

<https://doi.org/10.3176/biol.1968.2.01>

К. КАСК

О ДЕЙСТВИИ АЛКИЛИРУЮЩИХ СОЕДИНЕНИИ У ЧЕРЕШНИ В М₁

Большой интерес вызывает у исследователей вопрос о возможности использования модификации как удобной модели для сравнительного изучения различных мутагенов, а также механизмов их действия (Ранчялис и др., 1966).

N-нитрозозетилмочевина и N-нитрозометилмочевина, новые высокоэффективные мутагены, все чаще используются для обработки растений различных видов (Зоз, 1966; Веселовский, Храбров, 1966; Ранчялис и др., 1966; Макарова, 1966; Колотенков и др., 1966; Шарма, 1966; Шкварников, 1966; Müller, 1965; Ogav, 1966). Однако пока нам не известны опубликованные работы, в которых излагались бы опыты с древесными растениями. Поэтому объектом исследования мы избрали плодовые древесные растения, семена которых имеют твердый эндокарпий и длинный период стратификации. В связи с этим у данных растений удобно учитывать фактор времени, обрабатывая семена перед и после их стратификации, а также фактор проницаемости твердых покровов. Названные факторы могут иметь определенное значение для изучения эффективности и специфики действия мутагенных агентов в зависимости от способов их применения.

Материал и методика

Опыты проводили с семенами черешни (*Cerasus avium* (L.) Moench) элитного номера 750 нашей селекции. Плоды собирали с маточного дерева в конце августа 1965 г. и после очистки от мякоти семена сохраняли влажными при комнатной температуре до обработки мутагенами, которая была проведена 17/IX. Перед обработкой у половины семян в эндокарпии выпилили отверстие для пропускания раствора мутагенов.

Использовали два мутагена в следующих разбавлениях: N-нитрозометилмочевина (НММ) — 1 : 18000 (низкая концентрация), 1 : 10 000 (средняя) и 1 : 4000 (высокая), и N-нитрозозетилмочевина (НЭМ) — 1 : 10000 (низкая), 1 : 4000 (средняя) и 1 : 1000 (высокая). Мутагены были получены из Института химической физики Академии наук СССР (заведующая лабораторией Н. Зоз). Семена выдерживали в растворах мутагенов 24 часа, после чего в течение часа их отмывали в водопроводной воде и хранили влажными при комнатной температуре приблизительно три недели. 11/X семена стратифицировали в сфагниевом мхе при постепенном снижении температуры до 1°. С 13/XI до весны семена хранились в холодильнике (0—5°). Контроль также состоял из двух партий семян — целых и с отверстием — и все время находился в аналогичных с опытными вариантами условиях.

Эндокарпии семян растрескивались начиная с ноября. В момент посева 28/IV 1966 зародышевые корешки у контроля имели длину 3—10 см, а у опытных вариантов — 1—3 (отдельные до 7) см. Зародышевые корешки семян, обработанных мутагенами высоких концентраций, имели длину только около 0,1—1 см. Непрорастающие семена встречались во всех вариантах, однако их было не больше 3—5%. Отверстие в эндокарпии уменьшало всхожесть контрольных семян приблизительно на 10 (—15)% (табл. 1). Часть семян обрабатывали мутагенами весной (6/V 1966), прямо перед посевом, используя те же мутагены, но только в низких и средних концентрациях. Эти семена хранились и были стратифицированы до обработки в таких же условиях, как и обработанные осенью. При весенней обработке семена имели зародышевый корешок длиной (3) 5—10 см, посев проводился 7/V.

Количество семян в каждом варианте — 60—80.

В статье приведены данные по первому году жизни сеянцев.

Экспериментальная часть

Во всех вариантах опыта, кроме весенней обработки семян мутагенами низких концентраций, всходы появились с опозданием и процент всхожести был значительно ниже, чем в контроле (табл. 1).

Обработка семян мутагенами вызывала у сеянцев более раннее образование боковых побегов: уже в середине июня приблизительно половина всех растений имела один или несколько побегов (исключения составили варианты, где почти все растения были карликовыми). В контроле в то же время имелись только отдельные разветвленные растения. Характерным результатом действия мутагенов явилась пестролистность: на листьях проростков появились маленькие бесхлорофильные пятнышки, равномерно рассыпанные по всей площади листа, поэтому они выглядели крапчатыми. При осенней обработке это в первую очередь характерно для первого-второго, а при весенней — третьего-четвертого листьев. НЭМ вызывала появление несколько более крупных пятнышек по сравнению с НММ, а также вытянутость листьев. На третьем—четвертом листьях при осенней и на пятом—шестом при весенней обработке семян на многих растениях образовались совершенно бесхлорофильные или с недостаточностью хлорофилла или же желтые полосы, в отдельных случаях они занимали до половины или даже больше половины площади листа. На некоторых пестролистных растениях появились деформированные листья. Необходимо отметить, что пестрыми были только нижние листья, верхние почти всегда оставались нормальными. Только в некоторых случаях бесхлорофильные полосы образовались на более высоко расположенных листьях, измененную форму имели иногда также верхние листья.

Если семена с отверстиями обрабатывались низкой концентрацией НММ осенью, полученные сеянцы оставались почти без исключения низкими (5—10 см), а средняя площадь листа была в 10 раз меньше, чем у контроля. У одного растения все листья были узкими, вытянутыми (соотношение длины и ширины — 4,5 : 1, у контроля 2 : 1) и несколько морщинистыми у жилок. Часть сеянцев остались карликовыми, высотой 2—3 см. После обработки семян с отверстием НММ средней или высокой концентрации появилось только несколько сеянцев, которые погибли через 1—2 месяца.

Сеянцы из целых семян, обработанных осенью НММ низкой или средней концентрации, по высоте были приблизительно вдвое ниже, чем контрольные растения (табл. 2), а листья их по площади — почти вдвое меньше. При обработке семян НММ высокой концентрации сеянцы в большинстве своем остались очень низкими или даже карликовыми (вы-

сота несколько сантиметров), листья по площади были в 5—20 раз меньше контрольных. Приблизительно половина сеянцев из вариантов, обработанных НММ высокой и средней концентрации, погибла в течение 1—2 месяцев в фазе семядолей или первых двух листьев.

Таблица 1

Всхожесть семян, %

Мутаген	Концентрация	Подготовка семян					
		Эндокарпий при осенней обработке				Весной — зародышевый корешок	
		целый		с отверстием			
		16/V	Окончательная	16/V	Окончательная	16/V	Окончательная
НММ	Низкая	53	80	17	37	70	96
	Средняя	14	25	0	6	62	82
	Высокая	11	36	0	3	—	—
НЭМ	Низкая	10	43	7	44	66	93
	Средняя	40	40	47	53	41	79
	Высокая	0	3	0	0	—	—
Контроль	—	86	90	70	79	79	93

При сравнении приведенных данных (табл. 1 и 2) видно, что эндокарпий черешни в значительной мере препятствует пропусканию НММ внутрь семян.

Таблица 2

Высота сеянцев осенью в первый год жизни, см

Мутаген	Концентрация	Подготовка семян		
		Эндокарпий при осенней обработке		Весной — зародышевый корешок
		целый	с отверстием	
НММ	Низкая	22 ± 3,8	9 ± 3,0	13 ± 1,3
	Средняя	24 ± 10,0	3*	2,6 ± 0,6
	Высокая	9 ± 2,8	**	—
НЭМ	Низкая	22 ± 4,6	21 ± 5,2	46 ± 1,3
	Средняя	27 ± 4,9	23 ± 4,0	28 ± 2,2
	Высокая	**	**	—
Контроль	—	43 ± 1,6	47 ± 2,5	47 ± 1,6

* сохранилось только одно растение.

** не дали всходов или все растения погибли.

Если семена с зародышевым корешком обрабатывали НММ весной, прямо перед посевом, то при низкой концентрации мутагена всходы появились почти одновременно с контрольными и процент всхожести был таким же (табл. 1). Семядольные листочки и первые два листа были нормальными, третий и четвертый — пестролистными. Нередко на пятом-

шестом и даже седьмом-восьмом листьях появлялись большие бесхлорофильные полоски. Следующие листья имели нормальный внешний вид, однако средняя площадь одного листа у разных растений была в 2—8 раз меньше, чем в контроле. Многие растения образовывали только 4 листа или розетку очень мелких (в 100—200 раз меньше, чем в контроле) листьев. Часть из этих растений погибла. При обработке семян весной НММ средней концентрации процент всхожести был несколько меньше, чем у контроля, и семядольные листочки — красноватыми. Красными и, кроме того, маленькими были также первые два листа. Третий лист был исключительно маленький, уродливый и пестрый. Почти все растения погибли в возрасте 1—3 месяцев, образовав только 2—4 листа.

При осенней обработке семян НЭМ не обнаружилось существенных различий в появлении всходов, высоте сеянцев, площади листьев, проценте погибших растений и по другим показателям в зависимости от того, были ли семена при обработке мутагенами целыми или с отверстием. Следовательно, эндокарпий не препятствовал пропусканию НЭМ. Было установлено, что при средней концентрации всходы появились раньше, чем при низкой (табл. 1), но окончательный процент всхожести все же не показал существенных различий между этими вариантами. Не было различий между ними также по высоте, динамике прироста и проценту погибших растений. Растения были в два раза ниже, чем в контроле (табл. 2), и листья по площади в два раза меньше. В варианте с низкой концентрацией НЭМ появилось одно растение с очень темными глянцевыми листьями. Вариант с высокой концентрацией НЭМ дал только одно растение, которое вскоре погибло.

При обработке семян с зародышевым корешком весной низкая концентрация НЭМ не вызывала модификации у сеянцев, высота растений и средняя площадь листа почти не отличалась от контроля. Однако средняя концентрация НЭМ при обработке семян весной вызывала у сеянцев вначале сильное торможение роста. Часть их погибла в очень ранней фазе развития. Часть всходов имела красноватые, розовые или оранжевые семядольные листочки, а третий и четвертый листья у них были пестрыми. Во второй половине лета сеянцы росли неравномерно — часть из них остались полукарликовыми, остальные развивались почти равномерно с контрольными.

Выводы

1. Обработка семян черешни мутагенами N-нитрозометилмочевинной и N-нитрозоэтилмочевинной вызывала у сеянцев подавление роста, пестролистность (появление бесхлорофильных пятен и полосок) и гибель части растений. Для проявления указанных эффектов, особенно пестролистности, требовалось определенное время: при осенней обработке семян пестрыми были уже первые, а при весенней обработке — только третьи листья.

2. Эндокарпий черешни препятствовал пропусканию НММ, но не влиял на прохождение НЭМ.

3. НММ подавляла рост сеянцев черешни больше, чем НЭМ при тех же концентрациях.

4. НЭМ в концентрации 1 : 1 000 вызывала у подопытной формы черешни гибель всех обработанных зародышей. Почти летальной оказалась НММ в концентрациях 1 : 4 000 и 1 : 10 000.

ЛИТЕРАТУРА

- Веселовский И. А., Храбров С. Е., 1966. Влияние обработки химическими мутагенами клубней на рост, развитие и урожай картофеля сорта Веселовский 2—4. Генетика (8) : 48—54.
- Зоз Н. Н., 1966. Химический мутагенез у высших растений. Сб. Супермутагены : 93—105. М.
- Колотенков П. В., Зоз Н. Н., Макарова С. И., 1966. Экспериментальные мутации гороха. Сб. Супермутагены : 135—140. М.
- Макарова С. И., 1966. Некоторые закономерности действия N-нитрозоалкилмочевин на растения. Сб. Супермутагены : 116—121. М.
- Ранчялис В. П., Баранаускайте А. П., Юргялайтите Н. В., Яцунскайте В. Н., 1966. Модификация как модель для сравнительного изучения мутагенных веществ. Генетика (6) : 70—80.
- Шарма Б., 1966. Сравнение действия N-нитрозометилмочевины с различными физическими и химическими мутагенами на горохе *Pisum sativum* L. Сб. Супермутагены : 143—159. М.
- Шкварников П. К., 1966. Современные задачи исследований по экспериментальному получению и практическому использованию мутации у растений. Генетика (6) : 7—19.
- Müller A. J., 1965. Reparation chemisch induzierter prämutativer Läsionen durch Rücktrocknung der behandelten Samen? Biol. Zbl. 84 (6) : 759—762.
- Грау Т., 1966. Keemiline mutagenees. ENSV TA Toimet., Biol. Seeria 15 (2) : 147—160.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
18/III 1967

K. KASK

ALKÜULIVATE ÜHENDITE TOIMEST MAGUSKIRSIPUULE
 M_1 PÕLVKONNAS

Resümee

Maguskirsipuu (*Cerasus avium* (L.) Moench) seemnete mõjutamine N-nitroosmetüülkarbamiidi- (NMK) ja N-nitroosetüülkarbamiidi- (NEK) lahustega kutsus seemikutel esile kasvu pidurdumist, kirjulehisust (klorofüllita tähnikesed ja laigud alumistel lehtedel), lehtede moondumist ja osa taimede hävimise. Selgus, et nende efektide avaldumise kiirus oleneb mõjutamisele järgnenud ajavahemiku pikkusest. Juhul, kui pärast koristamist niiskena hoitud seemneid mõjutati sügisel, stratifitseerimise eel, ilmnes kirjulehisus juba esimesel ja teisel lehel. Kui aga seemneid, millel oli juba 3—10 cm pikkune idujuur, mõjutati kevadel, vahetult enne külvi, siis kirjulehisus ilmnes alles kolmandal ja neljandal lehel. Järgneval 2—4 lehel esines sageli, nii sügisese kui ka kevadise mõjutamise korral, suuri klorofüllita laike. Ülemised lehed olid (üksikute eranditega) klorofüllisisalduse ja lehe kuju poolest normaalsed.

Endokarp takistas NMK tungimist seemne sisemusse, NEK läbimisele ta aga takistuseks ei olnud. Ühe ja sama kontsentratsiooni puhul oli NMK kasvu pidurdav mõju suurem kui NEK puhul. NEK kontsentratsioon 1 : 1000 põhjustas loodete või taimede täieliku hävimise; NMK oli letaalsele lähedane kontsentratsioon 1 : 4000 ja isegi 1 : 10 000.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalsbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
18. III 1967

K. KASK

ON THE ACTION OF ALKYLATING COMPOUNDS
ON MAZZARD CHERRY IN M₁

Summary

The treatment of the mazzard cherry (*Cerasus avium* (L.) Moench) seeds in solutions of N-nitrosomethyl urea (NMU) and N-nitrosoethyl urea (NEU) caused a growth inhibition, mottled leaf (small spots and large stripes without chlorophyll in the lower leaves), partially a deformation of leaves and perishing of a part of the seedlings. It has been demonstrated that the appearance of the effects depended on the time-intervals following the treatment. The treatment of the seeds (nondried after harvest) in autumn, before stratification, induced leaf spots already in the first and second leaves, whereas the treatment in spring, directly before sowing (the seeds were with embryonic radicles 3—10 cm long) did not induce leaf spots until the appearance of the third and fourth leaves. In the following 2—4 leaves there were often large stripes without chlorophyll in the case of an autumn as well as spring treatment of the seeds. The upper leaves were conspicuous (with single exceptions) both for their normal chlorophyll content and normal leaf shape.

Endocarp hindered the penetrating of NMU into the seeds, but it did not impede the NEU. In the same concentration the growth inhibition phenomenon of NMU was greater than that of NEU. NEU in a concentration of 1:1,000 led to a total perishing of germs or seedlings developed from the treated seeds; NMU was close to lethal in a concentration of 1:4,000 and even in 1:10,000.

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

Received
March 18, 1967