

<https://doi.org/10.3176/biol.1969.1.04>

Г. ШАНГИН-БЕРЕЗОВСКИЙ, Т. ОРАВ, И. ОРАВ

ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН M_2 γ -ОБЛУЧЕННОГО ЯЧМЕНЯ СОЛЯНОКИСЛЫМ ГИДРАЗИНОМ НА ЧАСТОТУ И СПЕКТР ХЛОРОФИЛЛЬНЫХ МУТАЦИЙ

Анализ частоты и спектра рецессивных хлорофилльных мутаций у ячменя после облучения, а затем предпосевной обработки этиленимином (ЭИ) позволил одному из авторов высказать предположение о развитии мутаций под защитой восстановительных процессов (Шангин-Березовский, 1965а). Предпосевная обработка ЭИ в малых концентрациях предварительно облученных семян при экспозициях, содействующих относительно благоприятному пострadiационному восстановлению, существенно сказывается на выходе рецессивных мутаций (Шангин-Березовский, 1965б). Равным образом частота и спектр хлорофилльных мутаций меняются при обработке ЭИ семян M_2 . В зависимости от напряжения модифицирующего агента (ЭИ) процесс выявления радиационных мутаций перекрывается их элиминацией. Чем выше доза облучения родительского поколения, тем легче выявляются, а с усилением обработки в M_2 быстрее гибнут мутации (Шангин-Березовский, 1965а). Это позволяет думать, что выявление мутаций зависит не от мутагенных или каких-либо исключительных свойств ЭИ, а от возникновения под действием биологически активного соединения подвижного равновесия нарушений и репарации физиологических отравлений клетки. Для растения в целом это в конечном итоге выражается в аномальном развитии (ускорение или, напротив, угнетение роста и развития), одновременно в популяции выявляется больше или меньше мутаций. Чувствительность мутантных семян к воздействию модифицирующего фактора различна: в то время, как одни мутации выявляются, другие уже погибают.

Если развитие и выявление мутаций связано с возникновением в ткани, испытывавшей мутагенное воздействие, относительно благоприятных условий восстановления, т. е. репарации, не ведущей к восстановлению прежней нормы, можно считать, что любые агенты, производящие эффекты «стимуляции»*, должны содействовать появлению большего количества мутаций. Максимум выявлений мутаций должен, очевидно, соответствовать такому напряжению модифицирующего фактора, которое не достигает эффекта максимальной стимуляции, т. е. содействует репарации не в полной мере. Вместе с тем соединение должно быть достаточно биологически активным, чтобы обеспечить развитие и выявление мутантного зачатка в ткани, испытывавшей физиологическое воздействие мутагена. Мутация развивается в ситуации «золотой середины», когда бреши в гомео-

* Повышение процента всхожести, ускорение роста и развития, признаки «гетерозиса».

Таблица 1.

**Количество растений в семьях M_2 после обработки семян M_2
 γ -облученного ячменя солянокислым гидразином**

Доза облучения семян родитель- ского поколе- ния, <i>кр</i>	Концентра- ция гидро- зина, 10^{-6}	Количество растений в варианте	Количество семей в варианте	Среднее число расте- ний на се- мью
0	0	4193	565	7,42
	8	7140	815	8,76
	40	6937	873	7,94
	200	7825	979	7,85
6	0	2586	539	4,99
	8	3178	634	5,01
	40	3190	671	4,75
	200	3190	781	4,28
8	0	2619	563	4,65
	8	3479	686	5,07
	40	2831	637	4,44
	200	4041	841	4,80
В среднем на вариант обра- ботки гидрози- ном (безотноси- тельно к облу- чению)	0	9398	1667	5,63
	8	13797	2135	6,46
	40	12958	2181	5,94
	200	15156	2601	5,82

стазе организма-носителя не дают возможности элиминировать возникшее изменение, а неполное восстановление содействует его развитию. Такой ситуации, несомненно, должны содействовать биологически активные соединения; это положение, как было сказано выше, экспериментально подтверждается при использовании ЭИ для предпосевной обработки семян M_1 и M_2 .

Исходя из этих соображений, в опытах по выявлению радиационных мутаций мы использовали не только ЭИ, но и солянокислый гидразин (ГС), который также является мутагеном, но по эффективности во много раз уступает ЭИ. Вместе с тем, по наблюдениям В. Лысикова (Лысиков, 1966), ГС может оказывать весьма сильное стимулирующее действие на рост и развитие растений.

Предпосевной обработке ГС были подвергнуты семена M_2 , т. е. популяция, заведомо включающая хлорофилльные мутации. Объектом исследования были семена γ -облученного ярового ячменя 'Харьковский 306' исходно харьковской репродукции (M_2 от облучения в дозе 6 или 8 *кр* семян от одно-, двух- или трехкратного выращивания в Эстонии — далее: I, II, III). Семена без обмолота колосьев замачивались в 0,0008, 0,004 и 0,02%-ных растворах ГС (далее: 8×10^{-6} ; 40×10^{-6} ; 200×10^{-6}) при температуре 15°С в течение 14 ч. После этого два часа их промывали в водопроводной воде и высевали в посевные ящики. Опыт был проведен в октябре-ноябре 1967 г., температура в теплице во время прорастания семян колебалась в пределах 2...10°. В опыте учитывали количество проростков (число растений в семьях M_2), процент семей с хлорофилльными мутан-

Таблица 2

Количество растений в семьях M_2 после обработки семян M_2 γ -облученного ячменя разных репродукций гидрозином

Доза облучения родительского поколения, $кр$	Концентрация гидрозиона, 10^{-6}	Посев в Эстонии до облучения					
		однократный		двукратный		трехкратный	
		Количество растений на семью	Коэффициент вариации, %	Количество растений на семью	Коэффициент вариации, %	Количество растений на семью	Коэффициент вариации, %
0	0	6,65±0,28	40,4±4,0	8,17±0,09	18,8±0,9	7,38±0,24	43,3±3,1
	8	8,23±0,21	37,9±2,5	9,27±0,12	26,3±1,1	8,76±0,08	12,7±0,9
	40	6,31±0,18	36,3±2,9	9,28±0,19	40,8±1,9	8,20±0,18	41,5±2,2
	200	5,92±0,13	37,5±2,1	9,76±0,21	43,6±2,1	7,91±0,13	28,9±1,5
6	0	—*	—	5,10±0,25	53,3±4,9	4,80±0,09	38,7±1,7
	8	—	—	5,09±0,25	71,9±5,6	4,79±0,11	49,6±2,4
	40	—	—	4,21±0,18	59,8±4,4	5,11±0,12	54,0±2,6
	200	—	—	4,12±0,19	66,3±5,0	4,48±0,10	51,5±2,3
8	0	2,98±0,22	68,2±8,3	4,86±0,11	32,3±1,9	4,73±0,17	56,9±3,7
	8	4,20±0,24	57,4±6,5	5,94±0,14	45,5±2,5	5,07±0,11	37,3±2,1
	40	3,58±0,21	58,6±6,8	5,06±0,14	48,2±2,8	4,66±0,10	35,6±2,0
	200	5,40±0,13	37,9±2,9	4,79±0,14	44,3±2,5	4,46±0,12	54,9±2,9

* Материал от 6 $кр$ — I был до опыта использован в другом эксперименте.

тами, процент мутантов и уровень изменчивости, учитывающий темп мутирования, скорость размножения мутантных зачатков и спектр хлорофильных мутаций (Шангин-Березовский, 1964).

Как показал опыт, ГС при выбранных концентрациях и экспозиции 14 ч может влиять на всхожесть как контроля, так и γ -вариантов (табл. 1). Минимальная концентрация 8×10^{-6} всегда увеличивала, а концентрации 40×10^{-6} и 200×10^{-6} в большинстве случаев уменьшали количество проростков на колос, т. е. число растений в семье M_2 . Характерно, что отрицательное действие максимальной обработки в контроле не перекрывало положительного эффекта ГС для некоторой фракции семей. Это видно из того, что в конечном итоге число растений в обработанных необлученных вариантах оказывается выше, чем в чистом контроле (без облучения и без обработки). В γ -вариантах за повышением всхожести после обработки ГС концентрации 8×10^{-6} наблюдалось с увеличением концентрации уменьшение количества растений за уровень, характерный для необработанных γ -вариантов (табл. 1). Исключение составил вариант с облучением в дозе 8 $кр$ ($ГС 200 \times 10^{-6}$), что объясняется, очевидно, пост-радиационным отбором и сохранением в M_1 наиболее сильных растений, дающих по сравнению с другими более жизнеспособные семена.

В общем такая же картина выявляется при детальном анализе действия ГС на семена разных репродукций (кратность посева в Эстонии до облучения исходных семян). Данные табл. 1 с учетом репродукции развернуты в табл. 2, где приведены также коэффициенты вариации количества проростков на семью M_2 .

В большинстве случаев ГС в концентрации 8×10^{-6} действительно увеличивает (во всяком случае не уменьшает) количество растений в семье (табл. 2). Увеличение концентрации ГС вызывает уменьшение количества

растений на семью, хотя есть и исключения (контроль—I, 8 кр—II табл. 2). Создается впечатление, что посев харьковского ячменя в измененных условиях производит отбор в исходной популяции и одновременно дифференцирует ее, выделяя в потомстве выживших форм фракции с разной чувствительностью к дальнейшим воздействиям. Максимальная обработка ($ГС\ 200 \times 10^{-6}$) снижает в целом всхожесть в популяции, но вместе с тем выделяет в ней потомство наиболее выносливых растений. В пользу того, что новые экологические условия не только производят отбор, но сказываются на лабильности потомства интродуцированной формы, говорит анализ вариации всхожести по семьям (табл. 2). На самом деле: однократный посев в Эстонии (I) значительно меньше дифференцирует растения, чем повторные посевы (II и III). Обработка ГС несущественно уменьшает вариацию всхожести в контроле—I; при наличии значимых различий можно было бы считать, что ГС выравнивает всхожесть по семьям, т. е. дает направленно положительный эффект. Вместе с тем повторный посев в Эстонии (контроль—II) обнаруживает последствия отбора, прошедшего в предыдущем поколении. Коэффициент вариации оказывается значительно меньше (18,8 против 40,4% при однократном посеве, табл. 2). В то же время контроль—II весьма чувствителен к воздействию ГС: с увеличением концентрации заметно увеличивается разброс в количестве растений на семью (от 18 до 43%, табл. 2). Семена контроля—III еще более чувствительны к обработке ГС, так как наименьшая концентрация (8×10^{-6}) резко уменьшает, а следующая, напротив, увеличивает вариацию, вызывая отбор растений в отдельных семьях. Наибольшая концентрация (200×10^{-6}) сказывается уже на всей популяции, и разброс уменьшается теперь уже за счет повсеместно проходящего отбора (соответственно 43, 12, 41 и 28%, табл. 2).

Разброс для большинства обработанных ГС γ -вариантов заметно превосходит разброс в контроле, так как облучение резко дифференцирует популяцию, увеличивая размах колебаний большинства признаков, в том числе и жизнеспособность потомства в M_2 . Последнее обнаруживает некоторое сходство с соответствующим контролем своей репродукции. Так, как и в контроле—I, обработка ГС материала 8 кр—I приводит к уменьшению коэффициента вариации (табл. 2). Однако сравнение рядов показателей (количество растений на семью и соответствующие коэффициенты вариации) наводит на мысль о негативном действии максимальной концентрации ГС: уменьшение вариации сопровождается увеличением количества растений в семье — очевидным следствием отбора в предыдущем поколении (табл. 2). Эффект репродукции специфически проявляется и в γ -вариантах II и III: после двукратного посева в Эстонии обработка ГС, как и в контроле—II, вызывает увеличение коэффициента вариации, в вариантах III наблюдаются сложные взаимодействия: сначала уменьшение, а затем увеличение разброса по числу растений в семье (табл. 2). Сравнение средних по вариантам и их вариаций позволяет выявить две стороны изменчивости — негативный отбор и подбор растений с разной чувствительностью к последующим воздействиям, в данном случае к обработке ГС.

Несмотря на частные расхождения в реакции вариантов на обработку ГС, общая картина изменчивости указанного признака однозначна. ГС в концентрации 8×10^{-6} увеличивает, а 40 и 200×10^{-6} последовательно уменьшает среднее количество проростков в семьях M_2 . В итоге можно считать справедливым усреднение, приведенное в табл. 1 (эффект ГС безотносительно к репродукции и облучению). Как будет видно ниже, это весьма существенно для обсуждения вопроса о влиянии ГС на мутационный процесс, вызванный облучением.

Таблица 3

Хлорофилльные мутации после обработки семян M_2 γ -облученного ячменя солянокислым гидразином

Посев в Эстонии до облучения																			
однократный								двукратный						трехкратный					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
6	0	—*				—		2	121	1,65	3	613	0,49	10	418	2,39	10	1973	0,51
	8	—				—		3	201	1,49	5	1086	0,46	9	433	2,08	15	2092	0,72
	40	—				—		6	195	3,08	10	801	1,42	37	476	7,78	47	2389	1,97
	200	—				—		10	205	4,88	13	843	1,54	23	516	4,47	34	2347	1,44
8	0	3	80	3,75	4	231	1,73	13	220	5,90	16	1153	1,39	12	263	4,56	14	1235	1,32
	8	5	86	5,80	5	338	1,48	17	326	5,22	24	1843	1,30	15	274	5,48	18	1298	1,38
	40	8	82	9,76	13	280	4,65	13	283	8,13	30	1316	2,28	26	272	9,56	37	1195	3,10
	200	7	150	4,67	8	625	1,28	18	315	5,70	31	1716	1,75	18	376	4,78	28	1651	1,69

Примечание: 1 и 2 — доза облучения родительского поколения, $кр$ и концентрация гидразина, 10^{-6} ; 3, 9 и 15 — количество семей с мутациями; 4, 10 и 16 — число семей в опыте; 5, 11 и 17 — % мутаций; 6, 12 и 18 — количество мутантов; 7, 13 и 19 — число растений в опыте; 8, 14 и 20 — % мутантов.

* См. табл. 2.

В табл. 3 приведены данные о влиянии предпосевной обработки ГС на частоту появления радиационных хлорофилльных мутаций (в контроле мутации отмечены только для контроля—III, 2,32% семей и 0,43% мутантов альбина; обработка ГС не выявила изменений).

Как видно из табл. 3, обработка ГС заметно сказывается как на частоте семей с изменениями, так и на проценте мутантов. Отвлекаясь от конкретных различий, можно сказать, что усиление модифицирующего фактора (от 8 до 40×10^{-6}) приводило к увеличению, а затем (200×10^{-6}) к уменьшению частоты семей с мутантами (табл. 3). Та же закономерность выявляется в большинстве случаев для процента измененных растений. Вместе с тем для некоторых вариантов обработка ГС в концентрации 8×10^{-6} не только не увеличивала, но как будто даже уменьшала выход мутаций (6 $кр$ —II, 6 $кр$ —III, 8 $кр$ —II: 1,49, 2,08, 5,22% против 1,65, 2,39, 5,90%, соответственно, без обработки, табл. 3). В других случаях, например в варианте 8 $кр$ —I, увеличение количества семей с мутациями сопровождалось уменьшением процента мутантов ($ГС 8 \times 10^{-6}$, 200×10^{-6}). Очевидно, что в обработанных семьях развиваются сложные процессы, отражающие разную чувствительность семей и семян к модифицирующим воздействиям. Причиной этого, можно думать, являются сложные взаимодействия факторов репродукции, облучения и обработки ГС. Дисперсионный анализ опытных данных (табл. 4) показал высокий уровень значимости (F_α между 0,05 и 0,01, для облучения — выше 0,001) для всех факторов, кроме фактора репродукции. Наиболее важным при этом оказался факт высокозначимого взаимодействия между облучением (доза) и обработкой ГС, т. е. действительно более высокий уровень изменчивости при обработке одних и вместе с тем уменьшение выхода мутаций при действии ГС на другие γ -варианты (что справедливо как для семей с изменениями, так и для выхода мутантов, табл. 4). В свете этого полученные данные (табл. 3) следует оценивать, исходя из представления о разной чувствительности мутаций к ГС, что связано с их происхождением и, как следствие, с силой («глубиной») мутагенного воздействия

Таблица 4

**Дисперсионный анализ влияния обработки семян M_2
солянокислым гидразином на выход хлорофилльных мутаций**

Объект анализа	Факторы	Сумма квадратов отклонений	Степени свободы	Отношение дисперсий F	Теоретическое отношение F_α	
					0,05	0,01
Семьи с мутациями	Гидразин	596	3	4,39	3,05	4,82
	Облучение	14110	2	155,7	3,44	5,72
	Происхождение*	158	2	1,74	3,44	5,72
	Взаимодействие «гидразин/облучение»	1172	6	4,30	2,55	3,76
	Случайный разброс	931	22			
Мутанты	Гидразин	386	3	10,2	3,05	4,82
	Облучение	4999	2	178,5	3,44	5,72
	Происхождение	32	2	1,3	3,44	5,72
	Взаимодействие «гидразин/облучение»	381	6	5,0	2,55	3,76
	Случайный разброс	277	22			

* Фактор кратности репродукции в Эстонии.

на семена исходного поколения. Как будет видно ниже, кратность предварительного посева в Эстонии имеет все же определенное значение для характера радиационного мутагенеза. Одно из средств, позволяющих оценить эффект мутагенного воздействия — анализ спектра мутаций, формально качественный, однако в известном смысле также количественный анализ, дающий представление о числе «направлений изменчивости». Другим средством может быть анализ уровня изменчивости, определенного по формуле, обобщающей темп мутирования, скорость размножения мутантных зачатков и число направлений изменчивости (Шангин-Березовский, 1964).

Спектр хлорофилльных мутаций в связи с обработкой семян M_2 ГС приводится в табл. 5, которая наглядно обнаруживает влияние репродукции, что не было найдено при анализе мутационного процесса относительно к спектру (табл. 4).

Можно видеть, что обработка ГС в зависимости от кратности посева до облучения в Эстонии выявляет больше или меньше типов хлорофилльных мутаций. В вариантах 6 *кр* (II и III) выявляется соответственно 2 и 5, в вариантах 8 *кр* (I, II и III) — соответственно 3, 4 и 6 типов изменений (табл. 5).

Табл. 5 обнаруживает также эффект дозы облучения родительского поколения: с увеличением дозы спектр изменчивости расширяется. Наконец, можно видеть взаимодействие облучения и обработки ГС: в отличие от вариантов облучения в дозе 6 *кр* спектр мутаций в вариантах начиная с 8 *кр* с усилением обработки ГС вначале расширяется, а затем сужается (табл. 5). Очевидно, при одной и той же концентрации ГС мутации разных дозовых вариантов либо выявляются, либо погибают. Из-за разной чувствительности семян различных вариантов (а также, вероятно, семян, принадлежащих к разным блокам семей, т. е. связанных по происхождению с разными родительскими и пращурными растениями),

Таблица 5

Спектр хлорофилльных мутаций после обработки семян M_2 γ -облученного ячменя солянокислым гидразином

Кратность посева в Эстонии	Доза облучения, кр	Концентрация ГС, 10^{-6}	Типы хлорофилльных мутаций									Количество типов мутаций		
			альбина	виридо-альбина	ксантальбина	виридис	альбовиридис	ксанта-виридис	ксанта	альбо-ксанта	виресценс		стриата	
I	8	0	+			+							2	
		8	+				+						2	
		40	+				+					+	3	
		200	+				+			+			3	
II	6	0	+							+			2	
		8	+										1	
		40	+				+						2	
		200	+				+						2	
	8	0	+		+			+				+		4
		3	+	+			+							4
		40	+				+		+		+			4
		200	+				+		+					2
III	6	0	+										1	
		8	+				+						2	
		40	+	+			+			+			4	
		200	+	+	+	+		+					5	
	8	0	+	+			+							3
		8	+	+			+				+	+		6
		40	+	+	+	+				+	+			5
		200	+				+			+	+			3

выявление мутаций и их отбор с увеличением напряжения модифицирующего агента идут по-разному. Поэтому интерес представляет анализ интегрального эффекта ГС на выявление мутаций в дозовых вариантах и в потомстве облученных растений в целом (сравнение уровня изменчивости по дозо-вариантам и усреднение уровня изменчивости, рис. 1 и 2). На рис. 1 показана зависимость выявления мутаций от обработки ГС-вариантов разных репродукций. Только в одном случае (6 кр—II) уровень изменчивости растет соответственно напряжению модифицирующего фактора. Во всех других случаях выход мутаций с увеличением концентрации ГС вначале резко увеличивается, а затем падает. Сравнивая кривые 1 и 2, а также 4 и 5, можно выявить эффект репродукции. С другой стороны, сравнение кривых 1 и 2 с кривыми 3, 4, 5 наглядно выявляет эффект дозы. Взвешивая уровни изменчивости на каждую точку кривой с учетом дисперсии (Урбах, 1964), мы, исходя из сходного характера большинства кривых, можем вычислить средний эффект ГС безотносительно к репродукции и дозе облучения. На рис. 2 на шкалу абсцисс (концентрации ГС) нанесены усредненный уровень изменчивости и кривая зависимости числа растений в усредненном γ -варианте от обработки

ГС. Кривые иллюстрируют как бы некоторый «сдвиг по фазе»: увеличению растений в семье не соответствует максимальный выход мутаций. Напротив, наиболее высокий уровень изменчивости соответствует той концентрации ГС, которая производит уже некоторый отбор в семьях (или, что также вероятно, не является максимально благоприятной для стимуляции прорастания более слабых семян). Рис. 2, таким образом,

возвращает нас к высказанному выше положению о выявлении мутаций при условиях не оптимальных, а лишь относительно благоприятных для репарации.

Полученные данные показывают, что в среднем, кроме максимальной концентрации, ГС при экспозиции 14 ч не производит существенного негативного отбора. Поэтому воз-

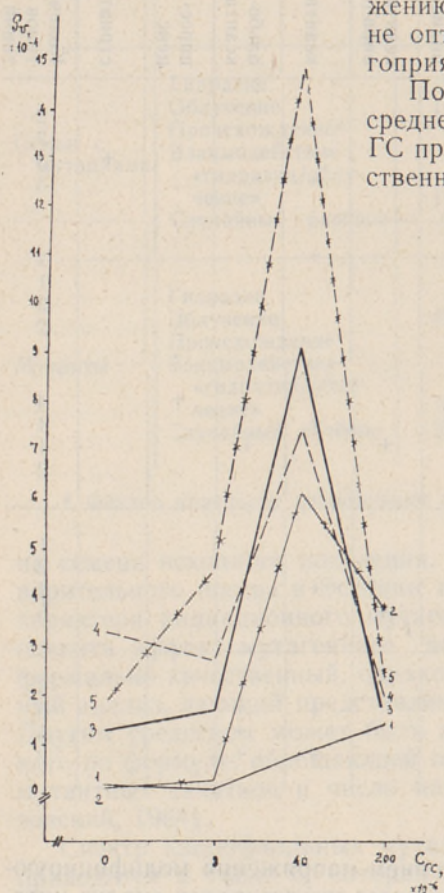


Рис. 1. Уровни изменчивости γ -облученного ячменя разных репродукций в M_2 после обработки семян M_2 солянокислым гидразином. P_V — уровень изменчивости, $C_{ГС}$ — концентрация гидразина; 1 — 6 кр. двукратный посев в Эстонии; 2 — 6 кр. трехкратный посев; 3, 4 и 5 — 8 кр. одно-, дву- и трехкратный посев в Эстонии до облучения.

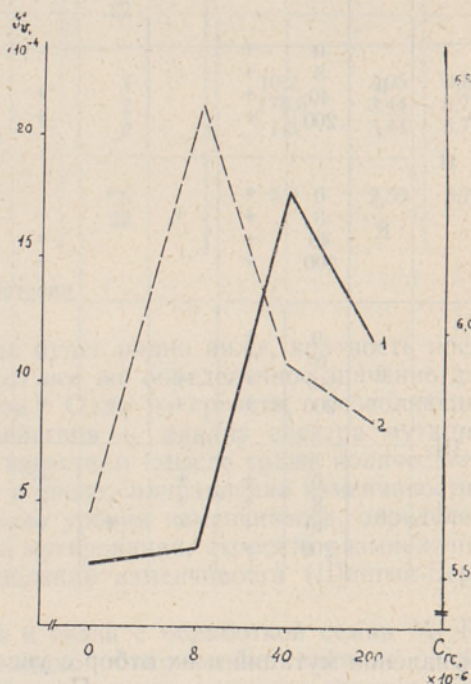


Рис. 2. Усредненный эффект обработки солянокислым гидразином семян γ -вариантов, показанных на рис. 1; 1 — уровень изменчивости, 2 — среднее число растений в семье M_2 . Обозначения те же, что и на рис. 1.

растание уровня изменчивости при концентрации 40×10^{-6} не может быть объяснено как относительное возрастание за счет гибели части растений в популяции. Как видно из данных табл. 1 и кривых на рис. 2, уменьшение числа растений в семье не может объяснить столь резкое повышение уровня изменчивости. Кроме того, весьма вероятно, что негативный отбор в первую очередь захватывает именно мутантные хлорофилл-недостаточ-

ные растения. Наконец, выявление мутаций после обработки семян M_2 ГС не может быть связано с мутагенными свойствами этого соединения. Этому противоречит характер кривых (рис. 1), где имеет место зависимость не от концентрации ГС, а от дозы облучения и репродукции семян.

Очевидно, при выбранных концентрациях и экспозиции 14 ч ГС является не мутагеном, вызывающим доминантные хлорофилльные мутации, а модифицирующим агентом, выявляющим (прямо или косвенно, через негативный отбор) рецессивные мутации, возникшие после облучения. Так же, как этиленмин, ГС существенно влияет на уровень изменчивости, заданный предшествующими воздействиями.

Полученные данные позволяют рассматривать проведенный опыт как модельный, приближающий нас к пониманию естественного мутационного процесса. Очевидно, что развитие и выявление мутации определяется не только мутагенным воздействием, но также предшествующими и последующими влияниями. В общем плане к нашему исследованию применимо мнение У. Готшалка и Ф. Мюллера (Gottschalk, Müller, 1964) о том, что обычно летальные мутанты могут при изменении условий выращивания выживать и давать потомство. Присовокупив собственные наблюдения о возможности появления или исчезновения мутантного эффекта в ходе онтогенеза*, мы приходим к весьма неожиданному суждению. В популяции, испытавшей мутагенное воздействие, могут существовать внешне нормальные, но фактически мутантные растения. Не исключена возможность, что они способны давать сходное с ними потомство, и характерный, фенотипически мутантный эффект обнаружится не во втором, а в более отдаленных поколениях. Этим, в частности, могут быть объяснены случаи «продленного мутагенеза» и появление хлорофилльных мутаций в M_3 и M_4 в линиях, не выщеплявших мутации в M_2 (собственные наблюдения; D'Amato, 1962). Таким образом, мутация и ее видимое проявление связаны во времени, но не столь очевидно могут обнаруживать эту связь в пространстве. Весьма вероятно, что любое появление (выявление) мутации связано с теми или иными модифицирующими воздействиями. Не случайно, вероятно, спонтанные хлорофилльные мутации появляются в контроле не каждый год, и процент их, в зависимости от сезона, различен. Это справедливо также для индуцированных мутаций (Heslot и др., 1961). Отсюда следует, что мутация — не только *de facto* новая наследственная норма. Более важно то, что мутация — это опосредованный модифицирующими воздействиями процесс, развитие от инициального изменения к новому фенотипу.

Выводы

1. Предпосевная обработка семян ячменя, несущих радиационные хлорофилльные мутации, 0,004—0,02%-ными растворами ГС существенно влияет на выход хлорофилльных мутаций. 14-часовая обработка 0,004%-ным ГС в несколько раз увеличивает уровень изменчивости, эффект 0,02%-ного ГС уступает эффекту 0,004%-ного, но значительно превосходит выход мутаций без модифицирующего воздействия.

2. Повышенный уровень изменчивости после обработки семян ГС не может быть объяснен его мутагенной активностью. Этому противоречит отсутствие мутаций в обработанном контроле и характер кривых измен-

* Эффекты альбина у внешне нормальных растений начиная со второго или третьего листа; эффекты виридис и ксанта начиная со второго листа. С другой стороны, эффект виресценс и полная репарация к фенотипической норме у некоторых мутаций виридис и стриата.

чивости в обработанных γ -вариантах. При выбранных концентрациях от 0,0008 до 0,02% ГС при обработке в течение 14 ч может быть только модификатором, выявляющим у ячменя индуцированные прежде рецессивные мутации.

3. Обработка семян ГС в концентрации 0,0008% стимулирует увеличение числа растений в семьях M_2 , однако максимальная всхожесть не совпадает с максимумом выявления мутаций. Это подтверждает высказанное нами в прежних работах положение о том, что мутации развиваются и выявляются не при максимально, а при относительно благоприятных условиях постмутативной репарации.

4. Использование биологически активных соединений, в частности ГС, при предпосевной обработке семян, несущих индуцированные мутации, перспективно для выявления фонда скрытой без обработки изменчивости.

ЛИТЕРАТУРА

- Лысиков В. Н., 1966. Использование ионизирующих излучений и некоторых химических веществ для формирования исходного материала при селекции кукурузы. Картя молдовеняске, Кишинев.
- Урбах В. Ю., 1964. Биометрические методы. Наука, М.
- Шангин-Березовский Г. Н., 1964. Способы количественного анализа изменений, возникающих после действия ионизирующей радиации. Изв. АН СССР, сер. биол. (6) : 852—859.
- Шангин-Березовский Г. Н., 1965а. Частота и спектр хлорофильных мутаций после обработки этиленимином семян второго поколения γ -облученного ячменя. Изв. АН СССР, сер. биол. (6) : 859—870.
- Шангин-Березовский Г. Н., 1965б. Действие этиленимина на развитие и изменчивость облученного нейтронами ячменя при посеве его в различных экологических условиях. В сб.: Действие ионизирующих излучений на растительный и животный организм : 69—80. М.
- D'Amato F., 1962. Radiation and chemically induced mutations in durum wheat. Symp. on genetics and wheat breeding. Agr. Res. In-t of the Hung. Acad. Sci. June 1962 : 243.
- Gottschalk W., Müller F., 1964. Quantitative Pigmentenuntersuchungen an strahleninduzierten Chlorophyllmutanten von *Pisum sativum*. I. Die Lethalmutanten. *Planta* 61 (3) : 259.
- Heslot H., Ferrary R., Levy R., Monard C., 1961. Induction de mutations chez l'orge: efficacité relative des rayons gamma, du sulfate d'éthyle, du méthane sulfonate d'éthyle et de quelques autres substances. In: Effects ionizing radiations on seeds: 243. Vienna.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
11/XII 1967

G. SANGIN-BEREZOVSKI, T. ORAV, I. ORAV

γ -KIIRTEGA KIIRITATUD ODRA M_2 SEEMNETE KÜLVIEELSE SOOLHAPPELISE HÜDRASIINIGA TÖÖTLEMISE MÕJU KLOROFÜLLMUTATSIOONIDE SAGEDUSELE JA SPEKTRILE

Resümee

Suviadra 'Harkovi 306' seemneid, mida Põhja-Eesti tingimustes oli kasvatatud ühe, kahe või kolme aasta jooksul, kiiritati Co^{60} γ -kiirtega (doosid 6 ja 8 kr) ning kiiritatud taimedest saadud mutatsioonipopulatsiooni seemneid töödeldi enne külvi 14 tunni vältel soolhappelise hüdrasiini vesilahusega (0,0008-, 0,004- ja 0,02%-lised kontsentratsioonid). Klorofüllmutatsioonide esinemissagedus tõusis hüdrasiini toimel oluliselt, eriti 0,004%-lise

konsentratsiooni puhul, kus see ületas töötlemata populatsiooni muutlikkuse mitmekordselt. Mõnevõrra vähema efekti andis 0,02%-line lahus, tunduvalt vähem 0,0008%-line, kuid ka sel juhul ületas muutuste sagedus suuresti töötlemata populatsiooni mutatsioonide esinemissageduse. Kiiritamata materjalis ei kutsunud hüdrasiin mutatsioone esile, s. t. sellel ühendil puudub iseseisev mutageenne toime ning ta toob esile ainult peitelisi muutusi.

Hüdrasiini stimuleeriva toime maksimum (0,0008%) ei lange kokku mutatsioone «ilmutava» toime maksimumiga, mis kinnitab arvamust, et mutatsioonid arenevad ja tulevad ilmsiks tingimustes, mis ei lange otseselt kokku maksimaalse kiiritusjärgse taastumisega.

Soolhappelise hüdrasiini kiirgusmutatsioonide ilmsikstulekut modifitseeriv aktiivsus on analoogiline efektiga, mis saadakse seemnete töötlemisel nõrga etüleenimiinilahusega. Bioloogiliselt aktiivsete ühendite, näiteks hüdrasiini kasutamisel täieliku indutseeritud muutlikkuse väljaselgitamiseks on suured perspektiivid.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
11. XII 1967

G. SHANGIN-BEREZOVSKY, T. ORAV, I. ORAV

THE INFLUENCE OF A PRESOWING TREATMENT OF γ -IRRADIATED M_2 BARLEY SEEDS WITH HYDROCHLORIC HYDRAZINE ON THE FREQUENCY AND SPECTRUM OF CHLOROPHYLL MUTATIONS

Summary

M_2 barley seeds of the 'Khar'kov 306' variety of different origin, irradiated in M_1 with Co^{60} γ -rays (doses 6 and 8 kr) were treated with 0.0008, 0.004 and 0.02 per cent aqueous solutions of hydrochloric hydrazine during 14 hours. The output of chlorophyll mutations increased considerably under the action of hydrazine. In the case of a 0.04 per cent hydrazine solution, the level of the mutability was several times higher as compared with the untreated population. The effect of a 0.02 per cent solution was found to be somewhat lower, but it was considerably higher than that of a 0.0008 per cent solution, the effect of the latter in its turn being higher than the mutations in the untreated population.

Hydrazine does not give rise to mutations in a non-irradiated material, i. e. hydrazine itself has no mutagenic effect but only reveals latent mutations. The maximum of the stimulation of hydrazine (0.0008 per cent) does not coincide with the upper limit of the "revelation" effect, which confirms the assumption that mutations preferably are developed and revealed under the conditions disagreeing with the maximum post-irradiation rehabilitation.

The modifying activity of hydrochloric hydrazine in respect of a "revelation" of irradiation-induced mutations is analogous to the effect of low concentrations of ethyleneimine.

The use of the biologically active compounds, especially hydrochloric hydrazine is prospective for a complete study of induced mutability.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Dec. 11, 1967