " pikemal õlal
 *** SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal õlal



Joon. 49. Picea abies var. europaea idiogramm.

Tabel 9

Picea abies var. europaea ja var. scandinava karütüüpide võrdlus

var. europaea		Subteline pikkus		Tsentromeerindeks		
Jrk. nr.	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	var. scandinava	Jrk. nr.	var. europaea	var. scandinava	
idiogramm		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	idiogramm	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
					P dif.	
I	130,0 \pm 1,1	126,0 \pm 0,7	I	1,07 \pm 0,01	1,06 \pm 0,01	> 0,05
II	112,2 \pm 0,7**	113,2 \pm 0,6**	II	1,08 \pm 0,01**	1,09 \pm 0,01**	> 0,05
III	108,9 \pm 0,9*	111,4 \pm 0,6*	III	1,19 \pm 0,01*	1,15 \pm 0,01*	> 0,05
IV	105,4 \pm 0,8***	104,9 \pm 0,8***	VII	1,10 \pm 0,01***	1,11 \pm 0,01***	> 0,05
V			IV			
VI	104,8 \pm 0,7	105,0 \pm 0,7	V	1,09 \pm 0,01	1,10 \pm 0,01	> 0,05
VII			VI			
VIII	103,7 \pm 0,8**	103,5 \pm 0,5**	VIII	1,35 \pm 0,02**	1,31 \pm 0,01**	> 0,05
IX	91,8 \pm 0,7	91,9 \pm 0,6	IX	1,78 \pm 0,02	1,75 \pm 0,03	> 0,05
X	85,7 \pm 0,7*	86,2 \pm 0,5*	X	1,47 \pm 0,02*	1,51 \pm 0,02*	> 0,05
XI	78,0 \pm 0,7	78,5 \pm 0,7	XI	1,27 \pm 0,02	1,26 \pm 0,02	> 0,05
XII	69,5 \pm 0,6	69,5 \pm 0,5	XII	2,06 \pm 0,03	2,10 \pm 0,03	> 0,05

* SAT-kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal õlal

** SAT-kromosoom " " pikemal õlal

*** SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal õlal

Ühtse tervikuna, s.t. karüoanalüüsil uuritava populatsiooni liigisisesele vormilisele koosseisule tähelepanu pööramata.

Tõenäoselt on ühe ja sama populatsiooni erinevate vormide (teisendite) korral tegemist nn. "hübriidse karüotüübiga", kuid ilmselt kromosoomide molekulaarstruktuuri tasemel. Vähemalt ei erine nimetatud vormide karüotüübid sedavõrd, et looduses takistuks liigisiseste taksonoomiliste üksuste omavaheline ristlemine. Populatsiooni (piis- tu) piires, milles esinevad kõrvuti mitmed teisendid ja nende vahelvormid, ei ole ühegi isendi puhul teada, missuguselt vormilt pärineb õietolm, mille spermiumidega viljastatakse antud taime emassugurakud.

d) Hariliku kuuse (Picea abies) eesti populatsiooni
karüotüüp

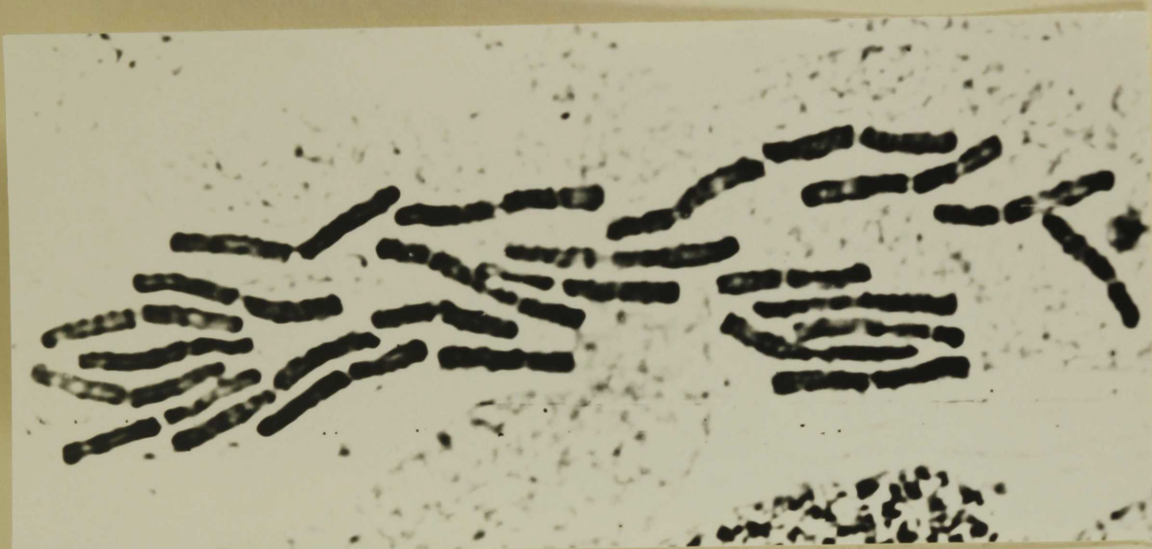
Nagu eelmises alapeatükis selgitati, osutusid var. europaea ja var. acuminata karüotüübid sedavõrd sarnas-
teks, et peeti õigustatuks mõlema nimetatud teisendi põh-
jal ühise keskmise karüotüübi määramist, mis iseloomustab
uuritavat eesti populatsiooni terviklikumalt. Arvutati 50,
kromosoomide üldpikkuse alusel valitud, metafasesfiguuri
(26 var. acuminata metafaseasi + 24 var. europaea metafaseasi)
kromosoomide keskmine suhteline pikkus ja tsentromeeriin-
deks, mis koos statistiliste põhinäitajatega on esitatud
tabelis 10. Kromosoomide graafiline esitus langeb ühte
var. europaea idiogrammil (joon. 49) esitatuga. Karüotüü-
pi illustreerivad mikrofoto ühest metafasesfiguurist (joon.
50) ja sama metafaseasi põhjal koostatud karüogramm (joon.
51). Näitena toodud karüogramm ei ühti kromosoomide jär-
jestus 50 metafasesfiguuri keskmisega, s.t. idiogrammiga,
kuivõrd kromosoomide pikkusjärjestus võib erinevate meta-
faseside karüogrammidel varieeruda. Kromosoomide pikkusjär-
jestuse varieerumisest annab viie SAT-kromosoomi näitel
ülevaate tabel 11. Selgub, et pikkuselt võrdlemisi ühetas-
liste kromosoomide grupi (paarid II - VIII) piires võib
teatud kromosoom erinevate metafaseside karüogrammidel seis-

Tabel 10

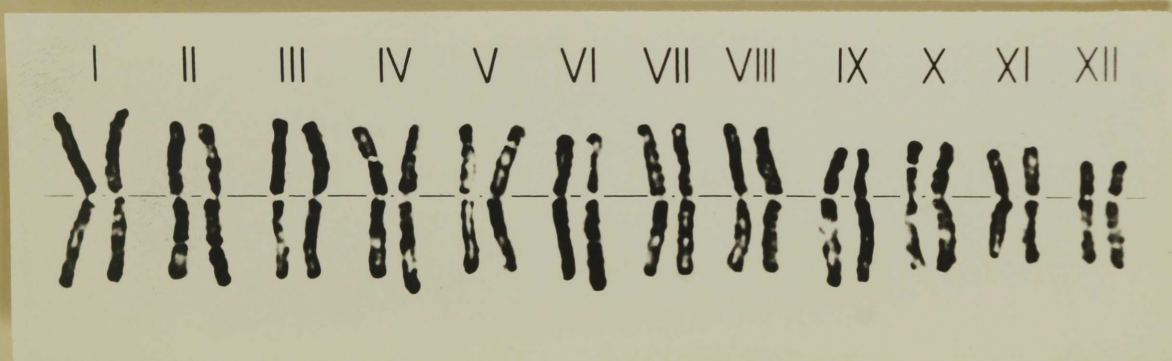
Hariliku kuuse (*Picea abies*) eesti populatsiooni (var. *acuminata* + var. *europaea*) kromosoomide suhteline pikkus ja tsentromeeriindeks

Kromosoomi järk. nr.	Suhteline pikkus			Tsentromeeriindeks		
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\pm S$	V (%)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\pm S$	V (%)
I	128,0 ± 0,7	4,82	3,8	1,06 ± 0,01	0,045	4,2
II	112,7 ± 0,5**	3,32	2,9	1,09 ± 0,01**	0,056	5,1
III	110,2 ± 0,6*	4,07	3,7	1,17 ± 0,01*	0,071	6,1
IV	105,7 ± 0,6***	4,06	3,8	1,10 ± 0,01***	0,063	5,7
V						
VI	104,9 ± 0,5	6,08	5,8	1,09 ± 0,01	0,069	6,4
VII						
VIII	103,6 ± 0,5**	3,24	3,1	1,33 ± 0,01**	0,078	5,9
IX	91,8 ± 0,5	3,70	4,0	1,77 ± 0,02	0,116	6,6
X	86,0 ± 0,5*	3,22	3,7	1,49 ± 0,01*	0,106	7,1
XI	78,3 ± 0,5	3,56	4,5	1,27 ± 0,01	0,087	6,8
XII	69,5 ± 0,4	2,89	4,2	2,08 ± 0,02	0,156	7,5

* SAT - kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal õlal
 ** SAT - kromosoom " " pikemal õlal
 *** SAT - kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal õlal



Joon. 50. Üks metafaasfigure Picea abies'i eesti populatsiooni karüoanalüüsil (x 2300).



Joon. 51. Karüogramm joon. 50 esitatud metafaasi alusel (x 1700).

Tabel 41

Picea abies'i cesti populatsiooni SAU-kromosoomide pikusjärjestuse
varieerumine erinevatel karüogrammidel

Jrk. nr. idiogrammil	Kromosoomi tegelik jrk. nr. erinevatel karüogrammidel	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
\bar{T} sentro- meeriindeks											
II -	1,09	42	38	14	4	2					
III -	1,17	18	32	30	10	8	2				
IV -	1,10	2	14	18	16	32	8	10			
VIII -	1,53		2	10	20	22	24	22			
X -	1,49								10	88	2

Esinemissagedus erinevatel kohtadel %-des

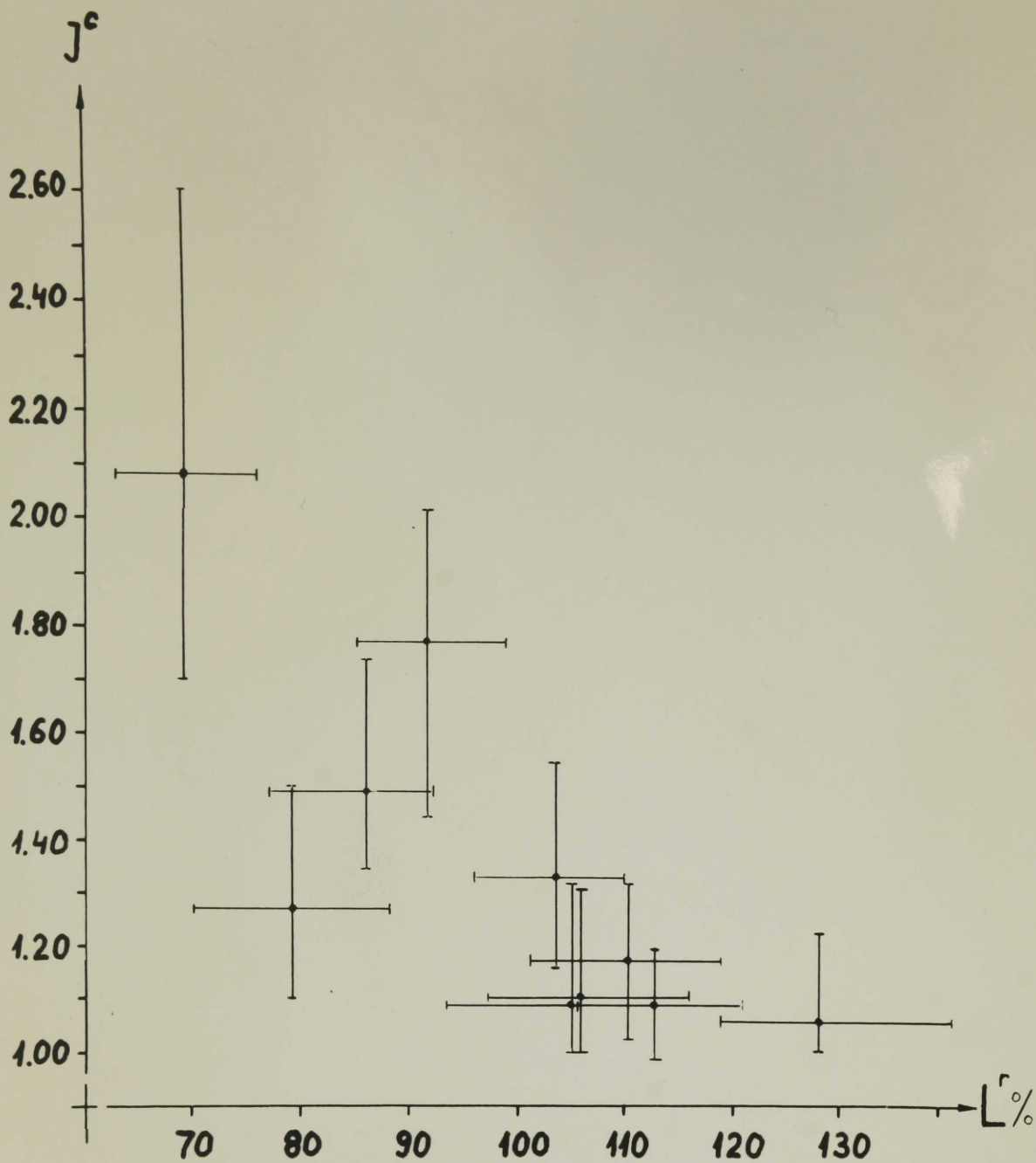
ta ükskõik millisel kohal alates teisest kuni kaheksanda-
ni. Kirjeldatud varieerumine iseloomustab näiteks kromosoo-
mi, mis idiogrammil asub neljandal kohal.

Kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi
arvuliste väärtuste maksimaalset varieerumist erinevate
metafaasfiguuride piires illustreerib joon 52. Suhtelise
pikkuse varieerumine on kõige suurem pikimal (I) kromosoo-
mil ja kõige väiksem lühimal (XII) kromosoomil. Tsentromee-
riindeksi varieerumine osutub aga vastupidi suhtelise pik-
kuse varieerumisega kõige suuremaks just lühima kromosoomi
juures ja väiksemaks pikemate kromosoomide juures.

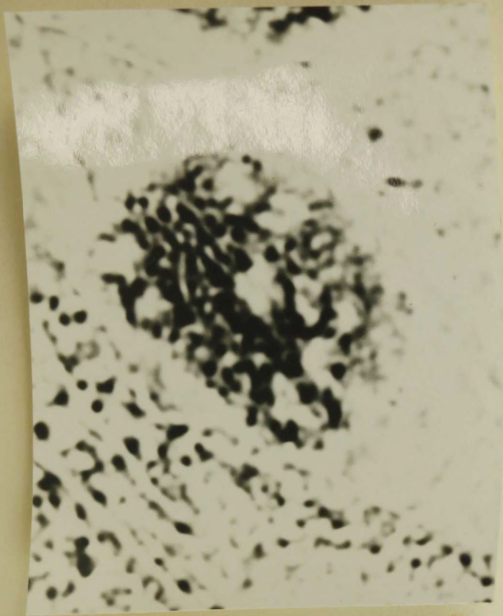
Karüogrammil (joon. 51) võib näha olulisi erinevusi
IV ja VI paari homoloogiliste kromosoomide pikkuses, mis
räägib kromosoomide asünkroonses kontraktsioonist.

Sekundaarsoonistega kromosoomidest võivad tõenäoselt
kõigi viie paari kromosoomid olla tuumakeste organisaato-
riks. Sellisele järeldusele annab alust tõsiasi, et mõne-
des interfaasi tuumades võib loendada 9 kuni 10 tuumakest
(joon. 53 ja 54), kuigi enamuses tuumades võib näha ainult
5 kuni 6 tuumakest (joon. 55). Viimast võib seletada mitme
tuumakese liitumisega, mis on üldtuntud nähtus tsütoloö-
gias. Näiteks hariliku männi (Pinus silvestris) tuumades
Önneatus A.T. Natarajanil et al. (1961) loendada korraga
8 kuni 9 tuumakest, enamasti aga vähem. Et Pinus silvest-
ris'e karüotüübis eristatakse viis paari SAT-kromosoomi,
viitavad autorid samuti tuumakeste liitumise võimalusele.

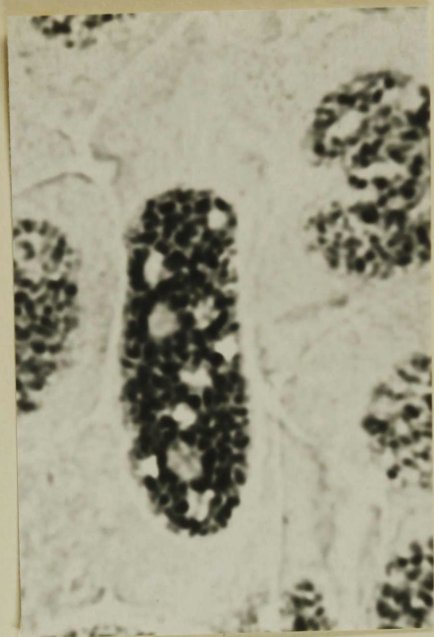
Uuritud materjalis võis näha ka rakke, mille tuumas
mõni tuumakestest paistis silma mitmekordselt suurema ma-
hu poolest (joon. 56). Niisugustele suurenenud mahuga tuu-



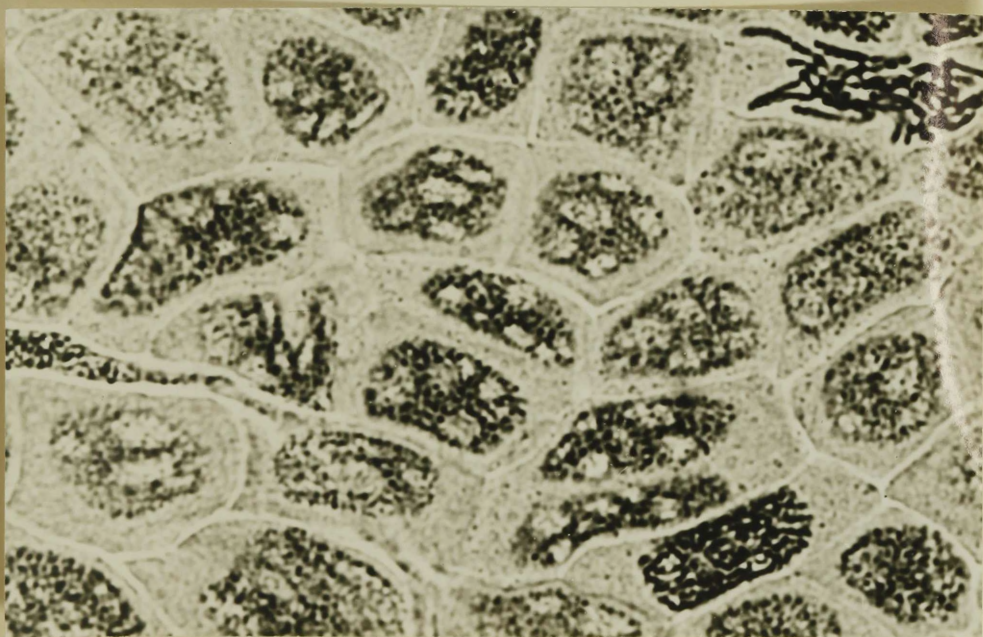
Joon. 52. Kromosoomide suhtelise pikkuse (L^r) ja tsentromeeriindeksi (J^c) maksimaalne varieerumine Picea abies'i eesti populatsiooni karüoanalüüsil.



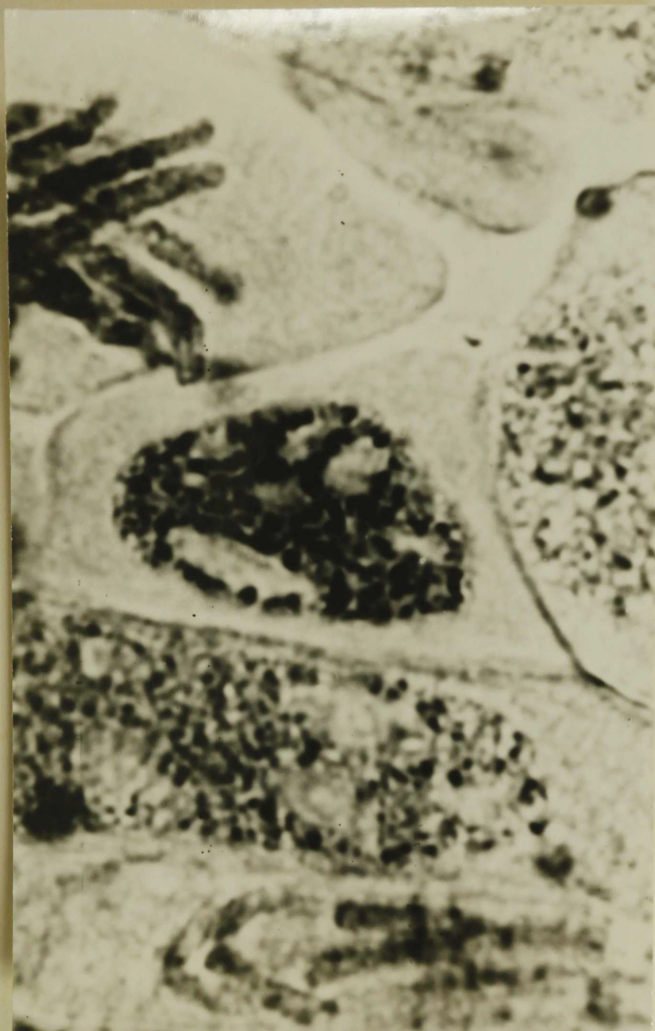
Joon. 53.
9 tuumakest raku-
tuumas (x 1800).



Joon. 54.
10 tuumakest raku-
tuumas (x 1800).



Joon. 55. Keskmiselt 5-6 tuumakest rakutuumades
(x 800).



Joon. 56. Erineva suurusega tuumakesed
rakutuumas (x 2600).

akestele võib vaadata ka kui ühele tuumakeste liitumist tõendavale faktile.

Tuumakeste liitumise nähtust tuntakse ka loomsetes rakkudes: Näiteks inimese rakutuumas ei ilmne mainitud põhjusel kunagi kõik 10 tuumakest, kuigi karütüübis on C.P. Swansoni andmetel 5 paari tüüpiliste satelliitidega kromosoom (Суонсон и др., 1969).

Bestist pärineva populatsiooni uurimistulemuste alusel võib hariliku kuuse kromosoomid jaotada pikkuse järgi tinglikult kolme rühma:

- 1) Pikad kromosoomid: I paar (keskmine suhteline pikkus 128,0), mille kromosoomid on metafasis teistest märgatavalt pikemad ning seetõttu ka kergesti eristatavad,
- 2) keskmise suurusega kromosoomid: II kuni VIII paar (keskmine suhteline pikkus vastavalt 112,7 ... 103,6), mis pikkuse järgi moodustavad võrdlemisi ühetaolise grupi ja mille pikkusjärjestuse varieerumine jääb samuti grupi piiresse, s.t. , et teatud kromosoom võib erinevate metafaside karüogrammidel asetseda ükskõik millisel kohal alates teisest kuni kaheksandani;
- 3) lühikesed kromosoomid: IX kuni XII paar (keskmine suhteline pikkus vastavalt 91,8 ... 69,5), mis suhteliselt kergesti eristuvad keskmiste kromosoomide grupist ja mille pikkusjärjestuse varieerumine jääb samuti grupi piiresse.

Võttes aluseks hariliku kuuse kromosoomide jaotamise pikkadeks, keskmisteks ja lühikesteks ning nende morfoloogilised iseärasused võib Picea abies'i karütüüpi eesti populatsiooni karüoanalüüsi andmetel väljendada järgmise

valemi abil:

$$2n = 24 = 2 \left[P_m + 4K_m^s + 3K_m + L_m^s + L_m + 2L_{sm} \right].$$

milles: P - pikk kromosoom

K - keskmise pikkusega kromosoom

L - lühike kromosoom

indeks s tähistab sekundaarsoonise olemasolu,

" m näitab tsentromeeri mediaanset asetust, ning

" sm näitab tsentromeeri submediaanset asetust.

e) Picea abies var. fennica (Picea fennica)

karüoanalüüs

Soomest varuti uurimismaterjal hariliku kuuse teisen-
di var. fennica karüoanalüüsiks, mida testavasti sageli
peetakse ka omäette liigiks - Picea fennica Reg. Var. fennica
karüoanalüüsiks joonistati 64 metafaasfiguuri. Nende
järgi mõõdeti kõik kromosoomid ning arvutati kromosoomide
üldpikkus igal metafaasil. Erinevate metafaaside kromosoo-
mide üldpikkus varieerus 227 kuni 331 mikromeetrini. Var.
fennica erineva kontraktsioonistmega metafaaside (hinna-
tuna kromosoomide üldpikkuse $\Sigma 1$ järgi) variatsioonikõver
on esitatud joon. 45. Kromosoomide keskmiste morfoloogilis-
te näitajate arvutamiseks valiti 64 metafaasi seast 31,
mille üksikute metafaasfiguuride kromosoomide üldpikkus
jäi vahemikku 251 kuni 275 mikromeetri. Kromosoomide suh-
telise pikkuse ja tsentromeeriindeksi aritmeetilised kesk-
mised koos statistiliste põhinäitajatega on esitatud tabe-
lis 12. Arvutustulemuste põhjal koostati var. fennica idio-
gramm (joon. 57). Illustreerivalt on joon. 58 esitatud
mikrofoto ühest metafaasfiguurist ja sama metafaasi põhjal
koostatud karüogramm (joon. 59). Näiteks esitatud metafaas-
figuuri karüogrammil ei ühti kromosoomipaaride järjestus
(reastatud pikkuse alanemise alusel) var. fennica karüoana-

Tabel 12

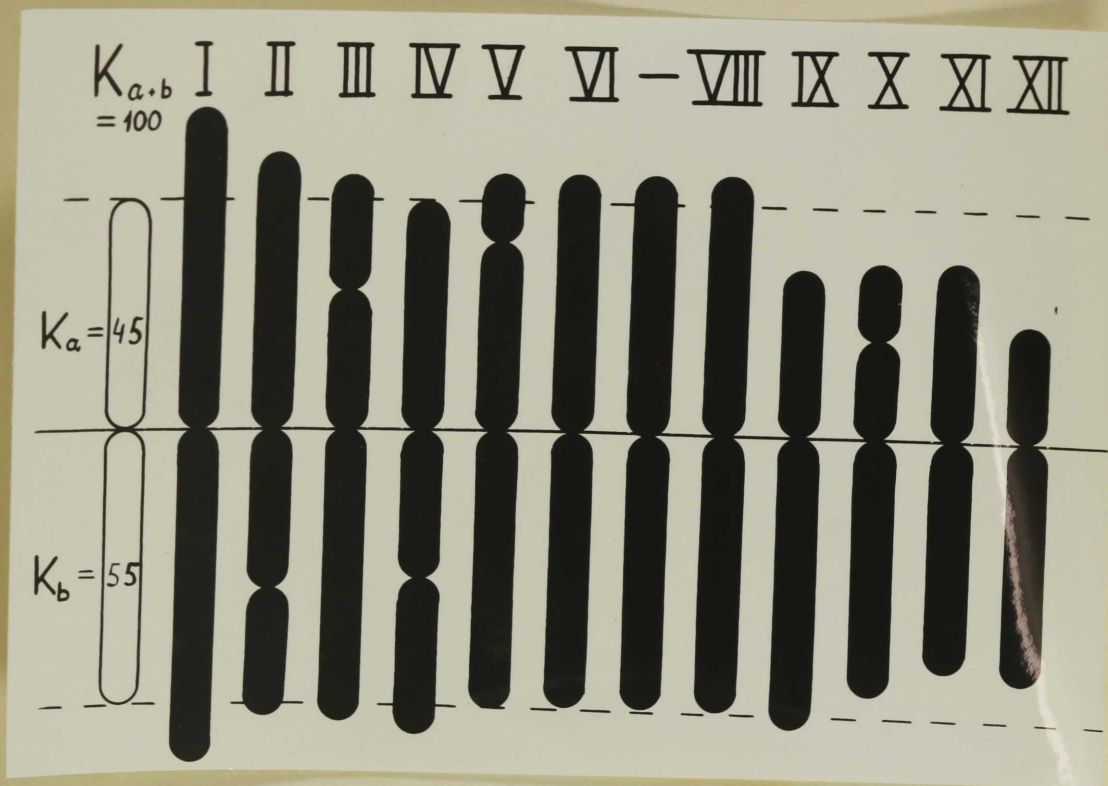
Picea abies var. *fennica* kromosoomide suhteline pikkus ja tsentromeerindeks

Kromosoomi jrk. nr.	Suhteline pikkus		Tsentromeerindeks	
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\pm S$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\pm S$
I	129,4 ± 0,7	4,12	1,07 ± 0,01	0,032
II	111,6 ± 0,6**	3,34	1,06 ± 0,01**	0,034
III	108,2 ± 0,8*	4,30	1,17 ± 0,01*	0,059
IV	105,2 ± 0,7**	4,02	1,34 ± 0,01**	0,075
V	105,1 ± 0,7***	3,76	1,09 ± 0,01***	0,051
VI				
VII	105,0 ± 0,6	5,52	1,08 ± 0,01	0,057
VIII				
IX	90,5 ± 0,6	3,57	1,76 ± 0,02	0,089
X	85,2 ± 0,5*	2,90	1,47 ± 0,02*	0,083
XI	80,5 ± 0,6	3,30	1,31 ± 0,01	0,060
XII	70,0 ± 0,4	2,49	2,09 ± 0,03	0,157
				V (%)
				3,0
				3,2
				5,0
				5,6
				4,7
				5,3
				5,1
				5,7
				4,6
				7,5

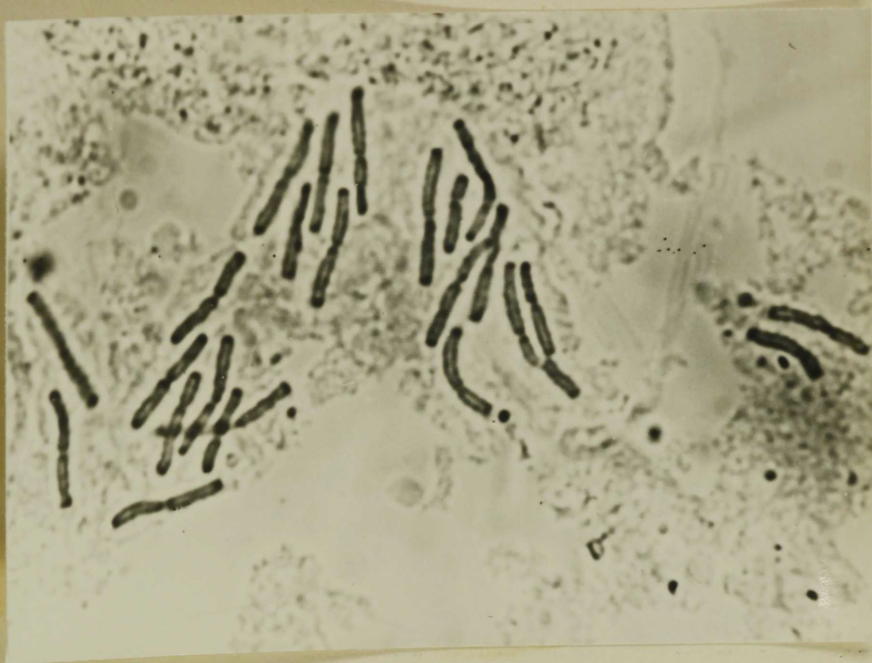
* SAT-kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal õlal

** SAT-kromosoom " pikemal õlal

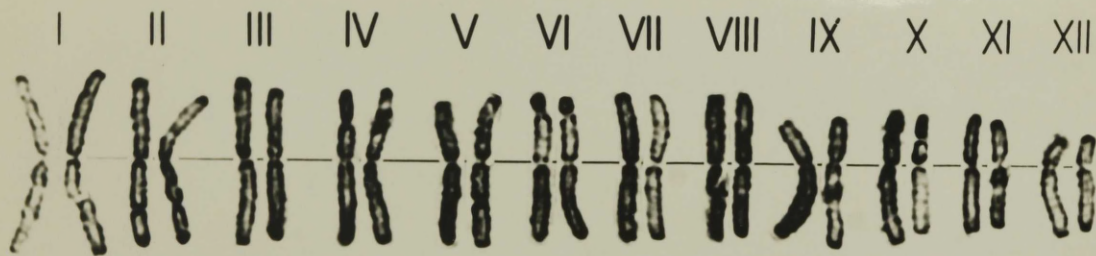
*** SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal õlal



Joon. 57. Picea abies var. fennica idiogramm.



Joon. 58. Üks metafasafigure Picea abies var.
fennica karüoanalüüsil (x 1450).



Joon. 59. Karüogramm joon. 58 esitatud metafasi põh-
jal (x 1800).

lülisi keskmiste tulemustega, s.o. idiogrammil esitatuga.

Kromosoomide pikkusjärjestuse varieerumisest erinevate metafasaaside kariogrammidel saab viie SAT-kromosoomi näitel ülevaate tabelist 13. Kriiti suur varieerumine ilmneb keskmise suurusega kromosoomide grupis (teisest kuni kaheksanda kohani), nagu selgus ka Bestist varutud materjali uurimisel.

Var. fennica karioteanalüüsil määratud kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi arvuliste väärtuste maksimaalsest varieerumisest annab graafilises vormis ülevaate joon. 60. Ilmneb samuti küllaltki suur varieerumine, sarnaselt Bestist pärineva populatsiooni kromosoomidele.

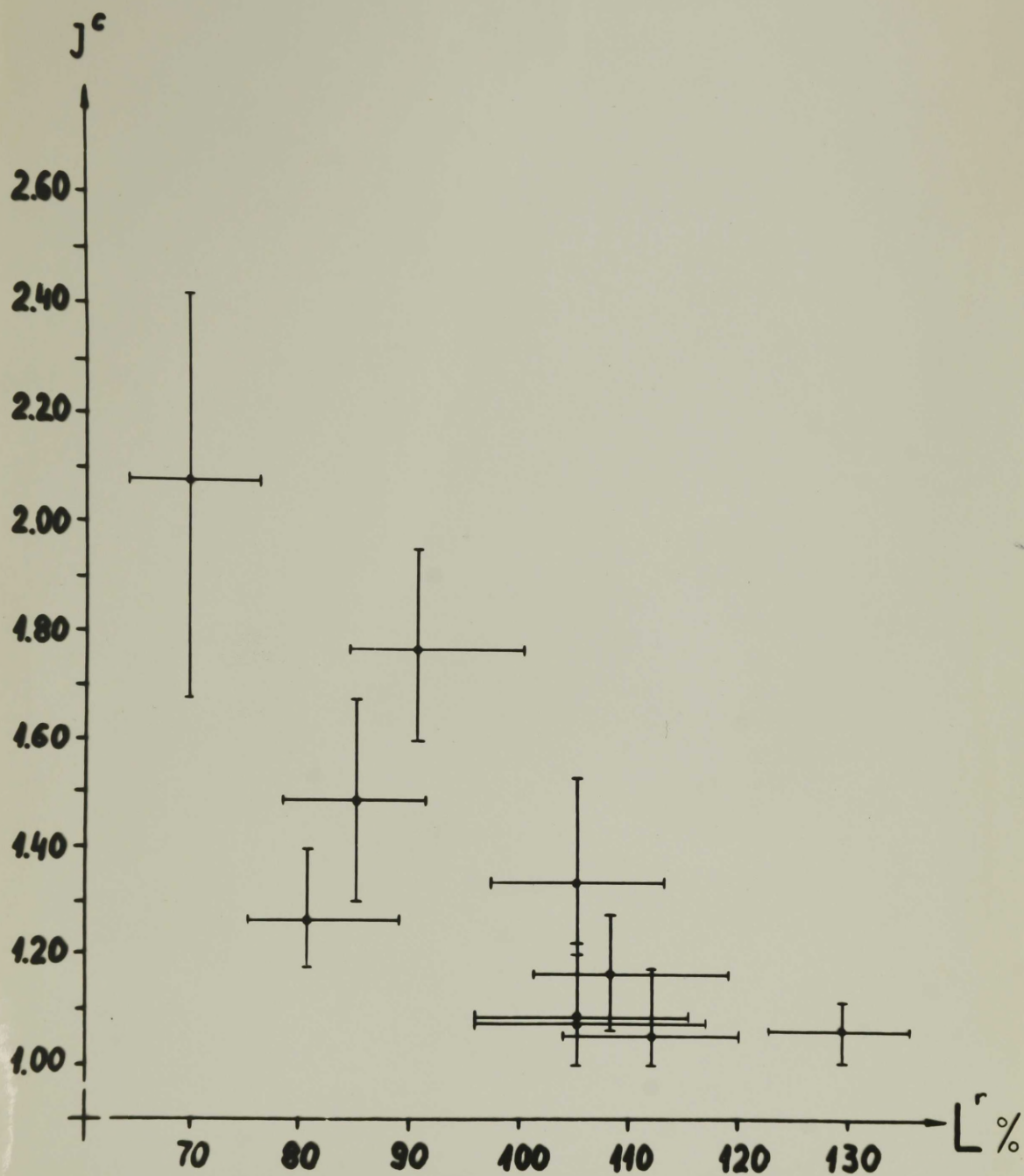
Nagu juba nimetatud ja näha idiogrammilt (joon. 57) ning tabelist 12, määrati var. fennica kariotüübis samuti 5 SAT-kromosoomi nagu eesti populatsiooni karioteanalüüsilgi. Andmed SAT-kromosoomide lineaarsete satelliitide keskmise suuruse kohta on esitatud tabelis 6. Ka tuumakesi loendati interfasei tuumades enamasti 5 - 6 ja ainult üksikute rakude tuumades osutus võimalikuks loendada lo tuumakest.

Võrreldes var. fennica kariotüüpi Bestist pärineva hariliku kuuse populatsiooni (var. scuminata + var. europaea) kariotüübiga (tabel 14) ilmneb nende suur sarnasus. Kuigi pikkuse alanemise alusel järjestatult osutub kromosoomide järjestus erinevaks, ei ulatu kahe nimetatud kariotüübi vastavate kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi erinevused ühelgi juhul 99,9 %-lise tõenäosuse tasemeni jäädes seega autori arvates ebaoluliseks. Knaumuse kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi

Tabel 13

Picea abies var. *fennica* SAT-kromosoomide pikkusjärjestuse varieerumine
erinevatel karuogrammidel

Jrk. nr. idiogrammil	Tsentro- neerindeks	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
		Kromosoomi tegelik jrk. nr. erinevatel karuogrammidel									
		Esinemissagedus erinevatel kohtadel %des									
II	- 1,06	48	23	26	-	-	3				
III	- 1,17	16	19	23	23	10	9				
IV	- 1,34	6	3	13	29	19	23	7			
V	- 1,09	3	6	10	16	36	19	10			
X	- 1,47								10	71	19



Joon. 60. Kromosoomide suhtelise pikkuse (L^r) ja tsentromeeriindeksi (J^c) maksimaalne varieerumine Picea abies var. fennica karüoanalüüsil.

Tabel 14

Picea abies var. *fennica* ja *Estist* pärineva populatsioonid karjotüüpide võrdlus

Subteline piirkond		Populatsioon <i>Estist</i>		Tsentromeerilindeks		P. dif.
var. <i>fennica</i>	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Jrk. nr. idioformidid	var. <i>fennica</i>	Populatsioon <i>Estist</i>	
I	129,4 ± 0,7	128,0 ± 0,7	I	1,07 ± 0,01	1,06 ± 0,01	> 0,05
II	111,6 ± 0,6**	112,7 ± 0,5**	II	1,06 ± 0,01**	1,09 ± 0,01**	< 0,05
III	108,2 ± 0,8*	110,2 ± 0,6*	III	1,17 ± 0,01*	1,17 ± 0,01*	> 0,05
IV	105,2 ± 0,7**	103,6 ± 0,5**	VIII	1,34 ± 0,01**	1,33 ± 0,01**	> 0,05
V	105,1 ± 0,7***	105,7 ± 0,6***	IV	1,09 ± 0,01***	1,10 ± 0,01***	> 0,05
VI			V			
VII	105,0 ± 0,6	104,9 ± 0,5	VI	1,08 ± 0,01	1,09 ± 0,01	> 0,05
VIII			VII			
IX	90,5 ± 0,6	91,8 ± 0,5	IX	1,76 ± 0,02	1,77 ± 0,02	> 0,05
X	85,2 ± 0,5*	86,0 ± 0,5*	X	1,47 ± 0,02*	1,49 ± 0,01*	> 0,05
XI	80,5 ± 0,6	78,3 ± 0,5	XI	1,31 ± 0,01	1,27 ± 0,01	< 0,05
XII	70,0 ± 0,4	69,5 ± 0,4	XII	2,09 ± 0,03	2,08 ± 0,02	> 0,05

* SAT-kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal äärel

** SAT-kromosoom " pikemal äärel

*** SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal äärel

erinevused ei küüni 95 %-lise tõenäosuse tasemeni ($P_{dif.} > 0,05$). Mõnevõrra märgatavamad erinevused ilmnevad vaid kromosoomide III ja XI suhtelise pikkuse osas ($P_{dif.}$ vastavalt $< 0,05$ ja $< 0,01$) ning kromosoomide II ja XI tsentromeeriindeksi osas ($P_{dif.} < 0,05$).

f) Hariliku kuuse Karpaatidest pärineva populatsiooni karüoanalüüs

Hariliku kuuse (Picea abies) Karpaatidest pärineva populatsiooni karüotüübi määramiseks joonistati 58 metafaasfiguuri ja mõõdeti nendel kõikide kromosoomide pikkus. Üksikute metafaaside kromosoomide üldpikkus varieerus vahemikus 187 kuni 310 mikromeetrit, seega ulatus erinevus metafaaside kromosoomide kontraktsiooniastmes peaaegu 1,7-kordselt. Erineva kontraktsiooniastmega metafaaside esinemissagedusest annab ülevaate joon. 45.

Uuritava populatsiooni kromosoomide keskmise suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi arvutamiseks valiti 33 metafaasfiguuri, mille kromosoomide kontraktsiooniaste varieerus tunduvalt vähem võrreldes kõigi 58 metafaasi kontraktsiooniastmega: üksikute metafaaside kromosoomide üldpikkus jäi vahemikku 245 kuni 274 mikromeetrit. Nende 33 metafaasfiguuri kromosoomide keskmise suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi arvutustulemused koos statistiliste põhinäitajatega on esitatud tabelis 15. Täiendavaid andmeid SAT-kromosoomide morfoloogiast (lineaarsete satelliitide keskmisest suurusest) võib näha tabelist 6.

Tabelis 15 esitatud arvutustulemuste põhjal koostatud idiogramm on näha joon. 61. Uuritud karüotüübi metafaasi

Tabel 15

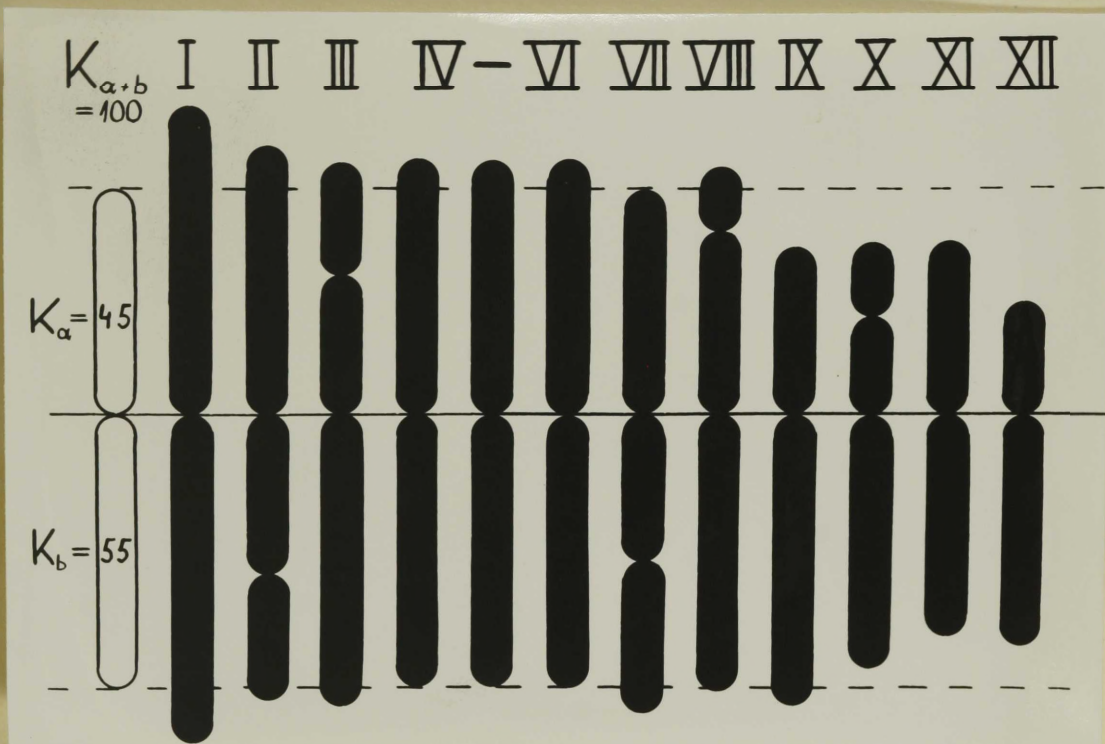
Harilikum kuuse (*Picea abies*) Karpaatidest pärineva populatsioonid kromosoomide suhteline pikkus ja tsentromeerindeks

Kromosoomid jrk. nr.	Suhteline pikkus			Tsentromeerindeks		
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\pm S$	V (%)	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\pm S$	V (%)
I	127,8 \pm 0,7	3,89	3,0	1,07 \pm 0,01	0,047	4,4
II	111,2 \pm 0,7**	3,76	3,4	1,08 \pm 0,01**	0,058	5,4
III	108,8 \pm 0,5*	2,94	2,7	1,17 \pm 0,01*	0,037	3,2
IV } V } VI }	105,9 \pm 0,6	5,58	5,3	1,08 \pm 0,01	0,055	5,2
VII	104,8 \pm 0,7**	3,96	3,8	1,34 \pm 0,01**	0,059	4,4
VIII	104,3 \pm 0,8***	4,60	4,4	1,13 \pm 0,01***	0,057	5,0
IX	94,8 \pm 0,6	3,68	4,0	1,76 \pm 0,02	0,091	5,2
X	85,5 \pm 0,6*	3,28	3,8	1,49 \pm 0,02*	0,089	6,0
XI	79,1 \pm 0,5	3,00	3,8	1,28 \pm 0,01	0,067	5,2
XII	69,0 \pm 0,3	1,92	2,8	2,09 \pm 0,02	0,129	6,2

* SAT-kromosoom linearse satelliidiga lühemal õlal

** SAT-kromosoom " pikemal õlal

*** SAT-kromosoom väikese linearse satelliidiga lühemal õlal

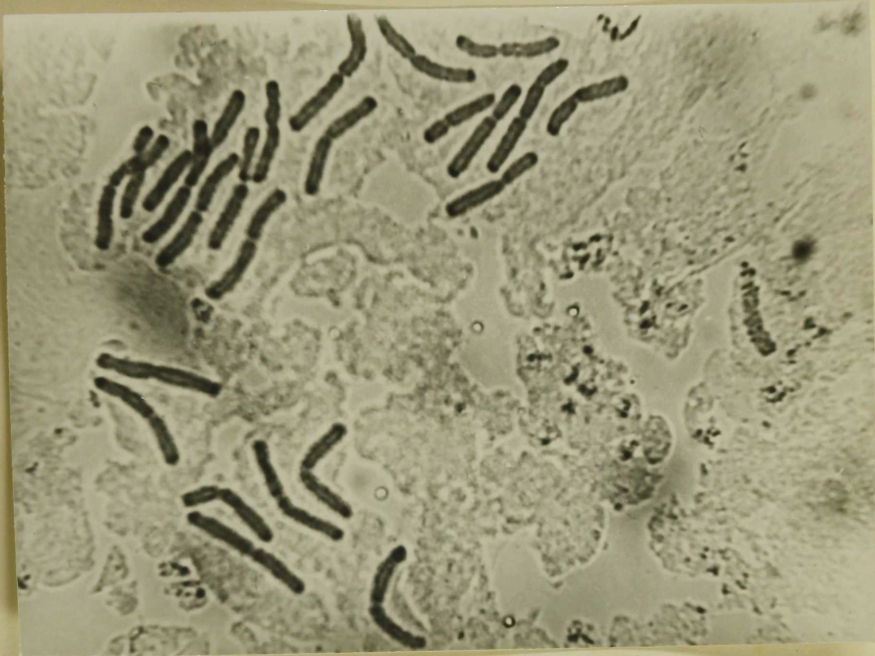


Joon. 61. Picea abies'i Karpaatidest pärineva populaatsiooni idiogramm.

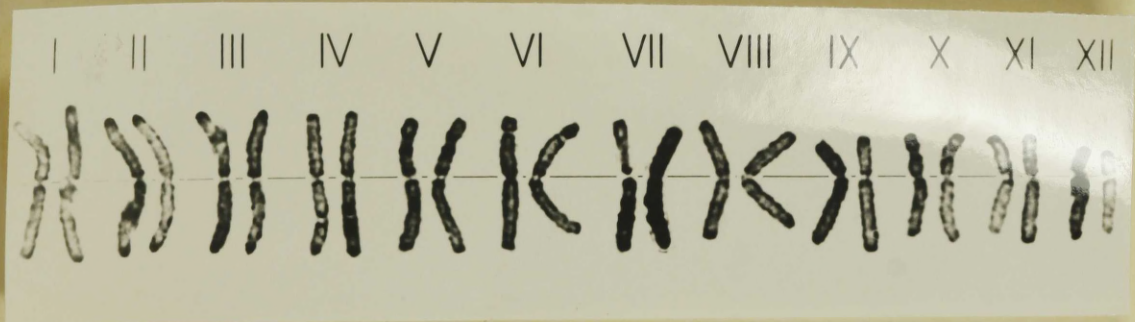
kromosoomidest ülevaate saamiseks on esitatud ka mikrofoto ühest metafasiist (joon. 62) ning sama metafasi alusel koostatud karüogramm (joon. 63).

Sarnaselt Eestist pärineva populatsiooni ja var. fennica karüotüübile on ka hariliku kuuse Karpaatidest pärineva populatsiooni karüotüübis 10 mediaanse ning 2 submediaanse tsentromeeriga kromosoomi, ka Karpaatidest pärineva populatsiooni karüotüübis eristati 5 paari SAT-kromosoomi. Viimaste võrdlus annab ülevaate kromosoomide pikkusjärjestuse suurest varieerumisest erinevate metafasiide karüogrammidel (tabel 16). Suur on ka iga üksiku kromosoomipaari suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi varieerumine erinevates metafasiides. Viimatinimetatud varieerumise maksimaalväärtustest annab graafilises vormis ülevaate joon. 64.

Kolme erineva karüotüübi (var. acuminata + var. europaea Eestist, var. fennica Soomest ning Karpaatidest pärineva populatsiooni) võrdlemisel (tabelid 17 ja 18) paistab silma nende üldine sarnasus. Võrreldes Karpaatidest pärineva populatsiooni karüotüüpi eesti populatsiooni karüotüübiga (tabel 17) selgub kromosoomide erinev järjestus idioogrammidel. Nimelt osutub pikkuse alanemise alusel järjestatult erinevaiks IV - VIII kohale asetuvate kromosoomide järjestus. Kirjeldatud erinevus seostub nimetatud paaride kromosoomide äärmiselt väikeste omavaheliste erinevustega pikkuses. Sama selgub ka Karpaatidest pärineva populatsiooni ja var. fennica karüotüüpide võrdlusest (tabel 18): IV - VIII kohal asetsevate kromosoomide järjestus on erinev. Kõigi nimetatud kolme karüotüübi vastavate kromosoomide



Joon. 62. Üks metafasisfiguure Picea abies'i
 Karpaatidest pärineva populatsiooni
 kariöanalüüsil (x 1400).

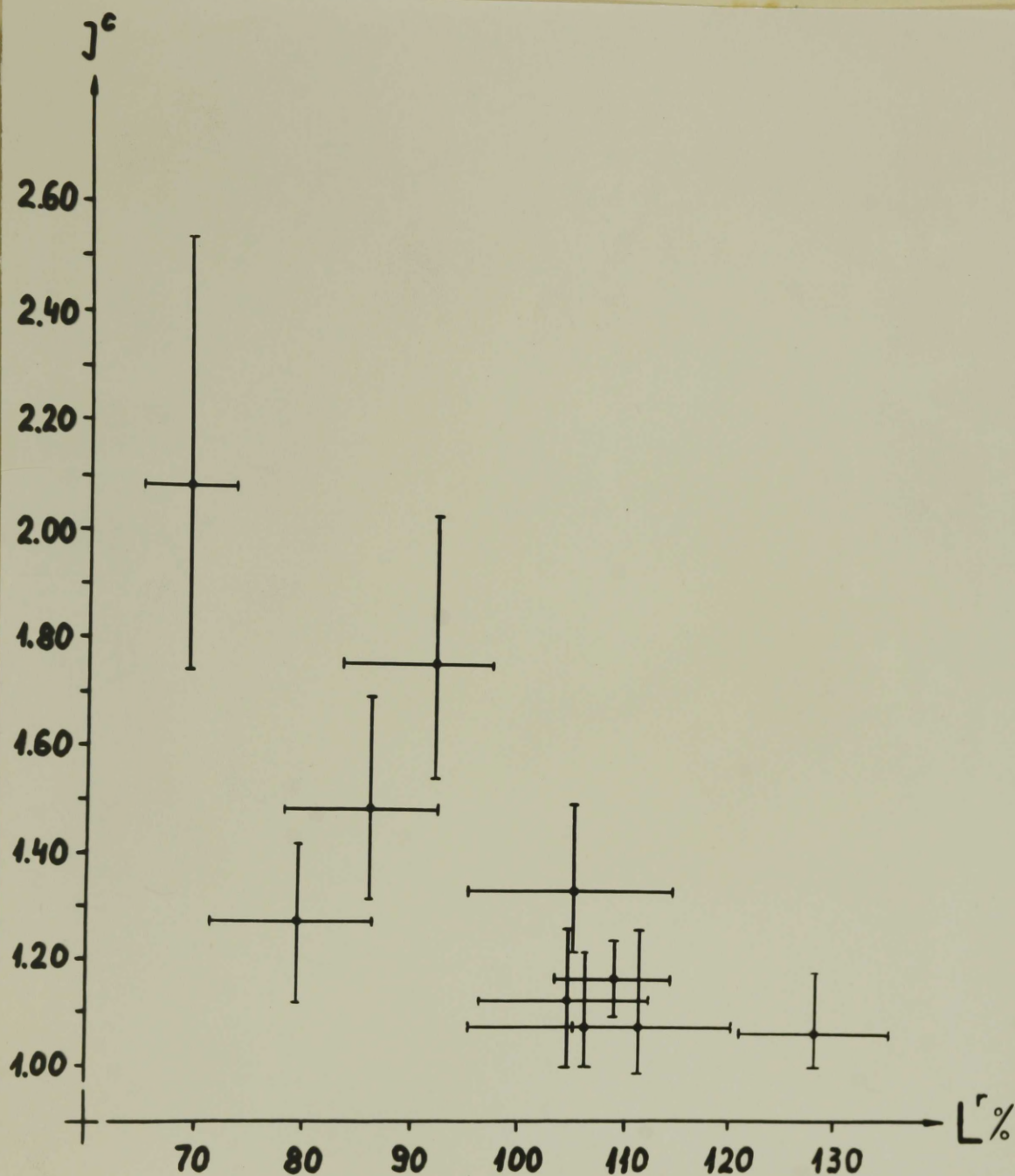


Joon. 63. Kariogramm joon. 62 esitatud metafasi põhjal
 (x 1500).

Tabel 16

Picea abies'i Karpaatidest pärineva populatsiooni SAT-kromosoomide
pikkusjärjestuse varieerumine erinevatel kariogrammidel

Jrk. nr. idogrammil	Tsentro- meerindeks	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
		Kromosoomi tegelik jrk. nr. erinevatel kariogrammidel										
		Esinemissagedus erinevatel kohtadel %-des										
II	-	39	34	15	6	6						
III	-	12	27	16	30	12	3					
VII	-	3	3	15	22	15	30	12				
VIII	-	3	9	9	12	30	19	18				
X	-	1,49							6	88	6	



Joon. 64. Kromosoomide suhtelise pikkuse (L^r) ja tsentromeeriindeksi (J^c) maksimaalne varieerumine Picea abies'i Karpaatidest pärineva populatsiooni karüoanalüüsil.

Tabel 17

Picea abies'i Karpaatidest ja Bestist pärinevate populatsioonide karuotüüpide võrdlus

Suhteline pikkus			Tsentroneeriindeks		
Populatsioon Karpaatidest		Populatsioon Bestist	Populatsioon Karpaatidest		Populatsioon Bestist
Jrk. nr. idioگرامmi	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Jrk. nr. idioagrammi	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	P. val.
I	127,8 ± 0,7	I	128,0 ± 0,7	1,06 ± 0,01	> 0,05
II	141,2 ± 0,7**	II	142,7 ± 0,5**	1,08 ± 0,01**	> 0,05
III	108,8 ± 0,5*	III	110,2 ± 0,6*	1,17 ± 0,01*	> 0,05
IV	105,9 ± 0,6	V	104,9 ± 0,5	1,08 ± 0,01	> 0,05
V		VI			
VI		VII			
VII	104,8 ± 0,7**	VIII	103,6 ± 0,5**	1,34 ± 0,01**	> 0,05
VIII	104,3 ± 0,8***	IV	105,7 ± 0,6***	1,13 ± 0,01***	> 0,05
IX	91,8 ± 0,6	IX	91,8 ± 0,5	1,76 ± 0,02	> 0,05
X	85,5 ± 0,6*	X	86,0 ± 0,5*	1,49 ± 0,02*	> 0,05
XI	79,1 ± 0,5	XI	78,3 ± 0,5	1,28 ± 0,01	> 0,05
XII	69,0 ± 0,3	XII	69,5 ± 0,4	2,09 ± 0,02	> 0,05

* SAT-kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal ölal

** SAT-kromosoom " pikemal ölal

*** SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal ölal

Tabel 18

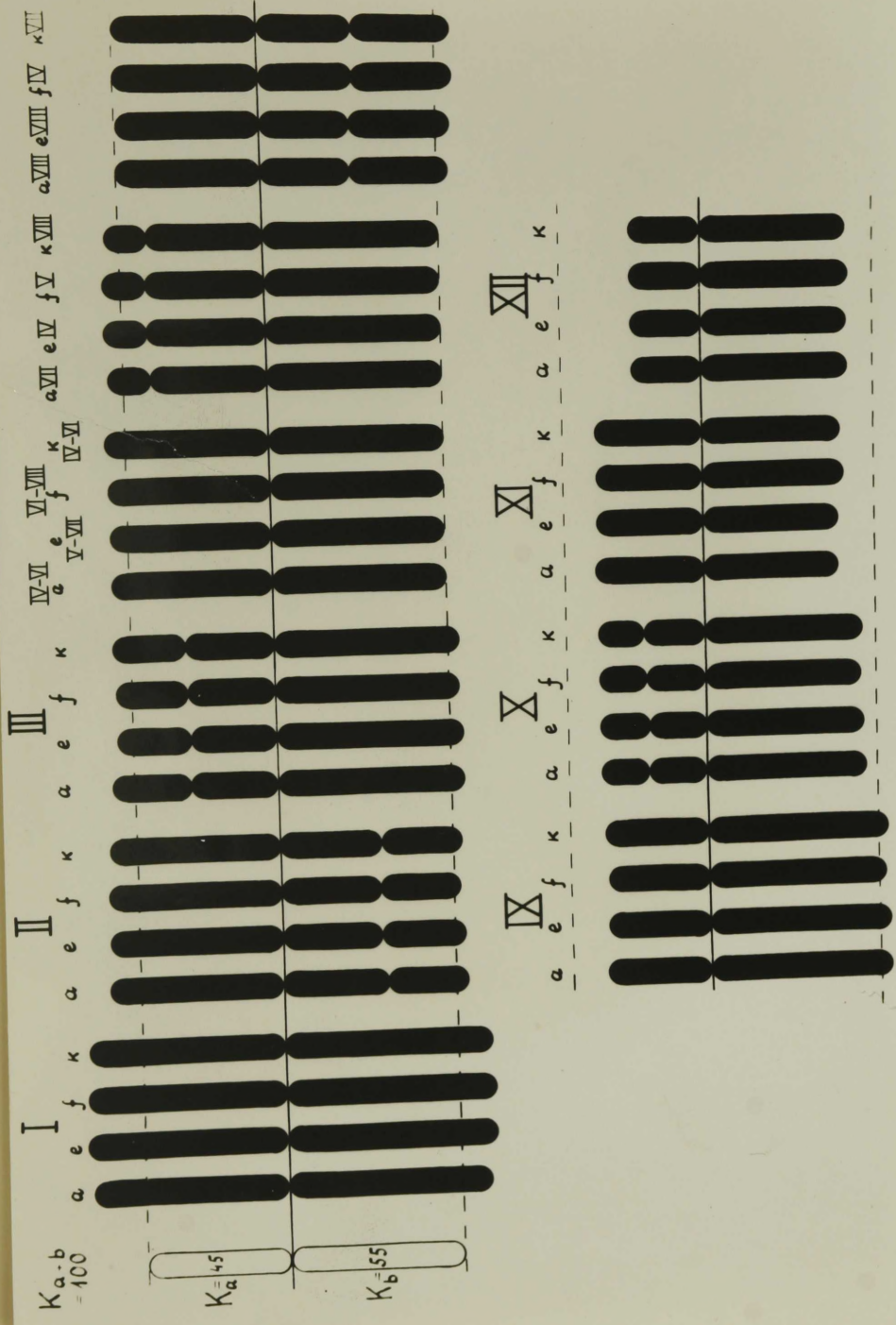
Picea abies'i Kerpeatidest pärineva populatsioonid ja var. feminea karuotupide võrdlus

Suhteline pikkus			Tsentroneerindeks		
Populatsioon Kerpeatidest			Populatsioon var. feminea Kerpeatidest		
Jrk. nr. idioformidid	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Jrk. nr. idioformidid	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Par.
I	127,8 ± 0,7	I	1,07 ± 0,01	1,07 ± 0,01	> 0,05
II	111,2 ± 0,7**	II	1,08 ± 0,01**	1,06 ± 0,01**	> 0,05
III	108,8 ± 0,5°	III	1,17 ± 0,01°	1,17 ± 0,01°	> 0,05
IV	105,9 ± 0,6	VI	1,08 ± 0,01	1,08 ± 0,01	> 0,05
V		VII			
VI	104,8 ± 0,7**	VIII	1,34 ± 0,01**	1,34 ± 0,01**	> 0,05
VII		IV			
VIII	104,3 ± 0,8***	V	1,13 ± 0,01***	1,09 ± 0,01***	< 0,01
IX	91,8 ± 0,6	IX	1,76 ± 0,02	1,76 ± 0,02	> 0,05
X	85,5 ± 0,6°	X	1,49 ± 0,02°	1,47 ± 0,02°	> 0,05
XI	79,1 ± 0,5	XI	1,28 ± 0,01	1,31 ± 0,01	> 0,05
XII	69,0 ± 0,3	XII	2,09 ± 0,02	2,09 ± 0,03	> 0,05

* SAT-kromosoom lineaarse satelliidiga lühemal õlal
 ** SAT-kromosoom " " pikemal õlal
 *** SAT-kromosoom väikese lineaarse satelliidiga lühemal õlal

suhtelise pikkuse erinevused osutuvad aga täiesti ebaoluliseks ($P_{\text{dif.}} > 0,05$). 99,9 %-lise tõenäosuse juures jäävad ebaolulisteks ka kõigi kolme karüotüübi kromosoomide omavahelised erinevused tsentromeeriindeksi osas. Enamuse kromosoomide tsentromeeriindeksi arvulised väärtused on kas võrdsed või minimaalselt erinevad ($P_{\text{dif.}} > 0,05$). Mõnevõrra märgatavamad on erinevused lühemal õlal asetseva väikese lineaarse satelliidiga SAT-kromosoomi (joonisel 61, s.o. Karpaatidest pärineva populatsiooni idiogrammil VIII kohal) tsentromeeriindeksi osas, mis aga siiski ei ulatu 99,9 %-lise tõenäosuse tasemeni, jäädes autori arvates seega samuti ebaolulisteks.

Nagu näitavad käesolevas peatükis kirjeldatud hariliku kuuse (Picea abies) karüoanalüüsi tulemused, osutuvad kõik uuritud karüotüübid (var. acuminata + var. europaea Eestist, var. fennica Soomest ning populatsiooni Karpaatidest) olulistes joontes sarnasteks. Võrdlevalt on kõigi uuritud karüotüüpide kromosoomid näha joon. 65.



Joon. 65. *Picea abies*'i erinevate liigiseste taksonoomiliste rühmituste kromosoomide võrdlusdiagramm: a - var. *acuminata* kromosoomid; e - var. *europaea* kromosoomid; f - var. *fennica* kromosoomid; k - Karpaatidest pärineva populatsiooni kromosoomid. Number näitab kromosoomide pikusjärjestust vastava karüotüübi idiogrammil.

IV KARÜOANALÜÜSI TULEMUSTE ARUTELU

Tutvudes varem avaldatud uurimistulemustega mitmete okaspuuliikide karüoanalüüsi kohta peab tunnistama, et eriti vasturääkivad on tulemused, mis iseloomustavad okaspuude karüotüübi liigisisest varieerumist (Simak, 1962; Saylor, 1964; Burley, 1965; Tarnavschi, Ciobanu, 1965; ~~НИКОЛАШВИЛИ~~, 1968; Орленко, 1970; ~~НИКОЛАШВИЛИ~~, 1971 jt.). Teatavasti oli käesoleva uurimuse põhiliseks eesmärgiks nimetatud küsimuse lahendamisele kaasa aidata hariliku kuuse liigisisese karüoloogilise uurimise abil. Kirjeldatai ja võrreldi omavahel var. acuminata, var. europaea ja var. fennica karüotüüpe ning Karpaatidest pärineva populatsiooni karüotüüpi. Põhilisteks näitajateks eri karüotüüpide võrdlemisel olid erinevate metafasaasfiguuride kromosoomide üldpikkus (Σl), metafasaasi kromosoomide aritmeetilise keskmise e. nn. "standardkromosoomi" parameetrid, kromosoomide suhteline pikkus (L^x) ja tsentromeeriindeks (I^c) ning SAT-kromosoomide arv ja ehitus (satelliitide suurus).

Vandeldes lähemalt metafasaasi k r o m o s o o m i - d e ü l d p i k k u s e alusel valitud erineva kontraktiooniastmega metafasaaside esinemise sageduskõveraid (joon. 45) võib näha, et ligilähedaselt "jälgivad" kõverad üksteist. Ka amplituudi maksimumid langevad üksikute vormide

korral graafikul ühte ja samasse vahemikku. Seetõttu oli võimalik valida iga vormi (või populatsioon) kromosoomide detailseks uurimiseks ja kariotüübi iseloomustamiseks ligilähedaselt ühtlase kontraktsiooniastmega metafasaasfigure. Kõigi lõplikuks analüüsiks valitud metafasaasfigure kromosoomide üldpikkus jäi vahemikku 245 kuni 275 mikromeetrit. Kui võrd erineva kontraktsiooniastmega metafasaaside joonistamine kariöanalüüsiks toimus kõigi uuritud vormide osas täiesti juhusliku valiku meetodil, siis viitab kirjeldatud sageduskõverate sarnasus juba erinevate vormide kariöanalüüsi lähteandmete üldisele sarnasusele.

Hariliku kuuse erinevate vormide (või geograafiliselt erinevate populatsioonide) kariotüüpide sarnasust kinnitab ka fakt, et kõigi kirjeldatud kariotüüpide korral jäi üksikute metafasaasfigure nn. " s t a n d a r d - k r o m o s o o m " morfoloogiliselt muutumatuks. Nimetatud "standardkromosoomi" lühem õlg moodustas kõikide uuritud kariotüüpide korral ca 45 osa ja pikem õlg siis vastavalt 55 osa "standardkromosoomi" kogupikkusest, mis võeti iga üksiku metafasaasi kromosoomide suhtelise pikkuse arvutamisel alati võrdseks loo pikkusühikuga ($K_2 + b = 100$). Täpsemalt moodustas "standardkromosoomi" lühema õla pikkus (K_2) var. acuminata kariotüübis $44,7 \pm 0,1$ osa, kusjuures 26 erineval metafasaasfiguuril olid nimetatud suuruse piirväärtused (varieerumine) 43,6 ja 45,8 osa. Var. europaea kariotüübis olid vastavad suurused $44,8 \pm 0,1$ (43,5 - 45,5); var. fennica kariotüübis $44,9 \pm 0,1$ (44,0 - 45,4) ning Karpaatidest pärineva populatsiooni kariotüübis $44,7 \pm 0,1$ (43,8 - 45,5). Uuritud kariotüüpide "standard-

kromosoomide" erinevus osutub seega ebaoluliseks ($P_{\text{dif.}} > 0,05$).

Teatavasti osutusid erinevate karüotüüpide kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi erinevused enamuse kromosoomide juures samuti täiesti ebaolulisteks ($P_{\text{dif.}} > 0,05$). Ainult üksikutel juhtudel ületasid mainitud erinevused 95 %-lise või 99 %-lise tõenäosuse taseme. Tuleb aga silmas pidada, et käesoleva töö autori arvates peeti ainult 99,9 %-list tõenäosuse taset piisavaks küllaldase kindlusega väitmiseks, et hariliku kuuse karüoanalüüsil täheldatud kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi erinevused kajastavad tõepäraselt tegelikke erinevusi karüotüübis. Teatavasti võeti nimetatud kaalutluse aluseks tõsiasi, et käesolevas töös kirjeldatud karüoanalüüsi meetodiga kaanevad vältimatult mitmed olulised vead (teatud kromosoomide äravahetamine nende erineva järjestuse tõttu eri metafasaasfiguuride karüogrammidel, kromosoomi õlgade äravahetamine metatsentrilistel kromosoomidel). Nimetatud vigade suhteliselt suur esinemisvõimalus vähendabki oluliselt usaldust 95 %-lise ning isegi 99 %-lise tõenäosusega ilmnevate kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi erinevuste suhtes. 99,9 %-lise tõenäosusega erinevuste puudumise tõttu hinnati seega kõigi uuritud hariliku kuuse vormide (või populatsioonide) karüotüübid sarnasteks.

Peab märkima, et kogu maailmas on tsütogenetikud pidevalt otsinud usaldusväärsemaid ja lihtsamaid meetodeid karüoanalüüsiks, mis võimaldaksid üksikute kromosoomipaari eristamist ka juhul, kui karüotüübis on mitu võrdse pikkusega ja sarnase morfoloogiaga kromosoomipaari. Viima-

sel ajal on neis otsingutes ka teatavat edu saavutatud, näiteks niisuguste kromosoomipaaride eristamisel inimese karüotüübis, mille individuaalsuse kindlakstegemine tavalist meetoditega on eelnimetatud põhjusel võimatu (Dutrillaux, Lejeune, 1971).

Üks raskemini selgitatavaid küsimusi hariliku kuuse karüoanalüüsil on SAT-kromosoomide arvu kindlakstegemine. Nagu märgitud, eristati kõigis uuritud karüotüüpides 5 paari SAT-kromosoomi, kuigi ühe ja sama metafaasi kromosoomidel õnnestus harva kahtluseta eristada kõigi 10 sekundaarsoonise asukohta. Analoogilistele raskustele sekundaarsooniste eristamisel on viidanud ka mitmed teised okaspuude karüoanalüüsiga tegelnud autorid (Saylor, 1961; Morgenstern, 1962; Simak, 1962; Yim, 1963; Saylor, 1964; Burley, 1965; Funabiki, Seido, 1967; Pederrick, 1967; Thomas, Ching, 1968; Saylor, Simons, 1970). Kirjeldatud nähtuse põhjusi tuleb ilmselt otsida kromosoomide asünkroonses kontraktsioonist ning sellest tingitud erinevustest homoloogiliste kromosoomide pikkuses ja ehituses. Homoloogiliste kromosoomide fenotüübilist varieerumist võib kõige selgemalt täheldada just SAT-kromosoomide juures, nagu seda märgivad ka mitmed autorid (Brat, 1964; Павулсоне и др., 1970; Иорданский и др., 1971 jt.). SAT-kromosoomide juures võib nimetatud varieerumine avalduda kas satelliidi erinevas suuruses või sekundaarsoonise akromaatilise piirkonna erinevas laiuses. Sekundaarsoonise laiuse varieerumine võib sageli olla nii äärmuslik, et ühel homoloogilistest kromosoomidest võib soonia täielikult puududa kui võrd satelliit on täielikult liitunud kromosoomi

õlaga. Samal ajal võib aga teisel homologilisel kromosoomil satelliit ilmuda laia ja selgepiirilise akromaatilise piirkonnana. Tõenäoselt tuleb ka käesolevas töös seletada satelliidi ja kromosoomi õla täieliku liitumisega asjaolu, et enamuses metafasises võis kahtluseta eristada vaid 6 - 8 sekundaarsoonist.

Korduvalt on viidatud homologiliste kromosoomide erinevale pikkusele (Bhattacharyya, Jenkins, 1960; Giorgi, 1965; Malik, 1966; Kawano et al., 1967; Mesiček, 1967; Lewis, Suda, 1968; Rajhathy, 1969; Strid, 1969; Fernandez, 1970; Ising, 1970; Rychlewski, 1970). Käesolevas töös võis seda selgesti näha IV ja VI kromosoomi juures (joon. 50). Sama nähtus avaldub üsnagi kontrastselt ka inimese karütüübi uurimisel (Прокофьева-Бельгровская и Гинцилис, 1965).

Sekundaarsooniste kindlakstegemist hariliku kuuse karüoanalüüsil komplitseerib veel tõsiasi, et analoogiliselt kromosoomide pikkuse ja tsentromeetriindeksi varieerumisele erinevais rakkudes varieerub ka sekundaarsoonise asukoht SAT-kromosoomil ning seega ühtlasi lineaarse satelliidi suurus. Erinevate karütüüpide lineaarsete satelliitide keskmine suurus on esitatud tabelis 6. Samas on satelliitide suuruse varieerumise näitajana toodud variatsioonikoefitsient (V), mille väärtus maksimaalselt ulatus ühe SAT-kromosoomi juures isegi 25,2 %-ni (var. acuminata karütüübis). Erinevate karütüüpide SAT-kromosoomide satelliitide suuruse aritmeetiliste keskmiste erinevusi hinnati aga ebaolulisteks kuivõrd ühelgi juhul ei ületanud erinevused 99,9 %-lise tõenäosuse taset. Erinevuste oluli-

suse hindamisel lähtuti samadest põhimõtetest nagu kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeriindeksi erinevuste hindamiselgi. Kirjeldatud erinevuste ebaolulisus viitab veel kord analüüsitud karütüüpide sisulisele sarnasusele. Hariliku kuuse liigisiseste taksonoomiliste rühmituste fenotüübilised erinevused ei kajastu kindlalt eristatavate iseärasustena kromosoomide morfoloogias. Sellega ei tahta väita, et puudub igasugune liigisisene genotüübiline varieerumine, vaid märkida tõsisaja, et nende kindlakstelemiseks ei piisa seni kasutatud karüoanalüüsi meetoditest. Liigisisene genotüübiline varieerumine on näiteks kinnitust leidnud tsütometriliste ja tsütokeemiliste uuringute järgi, mille aluseks on rakusisese DNA hulga määramine. Okaspuude kohta on vastavaid uurimusi teinud Kanada teadlane J.P. Micksche (1968; 1971). Micksche uuris nimetatud meetoditega DNA hulga varieerumist Kanada kuuse (Picea glauca) ja halli männi (Pinus banksiana) rakkudes (Micksche, 1968). Picea glauca uurimiseks kasutas Micksche seemet 17 ja Pinus banksiana uurimiseks üheksast geograafiliselt erinevast piirkonnast vastava liigi levila ulatusest. Autor avastas mainitud liikide erinevate ja geograafiliselt kaugete populatsioonide uurimisel olulisi erinevusi rakusiseses DNA hulgas. Micksche märgib kirjeldatud nähtuse võimalike põhjustena polüteeniati või duplikatsioonideletsiooniprotsesse. Duplikatsioonidega või deletsioonidega peaksid aga enamasti kaasnema ka tsütoloogiliselt märgatavad muutused kromosoomide suuruses.

DNA hulga liigisisese varieerumise üle on püütud otsustada ka rakkude tuumade mahu mõõtmise teel. On märgitud, et tuuma mahu muutused ühe ja sama liigi või lähe-

daste liikide piires võivad otseselt seostuda geograafilise laiuskraadiga (Stebbins, 1964; Burley, 1965; Stebbins, 1966; Mergen, Thielges, 1967).

Sitka kuuse (Picea sitchensis) uurimisel leidis J. Burley (1965), et rakkude tuuma maht suurenes oluliselt koos laiuskraadi suurenemisega, kust varuti materjal karüoloogiliseks uurimiseks. Sama liigi kohta hiljem tehtud tsütofotomeetrilised ja mikrodensitomeetrilised uurimused kinnitasid DNA hulga olulist liigisisest varieerumist (Miksche, 1971). Erinevatest geograafilistest piirkondadest varutud materjali põhjal tehtud karüoanalüüs aga ei näidanud olulisi erinevusi sitka kuuse eri populatsioonide karüotüüpide vahel (Burley, 1965).

Oluliste erinevuste puudumist Larix decidua liigisisest taksonoomiliste rühmituste karüotüüpides on kinnitanud M. Simak (1962). Seejuures tuleb rõhutada, et nimetatud liik on mitmete küllalt suurte ökoloogiliste ja morfoloogiliste iseärasuste tõttu jagatud taksonoomiliselt erinevaks geograafilisteks rassideks (teisenditeks), nagu alpi lehis, sudeedi lehis, slovaki lehis, rumeenia lehis ja poola lehis (Simak, 1962). Viimast peetakse ka täiesti iseseisvaks liigiks - Larix polonica (Laas, 1967).

Kõrvuti eelnimetatud autorite (Simak, 1962; Burley, 1965) tulemustega ning ühtlasi käesoleva töö tulemustega võib aga leida mitmeid publikatsioone, milles otseselt viidatakse oluliste liigisiseste erinevuste olemasolule okaspuude kromosoomide morfoloogias (Tarnavski, Ciobanu, 1965; ШИШИНОВАНА, 1968; Орленко, 1970; Николаев, 1971). Kahjuks ei ole nimetatud töödes üksikute karüotüüpide eri-

nevuste tõenäosust biomeetriliselt hinnatud. Omaette tähelepanu väärivad E.T. Orlenko poolt avaldatud karüoanalüüsi tulemused, kuivõrd need käsitlevad samuti hariliku kuuse Picea excelsa (= Picea abies) kromosoomide morfoloogia liigisisest varieerumist. Autori poolt kasutatud meetodika erineb aga oluliselt käesolevas töös kasutatud meetodikast. Orlenko kasutas rakkude eelmõjutamiseks oksükinoliinilahust ning kirjeldatud meetodika paneb arvama, et karüoanalüüsiks kasutatud metafafaasfiguuride kromosoomid olid väga nõrga kontraktsiooniastmega. Oeldule viitavad Orlenko töös toodud arvud karüotüübi keskmise kromosoomi suuruse kohta. Analüüsitud kolme hariliku kuuse teisendi (Picea excelsa var. europaea, var. acuminata apiculata ja var. acuminata ligulata) karüotüüpide kromosoomide keskmiseks pikkuseks märgib autor vastavalt 23,5, 21,3 ja 18,3 mikromeetrit. Nimetatud tulemus ületab 1,7 - 2,2-kordselt käesolevas töös karüoanalüüsiks kasutatud metafafaasfiguuride keskmise kromosoomi pikkuse. Kokku kasutas Orlenko kromosoomide mõõtmiseks ja analüüsimiseks 56 metafafaasfiguuri, mida ta pidas küllaldaseks kolme erineva teisendi karüotüüpide iseärasuste kindlakstegemiseks. Autor esitab oma uurimistulemused ainult kirjeldavas vormis. Lisaks erinevusele kromosoomide suuruses ja tsentromeeri paiknemises, nimetab Orlenko veel suurt varieerumist sekundaarsoonistega kromosoomide arvus ja asukohas. Näiteks var. acuminata ligulata karüotüübi seitsme pikema kromosoomipaari kohta on märgitud, et kõigi nimetatud paaride juures täheldati sekundaarsooniseid, kuid harva. SAT-kromosoomide tegelik arv ja sekundaarsooniste asukoht on autoril ilmselt jäänud

kindlaks tegemata.

Mis puutub hariliku kuuse liigisisesesse ploidsus-
astme varieerumisse (Юркович и Парфенов, 1967; Юркович
и др., 1967), siis käesoleva töö käigus võis samuti loen-
dada üksikuis rakkudes tetraploidset kromosoomide arvu,
kuid võib arvata, et neil juhtudel oli tegemist kolhitsi-
neerimise tagajärjel indutseeritud polüploidisusega.

Kaudselt võib mõne liigi karüotüübi liigisiseste
oluliste erinevuste esinemisvõimalust välja lugeda ka töö-
de võrdlemisel, mis on tehtud ühe ja sama liigi kohta eri-
nevate autorite poolt. Näiteks on hariliku männi (Pinus
silvestris) kromosoomide morfoloogia kohta avaldanud oma
tulemused I. Aass (1957), A.T. Natarajan (1961), L.C. Say-
lor (1964), L.F. Pravdin (Правдин, 1964) ja V.A. Nikola-
juk (Николаев, 1971). Tulemustes ilmnevad mitmed lahku-
minekud, eriti sekundaarsoonistega kromosoomide osas. Tu-
leb aga silmas pidada, et erinevate autorite tööde võrdle-
misel jäävad olulisteks takistusteks märgatavad erinevused
kasutatud meetodikas. Käesoleva töö autori arvates on ni-
metatud asjaolu peamine, mis võib viia erinevusteni uuri-
mistulemustes.

Kaudse tõenduse ka hariliku kuuse karüotüübi liigi-
sisese varieerumise võimalikkuse kohta võib saada, kui
võrrelda käesoleva töö tulemusi näiteks K. Sak'i ja H.J.
Sak'i (1933) omadega. Selline võrdlus jääb küll äärmiselt
tinglikuks, sest viidatud autorite tulemused on saadud
endospermi rakkude uurimise alusel ning mingisugust eel-
mõjutamismenetlust ei ole kasutatud. Arvulised andmed töös
puuduvad, kuid esitatud on hariliku kuuse idiogramm. Kui-

võrd nimetatud idiogramm oli kuni viimase ajani ainukeseks kirjandusest teadaolevaks hariliku kuuse idiogrammiks, esitatakse tabelis 19 selle arvuline tõlgendus võrdlevalt koos Eestist pärineva hariliku kuuse populatsiooni uurimistulemustega. Kahjuks tuli arvulised andmed Sax'ide poolt esitatud idiogrammi kohta välja selgitada ainult fotokoopia kasutada olnud töö alusel. Tabelist 19 selguvad küllaltki suured erinevused. Kromosoomide pikkuses väljendub eriti rõhutatult kõige pikema (I) kromosoomi juures erinevus. Tsentromeeriindeksi alusel on Sax'ide poolt esitatud idiogrammil kolm selgesti submediaanse tsentromeeriga kromosoomi. Käesoleva töö käigus eristati neid kõigil juhtudel aga ainult kaks paari. On ilmne, et kirjeldatud võrdlust ei saa pidada otseseks ja usaldatavaks tõenduseks hariliku kuuse kromosoomide morfoloogia liigisisese polümorfismi kohta. Tõenäoselt on ka osa tabelis 19 esinevatest erinevustest tingitud asjaolust, et erinevatel idiogrammidel ei lange kromosoomide järjestus ühte.

Hariliku kuuse karüotüübi liigisisene varieerumine ilmneb aga otseselt hiljuti avaldatud L.F. Pravdini ja O.P. Šeršukova (Правдин и Шершукова, 1971) tööst. Kuigi autorid kinnitavad, et kahe hariliku kuuse vormi (*f. europea* ja *f. deflexa*) kromosoomide suhtelise pikkuse osas olulised erinevused puuduvad, on nimetatud vormide idiogrammidel kujutatud kromosoomid morfoloogiliselt vägagi erinevad: kromosoomide morfoloogia erineb nii primaar- kui ka sekundaarsooniste paiknemise poolest.

Nagu näitab käesolev uurimus, on hariliku kuuse liigisisene evolutsiooniline diferentseerumine ilmselt siiski toimunud eeskätt kromosoomide submikroskoopilisel tasemel.

Tabel 19

Hariliku kuuse var. scuminata + var. europaea (populatsioon Eestiist)
 ja K. Sax'i ning H.J. Sax'i poolt esitatud karootüüpide võrdlus

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
	Kromosoomi järk. nr. idioogramm											
	Suhteline pikkus											
Sax ja Sax	146	114	108	107	105	101	99	93	86	85	85	73
Käesolev töö	128	113	110	106	105	105	105	104	92	86	78	70
Erinevus	-18	-1	+2	-1	+0	+4	+6	+11	+6	+1	-7	-3
	Tsentrimeerindeks											
Sax ja Sax	1,00	1,52	1,11	1,21	1,32	1,46	2,40	2,76	1,11	1,07	1,07	2,12
Käesolev töö	1,06	1,09	1,17	1,10	1,09	1,09	1,09	1,33	1,77	1,49	1,27	2,08
Erinevus	+0,06	-0,43	+0,06	-0,11	-0,23	-0,37	-1,31	-1,43	+0,66	+0,42	+0,20	-0,04

Analoogilist arvamust on isegi avaldatud lähedaste, kuid seejuures erinevate okaspuuliikide diferentseerumise suhtes (Mehra, 1960, 1968). Huvitav on siinjuures võrrelda hariliku kuuse karütüüpi ka mõnede teiste kuuseliikide karütüübiga. Tabelis 20 on esitatud vastavad võrdlusandmed sitka kuuse (Picea sitchensis) ja siberi kuuse omadega (Picea obovata) J. Burley (1965) ja M.V. Kruklise (Круклис, 1971 a, б) tööde põhjal. Sitka kuuse kromosoomide suhteline pikkus on arvatatud samuti fotokoopia kasutades olnud idiogrammi põhjal, sest J. Burley'1 (1965) ei ole vastavaid arvulisi väärtusi esitatud. Et mõlemad nimetatud autorid kasutasid tsentromeeriindeksi väljendamiseks lühema õla suhet pikemasse, arvutati vastav suhe ka hariliku kuuse kromosoomide kohta.

Tabelist 20 selgub, et kolme erineva kuuseliigi (Picea abies, P. sitchensis ja P. obovata) karütüübid on vägagi sarnased, eriti kromosoomide suhtelise pikkuse osas. Tsentromeeriindeksi erinevused osutuvad mõnevõrra suuremateks. Tsentromeeri asukoha varieerumine on aga ka ühe ja sama liigi piires elati suurem kui kromosoomide pikkuse varieerumine, nagu ilmneb eelmises peatükis esitatud andmetest. Sama kinnitab ka M.V. Kruklis Picea obovata karüoanalüüsil. Kromosoomide pikkuse variatsioonikoefitsient ulatus 3 - 7 %-ni, kusjuures tsentromeeriindeksil 3 - 16 %-ni (Круклис, 1971 a). Käesoleva töö andmeil ulatusid variatsioonikoefitsiendi suurused Picea abies'i karüoanalüüsil vastavalt 2,3 - 5,8 %-ni ja 3,5 - 7,7 %-ni.

Mitmete erinevate männiliikide karütüüpide sarnasust on kinnitanud L.C. Saylor (1961, 1964) ja S. Kumar et al.

Picea abies'i (populatsioonid Eesti), Picea obovata ja Picea sitchensis'e
karnotumpide võrdlus

Liigi nimetus	K R O M O S O M I J A K . N R . I D I O G R A M M I I												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
	S u h t e l i n e p i k k u s												
<u>Picea obovata</u>	124	115	111	108	106	104	103	100	89	85	84	70	
<u>Picea abies</u>	128	113	110	106	105	105	105	104	92	86	78	70	
<u>Picea sitchensis</u>	129	117	112	110	107	105	101	93	85	84	81	71	
	T s e n t r o m e e r i i n d e k s												
<u>Picea obovata</u>	0,93	0,93	0,92	0,91	0,90	0,89	0,84	0,78	0,76	0,69	0,64	0,52	
<u>Picea abies</u>	0,94	0,92	0,85	0,91	0,92	0,92	0,92	0,75	0,57	0,67	0,79	0,48	
<u>Picea sitchensis</u>	0,94	0,94	0,93	0,93	0,90	0,84	0,85	0,82	0,81	0,69	0,64	0,60	

(1966).

Kõrvuti okaspuuliikide karüonaliigisi tulemustega võib nimetada arvukalt väga erinevatesse sugukondadesse kuuluvaid liike (Triticum macha, T. timopheevi, T. durum, T. dicoccum, Vitis vinifera, Rumex acetosa, Pennisetum typhoides, Cap-
sicum annuum, Saccharum officinarum, Anthoxanthum odoratum, Hosta undulata, Allium fuscum, Pisum sativum jt), mille karüotüübis on kirjeldatud mitmesuguste liigisiseste ise-
ärasuste olemasolu (Pai, Natarajan, 1958; Jones, 1964; Ka-
barity, 1966 b; Sen, Tiwari, 1966; Shopeva, 1966; Jagathe-
sen, Ratnambal, 1967; Datta, 1968; Ising, 1969; Kuroki,
Kurita, 1969; Raj, Seethaiah, 1969; Strid, 1969; Chandola,
Jain, 1970; Kaneko, 1970; Kuroki, Kuroki, 1970; Strid,
1970; Teppner, 1970; Viinikka, 1970; Шарова, 1970; Чеумед-
ЗНЕР, 1971). Samal ajal võib nimetada ka mitmeid liike
(Triticum turgidum, T. timopheevi, T. araraticum, T. spel-
ta, Mecardonia dianthera, Narcissus jonquilla, Stellaria
nemorum jt.), mille kromosoomide morfoloogias ei ole märgi-
tud olulisi liigisiseseid erinevusi (Kabarity, 1966 a, Hi-
rahara, Tatuno, 1967; Slim, Koopmans, 1968; Giorgi, Bozzi-
ni, 1969 a, b, c; Kaul, 1969; Rychlevski, 1970). Pealegi
võib ka ülalootletud liikide seast leida selliseid (näit.
Triticum timopheevi), mille kohta erinevate autorite uurim-
istulemused osutuvad vasturääkivaks (Giorgi, Bozzini,
1969 b; Шарова, 1970). Ilmselt ei ole tulevikuski üleliig-
sed mitmete autorite üheaegsed jõupingutused ühe ja sama
liigi uurimisel, et selgitada, milliste liikide ja liigisi-
seste taksonoomiliste rühmituste evolutsioonis on määrav
osa olnud kromosoommutatsioonidel, milliste osas - geenmu-
tatsioonidel.

V J Ä R E L D U S E D

1. Hariliku kuuse Picea abies (L.) Karst./ juuremeris-
teemi iseloomustab üldiselt kõrge (6,2 - 13,5 %) ning
ööpäeva jooksul vähe muutuv m i t o o s i i n d e k s .
Täielikus pimeduses idandamisel esineb idujuurtes mitoosi-
de sageduses ööpäeva jooksul üks maksimum, mille tõeäosus
ületab 95 %-lise taseme. Valguse-pimeduse vahelduse tingi-
mustes idandamisel esineb 95 %-lise tõeäosusega ööpäeva
jooksul kaks maksimumi mitooside sageduses.

Idandamisel täielikus pimeduses osutub mitoosiindeks
hariliku kuuse idujuurtes oktoobrikuus mõnevõrra kõrgemaks
kui juunis (vastavalt 9,9 - 13,5 % ja 6,2 - 9,8 %).

2. Hariliku kuuse kromosoomide suhteliselt suure pikku-
se tõttu omandab karüocanalüüsil määrava tähtsuse uurita-
va materjali k e e m i l i n e e e l m õ j u t a m i n e .
Sobivainaks keemiliseks mõjutamisvahendiks on hariliku kuu-
se juuretippude eelmõjutamisel kolhitsiin. Kromosoomide
optimaalne kontraktsiooniaste saavutatakse juuretippude
mõjutamisel 0,2 %-lise kolhitsiinilahusega 5 kuni 6 tunni
kestel. Pärast nimetatud eelmõjutamist leidub preparaati-
des rahuldaval hulgal metafasaasfiguure, mille kromosoomid
on hästi mõõdetavad ja küllaldase selgusega võib eristada

nii primaar- kui ka sekundaarsooniste asukohti.

3. Kromosoomide kontraktsioonistme võrdlev hindamine spiraalisatsioonindeksi ja metafaasi kromosoomide üldpikkuse alusel näitab teise meetodi suuremat täpsust.
4. Hariliku kuuse kromosoomide pikkuse erinevused ühes ja samas metafaasis on võrdlemisi väikesed, kuid kromosoomide suhtelise pikkuse ja tsentromeeri indeksi varieerumine erinevates metafaasides osutub küllaltki suureks: variatsioonikoefitsient vastavalt 2,3 - 5,8 % ja 3,5 - 7,7 %. Nimetatud asjaolude ning ühtlasi kromosoomide asünkroonse kontraktsiooni tõttu metafaasis, on raske kindlaks teha homoloogiliste kromosoomide paare ning kromosoomide järjestust erinevate metafaaside kariogrammidel.
5. kromosoomide identifiitseerimisel on hariliku kuuse kromosoomidest kõige kergemini eristatavad ainult kõige pikem (I) ja kõige lühem (XII) kromosoomipaar, suhteliselt kergemini ka sekundaarsoonistega kromosoomid (5 paari) ning IX ja XI paar. Võimatu on aga üketeisest eristada kolme keskmise suurusega kromosoomipaari.
6. Hariliku kuuse karüotüüpi iseloomustab lo mediaanse ja 2 submediaanse tsentromeeriga kromosoomipaari, mida pikkuse alusel võib grupeerida pikadeks (I), keskmise pikkusega (II kuni VIII) ja lühikes-
teks (IX kuni XII) kromosoomideks. Viiel paaril (neljal keskmise pikkusega ja ühel väikestest kromosoomidest esi-
nevad sekundaarsoonised ja lineaarset tüüpi satelliidid.

Pi-osa abies'i karuotüüpi väljendab valem:

$$2n = 24 = 2 \left[p_m + 4K_m^s + 3K_m + L_m^s + L_m + 2L_{sm} \right].$$

7. Tuumakesi võib hariliku kuuse interfaasi rakude tuumades loendada enamasti 5 - 6, harvem 9 - 10.
8. Eestist päri-neva hariliku kuuse populatsiooni kahe eri vormi (var. acuminata ja var. europaea) karuotüüpide erinevused osutuvad ebaolulisteks ($P_{dif.} > 0,05$). Mõnevõrra märgatavamad on erinevused vaid I ja III paari kromosoomide suhtelise pikkuse osas, mis aga siiski ei ületa 99,9%-list tõenäosuse taset.
9. Hariliku kuuse geograafiliselt erinevate populatsioonide (var. acuminata + var. europaea Eestist, var. fennica Soomest ja populatsioon Karpaatidest) karuotüüpide osutuvad samuti sarnasteks: erinevused kromosoomide morfoloogias ei ületa 99,9%-list tõenäosuse taset.

Kasutatud kirjandus

Aass, I. 1957. En cytologisk analyse av Skjakfurua.- Medd. Norske Skogsforsøksvesen 14:93-109.

Abele, K. 1925. Zur Kenntnis der Kernteilungsperiodizität in den Wurzeln von Vicia amphicarpa.- Bot. Archiv 11:471-474.

Alfieri, I. R., Evert, R. F. 1968. Analysis of meristematic activity in the root tip of Helilotus alba.- New Phytol. 67:641-647.

Battaglia, E. 1955. Chromosome morphology and terminology.- Caryologia 8:179-187.

Bent, A. E., Smith, E. C. 1969. Karyotype analysis of the Nova Scotian species of Streptopus Michx. (Liliaceae).- Can. J. Genet. Cytol. 11:409-413.

Bentzer, B. 1969. Chromosome morphology in Aegean populations of Leopoldia Parl. (Liliaceae).- Bot. Notiser 122: 457-480.

Bevilacqua, B. 1965. Changes of the daily rhythm of mitosis in Pinus nigra Arn. caused by gamma rays.- Silvae Genetica 14:81-87.

Bevilacqua, B., Vidaković, M. 1963. Effect of gamma rays on the somatic cells in Picea abies Karst.- Silvae Genetica 12:41-46.

Bhaduri, P. N., Ghosh, P.N. 1954. Chromosome squashes in cereals.- Stain Techn. 29:269.

Bhattacharyya, N. K., Jenkins, B. C. 1960. Karyotype analysis and chromosome designations for Secale cereale L. "Dakold".- Can. J. Genet. Cytol. 2:268-277.

Biswas, A. K., Bhattacharyya, N. K. 1970. Karyomorphology of Fachyrrhizus angulatus Rich.- Sci. and Cult. 36: 470-472.

Blixt, S. 1958. Cytology of Pisum II. The normal karyotype.- Agri Hortique Genetica 16: 221-237.

Bose, S. 1966. Karyotype alteration in Lycoris chinensis.- Sci. and Cult. 32: 144-145.

Brat, Sh. V. 1964. Genetics systems in Allium I. Chromosome variations.- Chromosoma 16:486-499.

Brauer, I. 1949. Experimentelle Untersuchungen an Wurzelspitzen - Mitosen von Vicia faba L. Normalverhalten.- Planta 36:411-423.

Brown, R. 1951. The effects of temperature on the durations of the different stages of cell division in the root-tip.- J. Exper. Bot. 2: 96-110.

Burley, J. 1965. Karyotype analysis of sitka spruce, Picea sitchensis (Bong.) Carr.- Silvae Genetica 14:127-132.

Bünning, E. 1952. Über den Tagesrhythmus der Mitosehäufigkeit in Pflanzen.- Z. Bot. 40:193-199.

Černa, V., Černý, J. 1969. Application of graphic methods in karyotype analysis.- Silvae Genetica 18:72-74.

Chandola, R. P., Jain, S. N. 1970. Karyomorphological studies in Pennisetum typhoides L.- Cytologia 35: 181-196.

- Chandhuri, M., Chakraborty, D. P., Sharma, A. K. 1962. Isopsoralene and its use in karyotype analysis.- Stain Techn. 37:95-97.
- Chen Chi-Chang, 1969. The somatic chromosomes of maize.- Can. J. Genet. Cytol. 11:752-754.
- Chen Chi-Chang, Grant, W. F. 1968. Morphological ^{and} cytological identification of the primary trisomics of Lotus pedunculatus (Leguminosae).- Can. J. Genet. Cytol. 10:161-179.
- Christiansen, H. 1963. On the chromosomes of Pseudotsuga macrocarpa and Pseudotsuga menziesii.- Silvae Genetica 12:124-127.
- Coucolli, H. D., Skorda, E. A. 1966. Further evidence on the karyotype of Triticum monococcum L. and Triticum durum Desf.- Can. J. Genet. Cytol. 8:102-110.
- Daker, M. G. 1968. Karyotype analysis of Diandrolyra bicolor Stapf. (Gramineae).- Kew Bull. 21:433-434.
- Darlington, C. D., La Cour, L. F. 1947. The Handling of Chromosomes. London.
- Darlington, C. D., Wylie, A. P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. London.
- Das, B. C., Sikdar, A. K. 1968. Karyotype studies on Maclura pomifera (Raf.) Schneid.- Sci. and Cult. 34:486-487.
- Datta, N. 1966. Cytology of Urginea coromandeliana Hook.- Sci. and Cult. 32:97-99.
- Datta, P. C. 1968. Karyology of Indian varieties of Capsicum annum Linn. (Solanaceae).- Caryologia 21:121-126.
- Datta, P. C., Biswas, C. 1969. Karyotype study of Durio zibethinus L.- Genetica 40:40-42.

- Datta, P. C., Maiti, R. K. 1968. Cytotaxonomy of a few species of the tribe Galageae (Papilionaceae). - Genetica Iberica 20:161-177.
- Datta, R. M., Choudhury, P. C. 1966. Karyotype in Crotalaria. - Bull. Torrey Bot. Club 93:241-243.
- Datta, R. M., Ghoshal, K. K. 1969. Karyotypic study in the genus Crotalaria. III. - Z. Pflanzenzüchtung 61:58-62.
- D'Cruz, R., Reddy, P. C., Katwe, G. A. 1967. Use of common household materials as prefixatives. - Curr. Sci. 36:185-186.
- Dey, D., Sharma, A. K. 1967. Chromosome studies in the genus Centaurea. - Folia Biologica 15:191-208.
- Dutrillaux, B., Lejeune, J. 1971. Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. - C. R. Acad. Sci. D 272:2638-2640.
- Dvořák, F. 1965. The karyotype Deilosma tristis (L.) Spach. - Biologia (Bratislava) 20:546-547.
- Edgar, E. 1961. Fluctuations in mitotic index in the shoot apex of Lonicera nitida. - Univ. Canterbury publications No. 1:1-91.
- Feráková, V. 1968. Chromosome study in Lactuca quercina L. and Lactuca chaixii Vill. - Folia Geobot. Phytotax. 3:111-116.
- Fernández, P. E. 1970. Cytotaxonomy of two species of the genus Hippeastrum (Amaryllidaceae) - Cytologia 35:431-433.
- Fozdar, B. S., Libby, W. J. 1968. Chromosomes of Sequoia sempervirens; 8-hydroxyquinoline-castor oil pret-

- reatment for improving preparation.- *Stain Techn.*
43:97-100.
- Friesner, R. C. 1920. Daily rhythms of elongation and cell
division in certain roots.- *Amer. J. Bot.* 7:380-407.
- Funabiki, K. 1967. A study on the relationship between vege-
tation zones and chromosomal features of flora
along the Japanese islands.- *Hem. Fac. Agric. Nii-
gata Univ.* No. 6:1-203.
- Funabiki, K., Seido, K. 1967. Chromosome morphology of *Pinus
thunbergii* Pavlatore.- *CIS No.* 8:14-16.
- Gagnebin, F. 1969. Le rythme circadien des mitoses chez le
chou de Bruxelles.- *Ann. Sci. Univ. Besancon, Bot.*
Fasc. 6:56-58.
- Ghosh, R. B. 1966. Karyotype study of somatic chromosomes in
Garuga pinnata Roxb. as an aid to its discussion in
phylogeny.- *Caryologia* 19:151-155.
- Ghosh, R. B. 1968a. Studies on the morphology of somatic
chromosomes in *Walsura piscidia* Roxb.- *Caryologia*
21:111-114.
- Ghosh, R. B. 1968b. An analysis of somatic chromosomes in
Aphanamixis polystachya (Wall.) Parker (= *Amoora
ronituka*).- *Genetica Iberica* 20:145-151.
- Ghosh, R. B. 1969. An analysis of the somatic chromosome
morphology in *Bursera serrata* Wall. with a view to
understanding its phylogeny.- *Beitr. Biol. Pflanzen*
46:39-44.
- Ghosh, R. B. The morphology of somatic chromosomes in *Ravenia
spectabilis* Engl. (= *Lemonia spectabilis* Lindl.) -
an ornamental plant.- *Broteria* 39:131-134.

- Giorgi, B. 1965. Analisi cariotipica di Triticum durum Desf. var. cappelli.- *Genetica Agraria* 19:176-183.
- Giorgi, B., Bozzini, A. 1969a. Karyotype analysis in Triticum: I - analysis of Triticum turgidum (L.) Thell and some related tetraploid wheats.- *Caryologia* 22: 249-259.
- Giorgi, B., Bozzini, A. 1969b. Karyotype analysis in Triticum: II - analysis of T. araraticum Jakubz. and T. timopheevi Zhuk. and their relationship with other tetraploid wheats.- *Caryologia* 22:261-268.
- Giorgi, B., Bozzini, A. 1969c. Karyotype analysis in Triticum: III - analysis of the presumed diploid progenitors of polyploid wheats.- *Caryologia* 22:279-288.
- Giorgi, B., Bozzini, A. 1969d. Karyotype analysis in Triticum: IV - analysis of (Aegilops speltoides x Triticum boeoticum) amphiploid ^{and} a hypothesis on the evolution of tetraploid wheats.- *Caryologia* 22:289-306.
- Govindaswami, S. 1965. Cytogenetical studies in the genus Musa L. Edible diploid Bumusa - Safet-velchi and Met-balai. - *Cytologia* 30:42-53.
- Grover, I. S., Malik, C. P. 1969. Karyological studies some Papaver species.- *Genetica Iberica* 21:105-113.
- Gustafsson, A., Mergen, F. 1964. Some principles of tree cytology and genetics.- *Unasylva* 18:7-20.
- Hageman, R. 1956. Untersuchungen über die Mitosenhäufigkeit in Gerstenwurzeln.- *Die Kulturpflanze* 4:46-83.
- Hainla, V. 1967. Hariliku kuuse /Picea abies (L.) Karst./ viljasoomuse kujust Bestis.- *Metsanduslikud uurimused* V:28-46.

- Hair, J. B. 1968. The chromosomes of the Cypressaceae I. Tetraclineae and Actinostrobeeae (Callitroideae). - New Zeal. J. Bot. 6:277-284.
- Hedberg, I. 1970. Cytotaxonomic studies on Anthoxanthum odoratum L. s. lat. - Hereditas 64:153-176.
- Heneen, W. K. 1962a. Karyotype studies in Agropyron junceum, A. repens and their spontaneous hybrids. - Hereditas 48:471-502.
- Heneen, W. K. 1962b. Chromosome morphology in inbred rye. - Hereditas 48:182-200.
- Heneen, W. K., Runemark, H. 1962. Chromosomal polymorphism and morphological diversity in Elymus rechingeri. - Hereditas 48:545-564.
- Hirahara, S., Tatuno, S. 1967. Cytological studies on Narcissus I. Karyotype and nucleolus of Narcissus jonquilla. - Cytologia 32:553-559.
- Hounsell, R. W. 1968. Cytological studies in Sambucus. - Can. J. Genet. Cytol. 10:235-247.
- Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosomes of Aster. - Amer. J. Bot. 49:116-119.
- Ising, G. 1969. Cytogenetic studies in Cyrtanthus. IV. Chromosome morphology in Cyrtanthus luteus Baker (Anciganthus luteus Baker) and Cyrtanthus breviflorus Harvey (Anciganthus breviflorus Baker). Hereditas 63:352-364.
- Ising, G. 1970. Evolution of karyotypes in Cyrtanthus. - Hereditas 65:1-28.
- Jagathesan, D., Rathambal, M. J. 1967. Karyotype analysis in Saccharum officinarum. - Nucleus 10:159-167.

- Jensen, W. A., Kavakjian, L. G. 1958. An analysis of cell morphology and the periodicity of division in the root tip of Allium cepa. - Amer. J. Bot. 45:365-372.
- Jones, K. 1964. Chromosomes and the nature and origin of Anthoxanthum odoratum L. - Chromosoma 15:248-274.
- Jones, K., Smith, J. B. 1967. The chromosomes of the Liliaceae: I The karyotypes of twenty-five tropical species. - Kew Bull. 21:31-38.
- Kabarity, A. 1966a. About the origin of the new cultivated wheat. I. Cytological study on the karyotypes of some Triticum spelta varieties. - Beitr. Biol. Pflanzen 42:327-338.
- Kabarity, A. 1966b. On the origin of the new cultivated wheat. II. Cytological studies on the karyotypes of some Triticum macha varieties. - Beitr. Biol. Pflanzen 42:339-346.
- Kaneko, K. 1970. Cytological studies in some species of Hosta. II. Karyotypes of H. undulata, H. undulata var. erronema, H. undulata var. albomarginata, H. tardiva and H. sacra. (In Japanese, abstr. in Engl.) - Bot. Mag. 83:27-35.
- Karsten, G. 1915. Über embryonales Wachstum und seine Tagesperiode. - Z. Bot. 7:1-34.
- Karsten, G. 1918. Über die Tagesperiode der Kern- und Zellteilungen. - Z. Bot. 10:1-20.
- Kaul, M. L. H. 1969. Cytogenetical studies on ecological races of Mecardonia dianthera (SW) Pennell. I. Cytology, floral - biology and pollination mechanism. - Cytologia 34:169-177.

- Kawano, S. 1965. Chromosome morphology of Smilacina scilloi-
dea (Liliaceae) from Mexico.- Bot. Mag. 78:261-262.
- Kawano, S., Ihara, M., Suzuki, M., Iltis, H. H. 1967. Bio-
systematic studies on Maianthemum (Liliaceae -
- Polygonatae) I. Somatic chromosome number and
morphology.- Bot. Mag. 80:345-352.
- Kawano, S., Kane, J. M., Iltis, H. H. 1966. Chromosome
morphology of the North American species of Actaea
(Ranunculaceae).- Can. J. Bot. 44:1231-1234.
- Kedharnath, S., Upadhaya, L. P. 1965. Chromosome preparations
from needle basis of chir pine (Pinus roxburghii
Sarg.).- Indian For. 91:477-478.
- Kellicott, W. E. 1904. The daily periodicity of cell-division
and of elongation in the root of Allium.- Bull.
Torrey Bot. Club 31:529-550.
- Khosho, T. N. 1959. Polyploidy in Gymnosperms.- Evolution
13:24-35.
- Khosho, T. N. 1961. Chromosome numbers in Gymnosperms.-
Silvae Genetica 10:76-84.
- Knaben, G. 1953. En cytologisk analyse av diploid og tri-
ploid Larix.- Blyttia 11:105-115.
- Koshy, T. K. 1968. Evolutionary origin of Poa annua, L. in
the light on karyotypic studies.- Can. J. Genet.
Cytol. 10:112-118.
- Koul, A. K., Gehil, R. N. 1970. Cytology of the tetraploid
Allium ampeloprasum with chiasma localization.-
Chromosoma 29:12-19.
- Kořuharev, S. J., Kuzmanov, B. A. 1968. Cytotaxonomic studies
on Bulgarian Gramineae.- C. R. Acad. Bulg. Sci.
21:269-272.

- Krishnan, B., Magoon, M. L., Bai, K. V. 1970. Karyological studies in Amorphophallus campanulatus. - Can. J. Genet. Cytol. 12:187-196.
- Krishna, R.M. 1968. Karyotype and cytology of Spinifex litoreus Merr. - Curr. Sci. 37:444-445.
- Kumar, S., Bansal, H. C., Singh, D., Natarajan, A. T. 1966. Consistency of karyotypes and classification and indentification of chromosomes in the genus Pinus. - Indian J. Genet. Plant Breed. 26:311-316.
- Kurabayashi, M., Lewis, H., Raven, P. H. 1962. A comparative study of mitosis in the Onagraceae. - Amer. J. Bot. 49:1003-1026.
- Kuroki, Y., Kurita, M. 1969. Karyotypes of Rumex acetosa L. - Mem. Ehime Univ., Ser. B. 6:1-9.
- Kuroki, Y., Kurita, M. 1970. New karyotype of Rumex acetosa L. - Bot. Mag. 83:95-98.
- Kuzmanov, B. A., Kožuharev, S. I. 1967. Caryotypes of four Bulgarian Compositae species. - C. R. Acad. Bulg. Sci. 20:469-472.
- Laas, E. 1967. Dendrologia. Tallinn.
- Lepper, L. 1968. Über Paradichlorbenzol als Vorbehandlungsmittel in der Chromosomentechnik. - Wiss. Z. Friedrich-Schiller-Univ. Jena. Math.-naturwis. Reihe 17:375-379.
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. - Hereditas 52:201-220.
- Lewis, A. C. 1901. Contributions to the knowledge of the physiology of karyokinesis. - Bot. Gaz. 32:423-425.

- Lewis, W. H., Suda, Y. 1968. Karyotypes in relation to classification and phylogeny in Claytonia.- Ann. Missouri Bot. Gard. 55:64-67.
- Lindquist, B. 1948. The main varieties of Picea abies (L.) Karst. in Europe, with a contribution to the theory of a forest vegetation in Scandinavia during the last Pleistocene glaciation.- Acta Horti Bergiani 14:249-342.
- Löve, A., Löve, D. 1961. Chromosome numbers of Central and Northwest European plant species. Opera Botanica 5. Lund.
- Mahanty, H. K. 1970. A cytological study of the Zingiberales with special reference to their taxonomy.- Cytologia 35:13-49.
- Malik, C. P. 1966. The cytology of the chromosome races of Festuca spadicea Linn.- Beitr. Biol. Pflanzen 42: 347-352.
- Malik, C. P., Thomas, P. Y. 1966. Karyotypic studies in some Lolium and Festuca species.- Caryologia 19:167-196.
- Markova, M. 1970. Karyological study of Verbena officinalis L. var. rumelica (Vel.) Stoj. et Stef. and of Haberlea rhodopensis Friv.- C. R. Acad. Bulg. Sci. 23: 1287-1289.
- Matern, B., Simak, M. 1968. Statistical problems in karyotype analysis.- Hereditas 59:280-288.
- Matern, B., Simak, M. 1969. On some statistical problems connected with the identification of chromosomes.- Res. Notes Royal Coll. For. No. 11:1-81.
- Mehra, P. N. 1960. Cytology and breeding of conifers.- Proc. 5-th World For. Congr.

- Mehra, P. N. 1968. Cytogenetical evolution of conifers.-
Indian J. Genet. Plant Breed. 28:97-111.
- Mehra, P. N., Khoshoo, T. N. 1956. Cytology of conifers I.-
J. Genetics 54:165-180.
- Mehra, P. N., Singh, P. 1968. Irradiation studies on Pterotheca falconeri. Numerical alteration in chromosome complement by breakage.- Nucleus 11:13-28.
- Mergen, F. 1961. The chromosomes of Pseudolarix amabilis.-
Cytologia 26:213-216.
- Mergen, F., Burley, J. 1964. Abies karyotype analysis.-
Silvae Genetica 13:63-68.
- Mergen, F., Novotny, H. M. 1957. Squash technique for chromosome studies in pine needles and root tips of slash pine.- For. Sci. 3:56-60.
- Mergen, F., Thielges, B. A. 1967. Intraspecific variation in nuclear volume in four conifers.- Evolution 21:
720-725.
- Mésiček, J. 1967. The chromosome morphology of Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. and some remarks on the problem of Hylandra suecica (Fr.) Löve.- Folia Geobot. Phytotax. 2:433-436.
- Meyer, J. R. 1945. Prefixing with paradichlorobenzene to facilitate chromosome study.- Stain Techn. 20:121-125
- Miksche, J. P. 1968. Quantitative study of intraspecific variation of DNA per cell in Picea glauca and Pinus banksiana.- Can. J. Genet. Cytol. 10:590-600.
- Miksche, J. P. 1971. Intraspecific variation of DNA per cell between Picea sitchensis (Bong.) Carr. provenances.- Chromosoma 32:343-352.

- Mitra, K. 1965. Karyotype study in Solanum glaucum Dun.- Sci. and Cult. 31:487-489.
- Mitra, K. 1966. The chromosomes in Solanum khasianum var. chatterjeanum Sengupta.- Sci. and Cult. 32:143-144.
- Morgenstern, E. K. 1962. Note on chromosome morphology in Picea rubens Sarg. and Picea mariana (Mill.) B.S.P.- Silvae Genetica 11:163-164.
- Murin, A. 1970. Príspevok ku klasifikácii typov chromozomov a ich označovaniu.- Acta Fac. rerum natur. Univ. Comen. Bot. No. 16:37-41.
- Natarajan, A. T., Ohba, K., Simak, M. 1961. Karyotype analysis of Pinus silvestris.- Hereditas 47:379-382.
- Ono, H. 1937. Periodicity of the nuclear division in Crepis capillaris.- Bot. Mag. 51:37.
- Ourecky, D. K. 1966. Chromosome morphology in Sambucus canadensis var. Maxima Sch., the American elderberry. Can. J. Genet. Cytol. 8:188-191.
- Ourecky, D. K. 1970. Chromosome morphology in the genus Sambucus.- Amer. J. Bot. 57:239-244.
- Owens, J. N. 1967. Chromosome aberrations in Douglas fir.- Can. J. Bot. 45:1910-1913.
- Östergren, G., Heneen, W. K. 1962. A squash technique for chromosome morphological studies.- Hereditas 48: 332-341.
- Pahuja, A. N., Kumer, V. 1969. Cytogeography of 3 species of Chlorophytum.- Curr. Sci. 38:469-471.
- Pai, R. A., Natarajan, A. T. 1958. Karyotypes of some varieties of barley.- Proc. Ind. Acad. Sci. 10:122-130.
- Patil, V. P., Deodikar, G. B. 1967. Comparative karyotypic

- studies in emmer wheats. I. Inter-specific variations in karyotypes.- Indian J. Genet. Plant. Breed. 27: 252-263.
- Pederick, L. A. 1967. The structure and identification of the chromosome of Pinus radiata D. Don.- *Silvae Genetica* 16:69-77.
- Pillay, R. V. R. 1969. Karyotype study of Colocasia antiquorum Schott.- *Curr. Sci.* 38:595-596.
- Pillay, R. V. R. 1970. Cytology of Ludwigia parviflora Roxb.- *Sci. and Cult.* 36:408-409.
- Popham, R. A. 1958. Cytogenesis and zonation in the shoot apex of Chrysanthemum morifolium.- *Amer. J. Bot.* 45:198-206.
- Popova, M. 1967. Caryological investigations of Lilium rhodopaeum Delip.- *C. R. Acad. Bulg. Sci.* 20:849-851.
- Raj, A. S., Seethaiah, L. 1969. Karyotype analysis and meiotic studies in three varieties of grape (Vitis vinifera L.).- *Cytologia* 34:475-483.
- Rajhathy, T. 1969. A re-examination of the chromosomes of the tetraploid Avena sterilis from Sardinia.- *Can. J. Genet. Cytol.* 11:1001-1004.
- Rajhathy, T., Sadasivaiah, R. S. 1968. The chromosomes of Avena magna.- *Can. J. Genet. Cytol.* 10:385-389.
- Ramanna, M. S., Prakken, R. 1967. Structure of and homology between pachytene and somatic metaphase chromosomes of the tomato.- *Genetica* 38:115-133.
- Rohmeder, E., Schönbach, H. 1959. *Genetik und Züchtung der Waldbäume*. Hamburg und Berlin.
- Rotta, H. 1949. *Untersuchungen über Tagesperiodische Vorgänge*

- in Spross- und Wurzelvegetationspunkten.- *Planta*
37:399-412.
- Runemark, H., Heneen, W. K. 1968. Elymus and Agropyron, a
problem of generic delimitation.- *Bot. Notiser*
121:51-79.
- Rüdenberg, L. 1967. The chromosomes of Austrobaileya.- *J.*
Arnold Arbor, 48:241-244.
- Rüdenberg, L., Green, P. S. 1966. A karyological survey of
Lonocera, I.- *J. Arnold Arbor*, 47:222-229.
- Rychlewski, J. 1970. Karyology of three species of the genus
Bromus L.- *Acta biol. Crac. Ser. bot.* 13:23-35.
- Sampathkumar, R. 1970. Cytological investigations in Rosa
leschenaultiana.- *Curr. Sci.* 39:285.
- Sasaki, M. 1961. Observations on the modification in size
and shape of chromosomes due to technical procedure.-
Chromosoma 11:514-522.
- Savelkoul, R. M. H. 1957. Distribution of mitotic activity
within the shoot apex of Elodea densa.- *Amer. J.*
Bot. 44:311-317.
- Sax, K., Sax, H. J. 1933. Chromosome number and morphology
in the conifers.- *J. Arnold Arbor*, 14:355-375.
- Saylor, L. C. 1961. A karyotypic analysis of selected species
of Pinus.- *Silvae Genetica* 10:77-84.
- Saylor, L. C. 1964. Karyotype analysis of Pinus-group
Lariciones.- *Silvae Genetica* 13:165-170.
- Saylor, L. C., Simons, H. A. 1970. Karyology of Sequoia
sempervirens: karyotype and accessory chromosomes.-
Cytologia 35:294-303.
- Schulz-Schaeffer, J., Jurasits, P. 1962. Biosystematic in-

- vestigation in the genus Agropyron. I. Cytological studies of species karyotypes.- Amer. J. Bot. 49: 940-953.
- Sen, S. K., Tiwari, C. B. 1966. A comparative karyotypic study of five varieties of pea (Pisum sativum L.).- Nucleus 9:173-176.
- Shams-ur-Rehman, Perveen. 1970. Karyotypic analysis of Pinus wallichiana A. B. Jacks. syn. P. griffithii.- Pakist. J. For. 20:283-292.
- Sharma, A. K., Bal, A. K. 1953. Coumarin in chromosome analysis.- Stain Techn. 28:255-257.
- Sharma, A. K., Bhattacharjee, D. 1952. Permanent mounts of chromosomes after 8-oxyquinoline and squashing.- Stain Techn. 27:201-203.
- Sharma, A. K., Bhattacharya, G. N. 1966. A cytotaxonomic study on some taxa of Araceae.- Genetica Iberica 18:237-262.
- Sharma, A. K., Bhattacharyya, M. K. 1956. An investigation on the possibilities of the use of phenols in chromosome analysis.- Genetica 28:121-142.
- Sharma, A. K., Bhattacharyya, M. K. 1960. An investigation on the scope of a number of pretreatment chemicals for chromosome studies in different groups of plants.- Jap. J. Bot. 17:152-162.
- Sharma, A. K., Ghosh, S. 1968. Cytotaxonomy of Ficoideae.- Cytologia 33:439-452.
- Sharma, A. K., Ghosh, S. 1969. A comparative study of the effects of certain chemical agents on chromosomes.- Acta biol. Acad. Sci. Hung. 20:11-21.

- Sharma, A. K., Mallick, R. 1965. Interrelationship and evolution of the tribe Aloineae as reflected in its cytology.- J. Genetics 59:20-47.
- Sharma, A. K., Hookerjee, A. 1955. Paradichlorobenzene and other chemicals in chromosome work.- Stain Techn. 30:1-7.
- Sharma, A. K., Mukhopadhyay, S. 1965. Chromosome studies in Typhonium and Arisaema with a view to find out the mode of origin and affinity of the two.- Cytologia 30:58-66.
- Sharma, A. K., Sarkar, S. K. 1955. A new technique for the study of chromosomes of palms.- Nature 176:261.
- Sharma, A. K., Sharma, A. 1965. Chromosome Techniques. Theory and Practise. London.
- Sharma, A. K., Tulsi Raju, D. 1968. Structure and behavior of chromosomes in Bauhinia and allied genera.- Cytologia 33:411-426.
- Sheriff, A., Mahalakshmi, N. 1969. The karyotype of Jussiaea suffruticosa Linn.- Curr. Sci. 38:23-24.
- Sheriff, A., Nagaraj, M. 1966. A note on the karyomorphology of Limnophyton obtusifolium Miq.- Curr. Sci. 35:19-20.
- Sheriff, A., Srinath, K. V. 1965. Karyotype analysis in Artemisia pallens Wall.- Naturwissenschaften 52:457-458.
- Shetty, B. V., Subramanyam, K. 1967. Cytology of Cycas beddomei Dyer.- Curr. Sci. 36:328-329.
- Shopova, M. 1966. Studies in the genus Capsicum I. Species differentiation.- Chromosoma 19:340-348.
- Simak, M. 1962. Karyotype analysis of Larix decidua Mill. from different provenances.- Medd. Stat. Skogsforskningsinst. 51:3-22.

- Simak, M. 1964. Karyotype analysis of Siberian larch (Larix sibirica Ledeb. and Larix sukaczewii Dyl.).- Studia Forestalia Suecica, No. 17:1-15.
- Simak, M. 1966. Karyotype analysis of Larix griffithiana Carr.- Hereditas 56:136-141.
- Singh, D. N., Singh, U. 1966. Supernumerary chromosomes in Vicia faba.- Genetica Iberica 18:205-214.
- Sisodia, K. P. S. 1970. Cytology of Thelepodon elegans Roth ex Roem et Schult.- Cytologia 35:203-212.
- Skovsted, A. 1953. Some colchicine experiments with hops (Humulus).- Hereditas 39:156-160.
- Slim, G. K., Koopmans, A. 1968. Some data on the karyotypes of Stellaria nemorum L. ssp. nemorum, and Stellaria nemorum L. ssp. glochidisperma Murb. in the Netherlands.- Acta Bot. Neerl. 17:90-92.
- Smith, D. M., Levin, D. A. 1967. Karyotypes of eastern North American Phlox.- Amer. J. Bot. 54:324-334.
- Smith, E. 1966. Cytogenetics and phylogeny of Haplopappus section Isopappus (Compositae).- Can. J. Genet. Cytol. 8:14-36.
- Stalfelt, M. G. 1919. Über die Schwankungen in der Zellteilungsfrequenz bei den Wurzeln von Pisum sativum.- Svensk. Bot. Tidskr. 13:61-70.
- Stalfelt, M. G. 1920. Ein neuer Fall von Tagesperiodischen Rhythmus.- Svensk. Bot. Tidskr. 14:186-189.
- Stalfelt, M. G. 1950. The effect of oxyquinoline on protoplasmic viscosity.- An. Instac. Exp. Aula Dei 2:62-64.
- Stebbins, G. L. 1948. The chromosomes and relationship of Metasequoia and Sequoia.- Science 108:95-98.

- Stebbins, G. L. 1964. Four basic questions of plant biology.-
Amer. J. Bot. 51:22e-23e.
- Stebbins, G. L. 1966. Chromosomal variation and evolution.-
Science 152:1463-1469.
- Strandhede, S.-O. 1965. Chromosome studies in Eleocharis,
subser. Palustres. III. Observations on western
european taxa.- Opera Botanica 9:1-86.
- Strid, A. 1965a. Studies in the Aegean flora. VI. Notes on
some genera of Labiatae.- Bot. Notiser 118:104-122.
- Strid, A. 1965b. Studies in the Aegean flora. VIII. Chromo-
some morphology in the Nigella arvensis complex.-
Bot. Notiser 118:139-165.
- Strid, A. 1968. Stable telocentric chromosomes formed by
spontaneous misdivision in Nigella doerfleri (Ranun-
culaceae).- Bot. Notiser 121:153-164.
- Strid, A. 1969. Variation in the satellite chromosomes of
Nigella doerfleri (Ranunculaceae).- Bot. Notiser
122:9-19.
- Strid, A. 1970. Studies in the Aegean flora. XVI. Biosyste-
matics of the Nigella arvensis complex.- Opera Bo-
tanica No. 28:169 pp.
- Tanaka, R. 1967. A comparative karyotype analysis in Haplo-
pappus gracilis ($2n=4$) and H. ravenii ($2n=8$).-
Cytologia 32:542-552.
- Tara, M., Kamamoto, H. 1970. Karyotype relationships in the
Sarcanthinae (Orchidaceae).- Amer. J. Bot. 57:176-182.
- Tarnavachi, I. T., Ciobanu, I. 1965. Karyologische Unter-
suchungen an Pinus nigra Arn. ssp. Nigricans Host
var. banatica Georg. et Ionescu im vergleiche mit
Pinus nigra Arn. var. austriaca Hoess.- Rev. Roum.

- Biol. (Ser. Bot.) 10:371-375.
- Teppner, H. 1970. Karyotypen europäischer, perennierenden Sippen der Gramineen-Gattung Anthoxanthum. - Österr. Bot. Z. 118:280-292.
- Thomas, G., Ching, K. K. 1968. A comparative karyotype analysis of Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco, and Pseudotsuga wilsoniana (Hayata). - Silvae Genetica 17:138-143.
- Tjio, J. H., Levan, A. 1950. The use of oxyquinoline in chromosome analysis. - Ann. Bot. Exp. Aula Dei 2:21-62.
- Torres, A. M. 1968. The karyotypes of diploid Cespitose zinnias: a method and analysis. - Amer. J. Bot. 55: 582-589.
- Toyama, S., Kuroki, Y. 1967. /Studies on the karyotypes of forest trees. III. On the chromosomes of some species of the Pinaceae/ (In Japanese) - Rep. Kihara Inst. Biol. Res. No. 19:161-162. (Plant Breeding Abstracts 1969. 39:3501).
- Viinikka, Y. 1970. A comparative study of mitotic and meiotic chromosomes of Aucuba japonica Thunb. - Ann. Bot. Fennici 7:203-211.
- Wakonig-Vaartaja, R., Read, J. 1965. Measurements of Allium cepa chromosomes. - Exp. Cell Res. 38:264-271.
- Winter, J. M. 1929. Some observations on the rate of mitosis in root tip meristems of Gladiolus. - Amer. Microscop. Soc. Trans. 48:276-291.
- Winton, L. L. 1964. Cytotechniques for spruce chromosomes. - Minnesota For. Notes No. 146.
- Wright, J. W. 1962. Genetics of Forest Tree Improvement. Rome.
- Yim, K. B. 1963. Karyotype analysis of Pinus rigida. - Heredity 49:274-276. ^{LS}

- Абрамова, Л. И. 1970. Кариологическая характеристика видов рода *Polygonatum* Mill. - Цитология 12:1334-1333.
- Абрамова, Л. И. 1971. Кариосистематический обзор видов *Polygonatum* Mill. Советского Союза. - Бот. ж. 56:530-543.
- Балодис, В. А. 1963. Некоторые закономерности распределения митозов в кончике корня. - Цитология 10:1374-1383.
- Балодис, В. А. Некоторые закономерности роста и деления клеток в апикальной меристеме корней. - Автореф. канд. дисс., Ленинград.
- Болховских, З. В. и др. 1969. Хромосомные числа цветковых растений. Ленинград.
- Буадуган, И. В. 1971. Кариологическое исследование ячменя (*Hordeum L.*) - Сб. "Цитокариологические исследования злаковых Молдавии", 30-35, Кишинев.
- Вахтина, Л. И. 1964. Кариотипы 20-хромосомных видов лука - *Allium kujukowae* Vved. A. Descriptions Fiesch. - Цитология 6:577-582.
- Вахтина, Л. И. 1965. Сравнительно-кариологическое исследование некоторых видов лука секции *rhiziridium* Don. - Бот. ж. 50:387-394.
- Гаевская, М. Г. 1971. Кариология разнохромосомных видов сорго (*Sorghum L.*) - Сб. "Цито-кариологические исследования злаковых Молдавии", 74-80, Кишинев.
- Гиндишис, В. М. 1966. Митотическая спирализация хромосом и кардиограммный анализ у человека. - Цитология 3:144-157.
- Гриф, В. Г. 1959. О суточной периодичности митозов в меристемах ячменя. - Цитология 1:229-233.
- Гриф, В. Г. 1960. О применении оксидинолина для изучения хромосом. - Цитология 2:83-89.
- Гриф, В. Г., Соболева, Г. И. 1965. Изменения морфологии хромосом, вызванные действием внешних условий. - Бот. ж. 50:109-112.

- Иорданский, А. Б., Павулсоне, С. А., Бадаев, Н. С.
1971. Фенотипическая изменчивость и репродукция спутничных хромосом у *Allium fistulosum*. - Докл. АН СССР 193:215-217.
- Круклис, М. В. 1937. Кариотипический анализ *Larix sibirica Turcz.*. - Тезисы докл. на совещ. по лесн. генет., селекции и семенов., 25-28, Петрозаводск.
- Круклис, М. В. 1971а. Кариологические особенности *Picea obovata Ldb.*. - Лесоведение № 2:78-84.
- Круклис, М. В. 1971б. Добавочные хромосомы у голо-семенных (на примере *Picea obovata Ldb.*). - Докл. АН СССР 193:1213-1216.
- Левитский, Г. А. 1931. Морфология хромосом. - Труды по прикладн. Бот., генет. и селекции 27, вып. 1:19-174.
- Левитский, Г. А. 1934. Фиксационные изменения тела хромосом. - Докл. АН СССР 4:222-224.
- Мовсесян, С. Н. 1970. Суточный ритм митотического деления клеток в корнях пшеницы. - Сб. научн. тр. Арм. отд. Всес. Ботан. о-ва, вып. 5:129-145.
- Мошквич, А. М. 1971. К кариологии рода *Vesale L.* Сб. "Цито-кариологические исследования злаковых Молдавии," 36-50, Кишинев.
- Назарова, Э. А. 1963. К кариологии подсем. *Cichorioidae Kitam.* сем. *Asteraceae* Биол. Н. Армении 21:93-93.
- Немцева, Л. С. 1970. Метафазный метод учёта перестроек хромосом. Москва.
- Николаев, В. А. 1971. Изменчивость кариотипа у сосны обыкновенной с различной структурой корки. - Сб. научн. работ Белорус. НИИЛХ-а, вып. 20: 17-22.
- Орленко, Е. Т. 1970. Анализ кариотипа у некоторых форм ели обыкновенной, произрастающих в лесах БССР. - Сб. "Вопросы генетики и селекции", 234-239, Минск.

- Павулсоне, С. А., Иорданский, А. Б. 1971. Новый способ повышения разрешающей способности карิโอграммного анализа. - Генетика 7, №4:149-153.
- Павулсоне, С. А., Иорданский, А. Б., Гиндилис, В. М. 1970. Сравнительный морфометрический анализ хромосом *Allium scera* L. и *Allium fistulosum* L. - Генетика 6, № 2: 40-55.
- Погосян, А. И. 1965. Анализ кариотипа *Ageranthus umbellatus* L'Herit (Amaranthaceae). - Изв. АН Арм. ССР, биол. науки 13, № 3:90-93.
- Правдин, Л. Ф. 1964. Сосна обыкновенная (*Pinus silvestris* L.). Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция. Москва.
- Правдин, Л. Ф., Шершурова, О. П. 1971. Сравнительный кариологический анализ двух форм ели обыкновенной - *Picea abies* (L.) Karst. f. *euroraea* Terl. u. P. a. f. *deflexa* Turz - Лесоведение № 5:81-85.
- Прокофьева-Бельговская, А. А., Гиндилис, В. М. 1965. Идентификация хромосом человека. - Изв. АН СССР, сер. Биол. 2:188-200.
- Свешникова, Л. И. 1971. Сравнительно-кариологическое исследование рода *Galanthus* L. 11. Сообщение, секция *viridifolii*. - Бот. Ж. 56:282-293.
- Суонсон, К., Мерц, Т., Янг, У. 1969. Цитогенетика. Москва.
- Тутаюк, В. Х., Турчанинова, Л. В. 1970. К кариологии дзельквы граболистной и гледичии настийской в Талыше. - Цитология и Генетика 4:397-401.
- Федоров, В. С., Колобаева, Е. А., Гладышева, Н. М. 1971. Суточные и сезонные изменения митотической активности клеток корневой меристемы у тетраплоидной ржи. - Вестн. Ленингр. ун.-та, № 3:145-153.
- Чеботарь, А., Челак, В., Суружлу, А. 1970. Цитолого-кариологическое исследование хлебных злаков. Кишинев.

- Чешмеджиев, И. В. 1971. К цитосистематике некоторых видов рода *Allium* L. - Бот. ж. 56:662-670.
- Шинниашвили, Р. М. 1963. Кармочик сосны осеновского. - Цитология 10:255-253.
- Шапова, А. И. 1970. Морфология хромосом тетраплоидных видов пшеницы. - Цитология 12:91-101.
- Юркевич, И. Д., Голод, Д. С., Парфенов, В. И. 1967. Формовой состав ели обыкновенной в лесах Белоруссии как исходный материал для селекции. - Тезисы докл. на совещ. по лесн. генет., селекции и семенов., Петрозаводск.
- Юркевич, И. Д., Парфенов, В. И. 1967. К вопросу о систематике *Picea abies* Karst. - Бюлл. Главн. Бот. Сада, вып. 64:41-43.