

Ген ШАНГИН-БЕРЕЗОВСКИЙ, Тойво ОРАВ

ВЛИЯНИЕ АЛЬФААМИЛАЗЫ И СОЛОДА НА РЕАЛИЗАЦИЮ ВЫЗВАННЫХ ЭТИЛЕНИМИНОМ ХЛОРОФИЛЬНЫХ МУТАЦИЙ

Биологически активные соединения и, можно думать, любые вещества, меняющие в определенной ситуации течение онтогенеза, существенно влияют также и на выход мутантных растений. Такой вывод возможен в результате опытов, проведенных на семенах, полученных от растений, подвергнутых облучению или действию химических мутагенов, с воздействием слабыми дозами различных мутагенов или не очевидно мутагенными веществами, например, сланцевым ростовым веществом (СРВ) (Орав, Орав, 1971; Орав и др., 1972).

Для всех соединений, выбранных нами в качестве агентов, модифицирующих заданный мутационный процесс (малые дозы этиленимина, диметилсульфата и гидразинхлорида, СРВ), известно стимулирующее либо угнетающее действие на развитие растений. Эти эффекты имеют место и в комбинированном мутагенезе, например, защитно-терапевтическое действие малых доз этиленимина на гамма-облученные семена, стимуляция прорастания семян γ_2 и γ_3 гидразинхлоридом (Орав и др., 1972; Шангин-Березовский и др., 1973).

Наш опыт показывает, что выход и спектр мутаций, заданных предшествующими воздействиями, изменяется не только при дополнительном действии на M_1 , но и при действии на M_2 и M_3 . Это создает впечатление, что эффект биологически активных веществ связан в одних случаях с постмутагенной репарацией (M_1), а в других (M_2 и далее) — связан только со стимуляцией прорастания мутантных семян.

Можно, конечно, спорить, не является ли такая стимуляция продленным постмутагенным восстановлением. Суть проблемы выявления мутаций, очевидно, в другом: какой процесс при действии модифицирующего агента является главным — отбор-подбор чувствительных к воздействию мутантных растений или непосредственное изменение пенетрантности мутантного признака? Очевидно, что в первом случае мы имеем дело с кажущимся выявлением мутаций, и только во втором случае оно является истинным.

Далее, важно то обстоятельство, что разные по существу химические соединения (сульфаты, мочевины, гидразины, имины и т. д.) вызывают весьма сходный в смысле выявления мутаций эффект. Это наводит на мысль, что в основе его лежат не некие уникальные свойства выбранных агентов, а специфическая реакция клетки, испытавшей до этого мутагенное воздействие, а в дальнейшем в виде клетки или организма проходившая постмутагенное восстановление. Можно предположить, что к выявлению мутации имеют в конечном счете отношение собственные метаболиты клетки и ткани — эндогенные биологически активные вещества.

Напрашивается мысль о возможности влияния на ход мутационного процесса, используя не только те или иные биологически активные синтетики, но и естественные продукты обмена, в частности ферменты.

В пользу этого свидетельствует и тот факт, что стимуляция развития, с которой, на наш взгляд, тесно связано формирование, выживание и реализация мутаций, может быть вызвана действием на семена ячменя и других злаков их же активированных ферментов (солода — Мокин, 1956; Шидловская, 1958). Если опыт покажет активность ферментов ячменя в отношении выхода у него мутаций, заданных мутагенами, можно, используя посемейный анализ, выяснить и другой существенный вопрос: истинным или фиктивным является эффект выявления мутаций.

Для этих целей были использованы семена M_2 от действия на яровой ячмень сорта 'Харьковский 306' 0,01%-ного раствора этиленimina (обработка в течение 24 дней при температуре $2 \pm 1^\circ C$ со сменой мутагена).

Существенным моментом опыта было то, что его основу составили экспериментальные линии (потомства отдельных растений); при этом перед обработкой мутагеном колосья делили на две части, одна из которых служила в дальнейшем контролем. Хотя в пределах номера (группа половинок колосьев, принадлежавших одной линии) семьи были обезличены, все же такой подход давал возможность строго маркировать эффекты воздействия в отношении потомства исходно разных растений*.

Перед посевом семена M_2 были обработаны водными растворами солода и альфаамилазы**. Вытяжку солода (настой при 20° в течение 2 ч) и альфаамилазу использовали для обработки из расчета соотношения объемов зерна и раствора 1:1 и активности по альфаамилазе (в том числе и амилазе солода) около 80 условных единиц. Такая активность соответствует 2—4-кратному превышению максимального содержания альфаамилазы в зернах ячменя на 6—7-й день проращивания при низкой температуре.

Температура обработки семян M_2 ферментами была $15—17^\circ$. Время обработки 6 ч. После воздействия семена промывали в течение 10—15 мин в проточной воде и высевали в поле. Посев был проведен на двух агрофонах — нормальном и ухудшенном (последний с сильно уплотненной почвой).

В опыте учитывали всхожесть M_2 и частоту хлорофильных мутаций. Результаты анализа приводятся в таблицах.

Как видно из табл. 1, на нормальном агрофоне все три вида воздействия (солод, обогащенный альфаамилазой, солод и амилаза отдельно) существенно повысили всхожесть семян. При этом эффект стимуляции прорастания был для контроля и опыта различным: в контроле эффект оказался больше при раздельном, а в M_2 — при совместном действии ферментов. При посеве на уплотненной почве различия между контролем и M_2 проступили еще более заметно, но только контрольные семена обнаружили эффект стимуляции прорастания, а в вариантах M_2 действие ферментов уменьшило прорастание (табл. 1).

Полученные данные указывают на то, что эффект воздействия нельзя рассматривать в отрыве от предшествующих и следующих за ним воздействий. В этом смысле полученные данные подтверждают найденное нами в двух опытах «дистанционное» влияние условий выращивания

* Данные по всхожести, развитию и выживанию M_1 являются предметом другого сообщения.

** Солод и альфаамилаза получены из Всесоюзного института пивоваренной и безалкогольной промышленности. Авторы приносят искреннюю благодарность группе сотрудников указанного института во главе с Н. В. Покровской за предоставление ферментов и консультации по методике опыта.

Таблица 1
 Процент всхожести семян в зависимости от воздействия ферментами на M_2 и от агрофона (уплотненность почвы)

Варианты опыта	Агрофон					
	Нормальный			Ухудшенный		
	Посеяно семян M_2	Процент всхожести	Разница между опытом и конт-ролем	Посеяно семян M_2	Процент всхожести	Разница между опытом и конт-ролем
M_2 от воздействия эти- ленинином	8457	78,81±0,44		4402	44,97±0,75	-5,91
	8008	83,62±0,41	+4,81	5086	39,06±0,68	-3,70
	7778	81,38±0,45	+2,57	4046	41,27±0,77	-1,36
	7670	81,92±0,44	+3,11	5393	43,61±0,68	
Контроль	9797	84,68±0,36		4042	46,93±0,79	+10,49
	10 044	85,67±0,35	+0,99	4334	57,42±0,76	+12,43
	7205	88,82±0,37	+4,14	3490	59,36±0,83	+9,93
	8138	89,26±0,37	+4,58	3897	56,86±0,79	

Примечание. В табл. 1 и 2 значимые на уровне $p \geq 0,95$ различия между опытными вариантами и контролем подчеркнуты.

Таблица 2

Уровень изменчивости по выходу хлорофильных мутаций после действия ферментов на семена M_2 ячменя (M_1 от действия этиленмина, в M_2 действие α -амилазы (α) и солода (с))

Агрофон	M_2/K_2	Варианты опыта	Семей M_2 в опыте	Возло растений в M_2	Мутации		Мутанты		Количество типов мутаций	Уровень изменчивости $P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-5}$	
					Семей с мутациями	%	Количество мутантов	%			
Нормальный	M_2	Без обработки	1022	6665	120	$11,74 \pm 1,02$	163	$2,44 \pm 0,19$	11	286,5	
		$\alpha + c$	1034	6697	186	$17,98 \pm 1,20$	227	$3,38 \pm 0,22$	10	607,7	
		α	907	6330	139	$15,32 \pm 1,20$	179	$2,82 \pm 0,21$	14	432,0	
	Контроль	Без обработки	866	8297	7	$0,80 \pm 0,30$	7	$0,08 \pm 0,03$	3	0,64	
		$\alpha + c$	879	8605	14	$1,59 \pm 0,41$	20	$0,23 \pm 0,05$	7	3,66	
		α	633	6400	8	$1,26 \pm 0,46$	9	$0,14 \pm 0,05$	4	1,80	
	Ухудшенный	M_2	Без обработки	731	7264	16	$2,18 \pm 0,53$	21	$0,28 \pm 0,06$	3	6,10
			$\alpha + c$	472	1980	40	$8,47 \pm 1,28$	52	$2,62 \pm 0,36$	4	22,19
			α	556	1987	56	$10,07 \pm 1,28$	62	$3,12 \pm 0,39$	6	31,42
Контроль		Без обработки	617	1670	32	$13,34 \pm 1,67$	45	$2,69 \pm 0,40$	6	35,88	
		$\alpha + c$	347	2352	64	$10,37 \pm 1,23$	74	$3,14 \pm 0,33$	8	32,56	
		α	406	1897	5	$1,44 \pm 0,65$	5	$0,26 \pm 0,12$	3	3,74	
Усреднение без учета агрофона		Без обработки	367	2489	1	$0,20 \pm 0,20$	1	$0,04 \pm 0,01$	1	0,08	
		$\alpha + c$	325	2216	0	0	0	0	0	0	
		α	1494	8645	2	$0,60 \pm 0,43$	5	$0,22 \pm 0,03$	1	1,32	
Контроль	Без обработки	1590	8677	160	$10,70 \pm 0,80$	215	$2,48 \pm 0,16$	6	265,36		
	$\alpha + c$	1324	8000	242	$15,22 \pm 0,90$	289	$3,33 \pm 0,19$	8	506,83		
	α	1578	8636	171	$12,91 \pm 0,92$	224	$2,80 \pm 0,18$	6	361,48		
Контроль	Без обработки	1213	10194	206	$13,05 \pm 0,84$	250	$2,89 \pm 0,18$	8	377,14		
	$\alpha + c$	1285	11094	12	$0,98 \pm 0,28$	12	$1,18 \pm 0,10$	3	11,56		
	α	1000	8742	15	$1,16 \pm 0,30$	21	$0,18 \pm 0,12$	2	2,09		
Контроль	Без обработки	1056	9480	8	$0,80 \pm 0,28$	9	$0,10 \pm 0,10$	1	0,80		
	$\alpha + c$	1056	9480	18	$1,70 \pm 0,39$	26	$0,27 \pm 0,17$	1	4,50		

предков и потомков M_1 на всхожесть и выявление мутаций в M_2 и далее (Орав и др., 1972; Шангин-Березовский и др., 1972; Шангин-Березовский, 1973; Шангин-Березовский и др., 1973). Кроме того, эти результаты указывают, что различная в принципе чувствительность семян M_2 и контроля к последующим воздействиям может конкретно реализоваться по-разному: за воздействием может последовать как прорастание семян, так и отрицательный отбор.

Результаты анализа на выявление хлорофильных мутаций приведены в табл. 2. Как по числу семей с изменениями, так и по частоте мутантных растений обработка ферментами сказалась на выходе мутаций. Интересно, что некоторое количество мутаций появилось и без обработки, т. е. в контроле. Возможно, это результат аномальных условий лета 1972 г. с необычно высокой для наших широт средней температурой. Что касается эффекта выявления мутаций, то он был значим для большинства вариантов воздействия как в опыте, так и в контроле на обонх агрофонах. Судя по уровню изменчивости (P_{af} ; табл. 2), относительный эффект выявления в контроле был выше, чем в материале M_2 . В целом можно сказать, что действие ферментов обеспечивало не менее чем полуторное-двукратное увеличение выхода мутаций.

Табл. 2 показывает также некоторое расширение спектра мутаций после действия ферментов как на M_2 , так и на контрольные семена. Это превышение следует считать существенным, так как после обработки выявлялись такие мутации, которых не было без воздействия ферментов: *striataviridis*, различные формы *virescens* и *maculata*, разновидности *albina* с необычным распределением антоциановой окраски и т. д. Кроме того, в варианте с действием солода, обогащенного амилазой, обнаружено заметное количество семей с двумя и даже с тремя видами мутаций. Таким образом, следует считать, что обработка ферментами расширила и спектр хлорофильных мутаций.

Уровень изменчивости при посеве на ухудшенном агрофоне оказался значительно ниже. Это, казалось, можно связать с пониженной всхожестью семян на плотной почве (исходя из допущения, что в первую очередь должны погибать мутантные проростки и семена). Однако детальный анализ обнаружил иное. Сравнивая данные табл. 1 и 2, выясняется, что на плохом агрофоне всходит относительно меньше растений M_2 и больше контрольных. В то же время уровень изменчивости после действия ферментов в M_2 растет, а в контроле на низком агрофоне падает. Налицо, таким образом, отрицательное взаимодействие: знак эффекта по выходу мутаций и по прорастанию семян на ухудшенном агрофоне для действия ферментов оказался разным. Это напоминает то, что наблюдалось в предыдущих опытах: исчезновение мутаций не обязательно связано с отрицательным отбором — мутации могли быть блокированы действием модифицирующих агентов, а в дальнейшем быть выявлены вновь (Орав и др., 1972). Нечто подобное, вероятно, имело место и в контроле данного опыта для спонтанных мутаций.

Противоречие данных по всхожести и выявлению мутаций на ухудшенном агрофоне заставляет тщательно проанализировать соответствие всхожести и уровня изменчивости не только по вариантам обработки семян ферментами, но и в пределах экспериментальных линий (номеров или блоков семей, связанных в происхождении с каким-либо из исходных предковых растений).

Табл. 3 показывает, в какой мере повышенный или пониженный после обработки семян ферментами уровень изменчивости соответствует изменению всхожести. Весь материал опыта был разделен по линиям на сопряженные пары — номера, в которых увеличению или уменьшению

Таблица 3

Степень соответствия изменения всхожести и выхода мутаций после воздействия ферментами на линии M_2
(предпосевная обработка ферментами семян M_2 и выход хлорофильных мутаций)

Вариант воздействия на M_2	Количество линий M_2	Количество «нормальных» линий M_2^*		% соответствия изменения всхожести и выхода мутаций (мутантов)	% линий с сопряженными парами «всхожесть-мутации (мутанты)»								
		по выходу мутаций	по выходу мутантов		нормальные пары			аномальные пары					
					»	«	»	»	»	»			
α -Амилаза	66	33	32	$50,0 \pm 6,2$	34,8	13,6	1,5	12,1	7,6	13,6	9,1	6,1	1,5
α -Амилаза + солод	84	39	37	$48,3 \pm 6,1$	34,8	12,1	1,5	9,1	9,1	16,7	9,1	6,1	1,5
				$47,0 \pm 5,5$	36,1	10,8	0,0	9,6	6,0	20,5	6,0	4,8	6,0
				$44,5 \pm 5,5$	30,1	10,8	3,6	9,6	12,0	19,3	7,2	3,6	3,6
				$37,3 \pm 5,3$	27,1	8,6	1,5	23,7	3,4	18,7	6,8	3,4	6,8
Солод	59	22	25	$42,4 \pm 5,4$	28,9	11,9	1,5	18,7	6,8	15,3	6,8	5,1	5,1

* «Нормальной» считалась линия, в которой воздействие ферментами приводило одновременно к повышению (понижению) всхожести и увеличению (уменьшению) выхода мутаций и мутантов.

Знаками \gg , \ll , \leq и т. д. обозначено увеличение всхожести и выхода мутаций, уменьшение всхожести и выхода мутаций, уменьшение всхожести при неизменном количестве мутаций и т. д. (то же и в отношении выхода мутантов).

всхожести соответствовало увеличение или уменьшение выхода мутаций, и случаи, когда обработка ферментов не оказала влияния на всхожесть и выход мутаций, обозначены как «нормальные» пары. Те номера, в которых имело место отрицательное взаимодействие, были названы «аномальными» парами (табл. 3).

Как можно видеть из таблицы, по всем вариантам воздействия ферментами имеет место значительное (более 50%) количество аномальных пар. Обобщенный результат анализа позволяет выделить различия в эффекте обработки ферментами: меньше всего соответствия всхожести и выявления мутаций имеют место для вариантов воздействия солодом, больше всего нормальных пар появляется при обработке семян альфа-амилазой. Учитывая то, что солод представляет источник не одного, а ряда необходимых для развития семени ферментов, приходится заключить, что именно с этим, а не с изменениями всхожести может быть связано выявление мутаций. Таким образом, создается впечатление, что выявление мутаций после обработки семян ферментами является не фиктивным (отбор-подбор через изменение всхожести), а истинным.

Таблица 4

Коэффициенты корреляции всхожести и выхода мутаций после действия ферментов на семена M_2

Вариант воздействия	Количество пар сравнения	r		r_a^*	
		Мутации	Мутанты	05	01
α -Амилаза + солод	66	0,212	-0,316	0,234	0,308
α -Амилаза	84	0,343	-0,025	0,219	0,288
Солод	59	0,259	-0,021	0,253	0,333
Без обработки	83	0,084	-0,032	0,219	0,288

* По: Урбах, 1964; r не значим при $r \leq r_{05}$ и значим при $r \geq r_{01}$.

Дополнительным свидетельством в пользу такого вывода может быть результат корреляционного анализа в пределах указанных выше нормальных и аномальных пар. В табл. 4 приведены данные по вариантам воздействия, из которых можно видеть, что корреляция между всхожестью и выходом мутаций в указанном опыте не является доказанной.

В самом деле, лишь в варианте воздействия альфаамилазой по выходу мутаций и в варианте воздействия обогащенным амилазой солодом по выходу мутантов имеет место превышение значения коэффициента корреляции над табличным $r_{0,1}$ (табл. 4). Интересно, что выход мутантов во всех случаях обнаруживает тенденцию статистического взаимодействия со всхожестью: коэффициенты корреляции для мутантов отрицательны. Вместе с тем следует сказать, что было бы неправильно вообще отрицать связь между всхожестью и выявлением мутаций: таблица показывает, что в целом в отношении семей с мутациями коэффициенты корреляции после воздействия ферментами оказываются выше, чем без обработки. В итоге следует отметить, что истинное выявление мутаций после ферментов дополняется тенденцией к фиктивному их выявлению (изменение уровня изменчивости, связанное с соответственным изменением всхожести).

Полученные данные не позволяют сделать окончательный вывод о соотношении роли отбора и истинного выявления в наших опытах по влиянию биологически активных веществ на выход мутаций, заданных предшествующими воздействиями. Для этого вывода надо провести анализ

не только в пределах вариантов воздействия и в пределах блоков семей — необходимо проведение опыта на половинках индивидуально маркированных колосьев. При допущении или доказательстве, что колос происходит инициально из одной клетки, такой опыт мог бы дать более точное суждение о роли отбора, вызванного стимулятором, в последующем выявлении мутаций.

Подводя итог проведенному исследованию, следует обратить внимание на тот факт, что в опыте оказался весьма эффективным такой фермент, как альфаамилаза. Известно, что этот фермент не имеет отношения ни к синтезу или обмену белка, ни к ДНК во всех аспектах ее существования (кроме, разумеется, синтеза самого фермента). Альфаамилаза гидролизует крахмал, правда, количественно ее роль довольно заметна: меняется состояние примерно 60% веса семени. В нашем опыте амилаза начала поступать в клетки в самом начале намачивания семян, другими словами, то, на что обычно тратится энергия и вещества зародыша и эндосперма, в данном случае было предоставлено мутантным растениям «авансом». Маловероятно, что за 6 ч намачивания вся совокупность ферментов солода или хотя бы вся альфаамилаза были поглощены из раствора зерном (в этом смысле избыточное по расчету количество фермента было задано в среде с единственной целью обеспечить некоторый градиент для поступления в клетки). Тем не менее, как можно было видеть из опыта, и солод, и чистая альфаамилаза оказали весьма сильное влияние на выявление мутаций — как индуцированных в опыте, так и спонтанных в контроле.

Выводы

1. Предпосевная обработка семян M_2 ячменя, испытывавшего в первом поколении опыта действие химического мутагена, ферментами ячменного зерна — солодом, а также альфаамилазой существенно влияет на реализацию рецессивных хлорофильных мутаций. Действие ферментов эффективно как в отношении частоты семей с мутациями, так и в отношении частоты мутантов в семьях.

2. Стимуляция ферментами прорастания семян и выход мутаций после обработки семян ферментами не имеют существенной корреляционной связи. Из этого следует вывод, что выявление мутаций после обработки мутантных семян биологически активными веществами (ферменты) связано не столько с положительным действием отбора, сколько с непосредственным действием ферментов на пенетрантность мутировавшего гена.

ЛИТЕРАТУРА

- Мокин Н. Н., 1956. Предпосевное обогащение семян. М.
- Орав Т., Орав И., 1971. Об изменении пенетрантности индуцированных хлорофильных мутаций при помощи биологически активных веществ. Изв. АН ЭССР. Биол. 20 (2) : 159—167.
- Орав Т., Шангин-Березовский Г., Орав И., 1972. Радиационный мутагенез и модифицирующие его условия. Таллин.
- Шангин-Березовский Г., 1973. Мутагенез как функция развития носителя мутаций. В сб.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций. Вильнюс: 109—118.
- Шангин-Березовский Г., Орав Т., Питиримова М., Никифорова И., 1972. Пролонгированное действие мутагенов при относительно низкой температуре обработки семян. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала. М. : 129—134.

- Шангин-Березовский Г., Прийлинн О., Орав Т., 1973. Различная чувствительность хлорофильных и нехлорофильных мутаций к постмутационному действию гидразинхлорида. Изв. АН ЭССР. Биол. 22 (2) : 132—140.
- Шидловская И. Л., 1958. Предпосевная обработка семян. В сб.: Итоги науки. Биол. науки 2 : 368—382.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
4/I 1974

Gen SANGIN-BEREZOVSKI, Toivo ORAV

ALFAAMÜLAASI JA LINNASELEOTISE MÕJUST ETÜLEENIMIINIGA INDUTSEERITUD KLOROFÜLLMUTATSIOONIDE REALISEERUMISELE

Resüme

Päriklult muutunud taimede sagenemist kiiritus- või keemiliste mutageenidega töötlemise järgsetes populatsioonides M_2 , samuti hilisemate põlvkondade täiendaval külvieelsel töötlemisel kasvustimulaatoritega, võib seletada kas sellega, et esinesid stimulaatori suhtes lähevormist tundlikumad mutantsed taimed, või siis sellega, et esines vahetu toime mutantse tunnuse penetrantsusele. «Ilmutiefkti» olemuse selgitamiseks korraldati katse odrasordi 'Harkovi 306' 0,01%-lise etüleeniimiini lahusega töödeldud seemnetest kasvatatud taimede seemnetega. M_2 seemneid töödeldi linnaseleotisega, alfaamülaasiga või nende seguga. Idanemist stimuleerivate fermentide toime sõltus suuresti agrofoonist: halval foonil (trampimisega tihendatud põld) kasvanud M_1 taimede seemnete töötlemine fermentidega koguni halvendas idanevust. M_2 seemnete töötlemine nii fermentide seguga kui ka linnaseleotise või alfaamülaasiga eraldi suurendas järsult retsessiivsete mutatsioonide esinemissagedust. Seejuures suurenes nii mutantsete perede sagedus kui ka mutantide protsent peredes. Seemnete idanevuse stimuleerimine ja mutantide esinemissagedus ei korreleeru omavahel. Sellest järeldub, et kasvustimulaatoritega töötlemise efekt mutantide «ilmutamisel» ei seletu mitte niivõrd valiku positiivse toimega muteerunud loodetele, kuivõrd bioloogiliselt aktiivne aine vahetu mõjuga muteerunud geeni penetrantsusele.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
4. I 1974

Gen SHANGIN-BEREZOVSKY, Toivo ORAV

ON THE EFFECT OF ALPHA-AMYLASE AND MALT EXTRACT ON THE REALIZATION OF CHLOROPHYLL MUTATIONS INDUCED BY ETHYLENEIMINE

Summary

The increase in the output of mutated plants in the postirradiation or treated with chemical mutagen populations by supplementary presowing treatment of M_2 or following generations with growth stimulators may be accounted for in two different ways: either by the selection of mutant plants more sensitive to stimulator in comparison with the original forms, or by the immediate effect on the penetrance of the mutant sign. The experiment has been conducted for elucidating the essence of the revealing effect with the seeds of summer barley variety 'Kharkovsky 306' treated with 0.01 per cent ethyleneimine solution. The seeds of the M_2 generation were treated with malt extract, alpha-amylase or with a mixture of these enzymes. The stimulating effect of the enzymes to a considerable extent depended on the agronomical background of the M_1 generation. On an unfavourable background the treatment of the seeds with enzymes reduced the germination of seeds of M_2 .

The output of recessive mutations abruptly increased as a result of the treatment of the seeds both with the enzyme mixture and with malt extract, and with alpha-amylase taken singly. Besides, the number of mutant lines increased, as well as the percentage of mutant plants in lines.

The stimulation of seed germination and the increase in the output of mutant plants did not essentially correlate. Therefore it may be concluded that the revealing of mutants by a treatment with growth stimulators is a result of the immediate influence of biologically active substances upon the penetrance of the gene that has undergone mutation.

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

Received
Jan. 4, 1974