

В.В. МОРГУН¹, Е.А. ЛАРЧЕНКО¹,
Р.Г. КОСТЯНОВСКИЙ², А.М. КАТЕРИНЧУК¹

¹ Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев
E-mail: katernychuks@mail.ru

² Институт химической физики РАН, Москва

ХИРАЛЬНЫЕ МУТАГЕНЫ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НА ВЫСШИХ РАСТЕНИЯХ



*Исследована цитогенетическая активность хиральных нитрозоалкилмочевин и специфика их действия на хромосомы клеток озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Впервые проведен сравнительный анализ цитогенетической активности хиральных нитрозоалкилмочевин — *S*(+)1-*N*-нитрозо-1-*N*-метил-3-*N*-вторбутилмочевин (*S*(+)НМвБМ) и *R*(-)1-*N*-нитрозо-1-*N*-метил-3-*N*-вторбутилмочевин (*R*(-)НМвБМ) на высших растениях. По частоте хромосомных aberrаций стереоизомер *S*(+) активнее стереоизомера *R*(-) почти в два раза. Кроме типичных анафазных aberrаций (фрагменты, мосты, отстающие хромосомы), выявлены другие многочисленные патологии митозов: *K*-митозы, гиперспирализация и деспирализация хромосом, неравномерное распределение хромосом между дочерними ядрами, массовая фрагментация, нерасхождение и слияние хромосом, трехполюсные митозы и др. При воздействии нитрозоэтилмочевин и гамма-лучей такие патологии не обнаружены.*

© В.В. МОРГУН, Е.А. ЛАРЧЕНКО, Р.Г. КОСТЯНОВСКИЙ,
А.М. КАТЕРИНЧУК, 2011

Введение. Важное направление исследований в области экспериментального мутагенеза и мутационной селекции растений — это поиск новых мутагенов и изучение специфики их действия для получения ценных мутаций. Исследования американских и японских ученых в области асимметричного синтеза молекул и зеркального катализа, отмеченные Нобелевской премией в 2001 г., показали, что одни и те же соединения в зависимости от пространственной структуры молекул могут вызывать различный эффект.

Оптическая стереоизомерия, или хиральность (асимметричность), характерна для большинства находящихся в природе молекул, которые могут существовать в двух структурно идентичных формах — стереоизомерах. У биологических объектов активным, как правило, является один из стереоизомеров, к примеру, аминокислоты — левовращающие стереоизомеры, сахара и нуклеиновые кислоты — правовращающие.

Хиральность стереоизомеров является важным признаком при синтезе различных соединений, в том числе широко используемых в сельском хозяйстве средств защиты растений — гербицидов, инсектицидов и фунгицидов.

Отдельным классом химических соединений являются супермутагены (нитрозоалкилмочевин, азаридины, диалкилсульфаты, диазокетоны и др.), широко используемые в мутационной селекции растений с целью расширения наследственной изменчивости.

Возможность индуцировать мутации с помощью химических соединений одновременно и независимо открыта Рапопортом в СССР [1] и Ауэрбах с соавт. в Англии [2]. Важно отметить, что в некоторых случаях выделены и идентифицированы продукты алкилирования ДНК химическими мутагенами [3–5]. Рапопорт [6] интенсивно развивал исследования, связанные с поиском новых химических мутагенов и применением их в селекции сортов и гибридов культурных растений. Высокая эффективность метода подтверждена широкомасштабными испытаниями и полученными результатами [7–10]. На основании индуцированных мутаций в мире создано свыше 3000 мутантных сортов различных культур [11].

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины имеет большой опыт в изучении и использовании методов эксперимен-

тального мутагенеза в мутационной селекции растений. Впервые на растениях была исследована мутагенная активность таких нитрозоалкилмочевин, как нитрозодиметилмочевина, нитрозодиэтилмочевина, нитрозометилбиурет, нитрозогуанидин и ряд мутагенов класса диазокетонов [12], а также создано более 70 новых мутантных сортов озимой пшеницы, гибридов кукурузы и других культур [13].

Большинство химических мутагенов являются ахиральными соединениями, и незначительное их количество изучено лишь в рацемической форме (\pm), среди которых азаридины, нервнопаралитический газ зарин [14]. Следует отметить, что зарин и его (+) и (-) аналоги по токсичности значительно различаются между собой [15]. Хиральными являются отдельные нитрозоалкилмочевины, обладающие противоопухолевой активностью [16]. Высокая мутагенная активность хиральных нитрозоалкилмочевин при низкой их цитотоксичности показана на *E. coli* [17]. На высших растениях генетическая активность (+) и (-)-стереоизомеров хиральных мутагенов ранее не изучалась.

Целью нашей работы было исследование цитогенетической активности хиральных нитрозоалкилмочевин и специфики их действия на хромосомный аппарат клеток растений озимой мягкой пшеницы.

Материалы и методы. Материалом для исследований служили семена двух сортов озимой мягкой пшеницы: сорт Federer чешской селекции и отечественный сорт Кирена (Роксолана). Хиральные мутагены S(+)-1-N-нитрозо-1-N-метил-3-N-втор-бутилмочевину (S(+))НМвБМ и R(-)-1-N-нитрозо-1-N-метил-3-N-втор-бутилмочевину (R(-))НМвБМ синтезировали в лаборатории стереохимии Института химической физики РАН (Москва). Семена двух сортов озимой пшеницы по 1000 зерен в каждом варианте опыта обрабатывали хиральными мутагенами R(-)(НМвБМ) и S(+)(НМвБМ) в концентрациях 0,005; 0,01; 0,03; 0,05 % по методике [18]. Для сравнения в опытах использовали известные и хорошо изученные мутагены: нитрозоэтилмочевину (НЭМ) в оптимальных концентрациях 0,0125 и 0,025 % и гамма-лучи в дозе 100 Гр. Экспозиция при обработке семян химическими му-

Таблица 1
Частота анафаз с хромосомными aberrациями после воздействия мутагенами на семена озимой пшеницы

Но- мер опыта	Мутаген, концентра- ция, %	Изучено анафаз, шт.	Анафаз с aberrация-	
			шт.	%
Сорт озимой пшеницы Federer				
1	Вода, контроль	289	2	0,7 ± 0,49
2	Гамма-лучи, 100 Гр НЭМ	408	47	11,5 ± 1,58 *
3	0,0125	380	30	7,9 ± 1,38 *
4	0,025	259	41	15,8 ± 2,27 *
R(-)НМвБМ				
5	0,005	1238	63	5,1 ± 0,63 *
6	0,01	885	57	6,4 ± 0,82 *
7	0,03	932	112	12,0 ± 1,06 *
8	0,05	813	125	15,4 ± 1,27 *
S(+))НМвБМ				
9	0,005	646	87	13,5 ± 1,34 *
10	0,01	658	92	14,0 ± 1,35 *
11	0,03	512	86	16,8 ± 1,65 *
12	0,05	452	87	19,2 ± 1,85 *
Сорт озимой пшеницы Кирена				
1	Вода, контроль	693	7	1,0 ± 0,38
2	Гамма-лучи, 100 Гр НЭМ	789	126	15,9 ± 1,30 *
3	0,0125	763	84	11,0 ± 1,13 *
4	0,025	389	68	17,5 ± 1,93 *
R(-)НМвБМ				
5	0,005	681	97	14,2 ± 1,34 *
6	0,01	290	61	21,0 ± 2,39 *
7	0,03	422	92	21,8 ± 2,01 *
8	0,05	415	91	21,9 ± 2,03 *
S(+))НМвБМ				
9	0,005	376	82	21,8 ± 2,13 *
10	0,01	434	110	25,3 ± 2,09 *
11	0,03	490	149	30,4 ± 2,08 *
12	0,05	629	194	30,8 ± 1,84 *

* Разница существенна при $P_{0,05}$ в сравнениях: сорт Federer: 1 – (2–12); 2 – (11,12); 3 – (7–12); 4 – (5,6); 5,6 – (9–12); 7 – (11,12); сорт Кирена: 1 – (2–12); 2 – (7–12); 3 – (6–12); 4 – (10–12); 5 – (9–12); 5–8 – (11,12)

тагенами составила 18 ч. После обработки семена промывали проточной водой, высевали в поле для получения последующих поколений растений и учета видимых мутаций, а также по 100 семян в чашки Петри для исследований цитогенетического действия мутагенов. В каждом опытном варианте анализировали не менее 50 зародышевых корешков длиной до 1,0 см, фиксированных в растворе

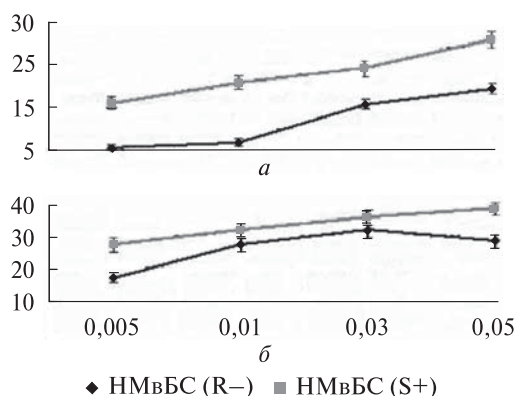


Рис. 1. Частота хромосомных aberrаций (по вертикали, %) в делящихся клетках после воздействия хиральными нитроалкилмочевинами на сорта озимой пшеницы Federer (*a*) и Кирена (*б*). По горизонтали – концентрация мутагена, %

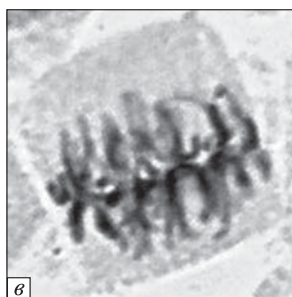
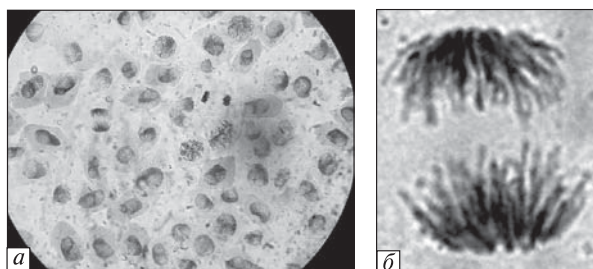


Рис. 2. Общий вид митозов пшеницы: *a* – контроль; *б* – анафаза, *в* – метафаза

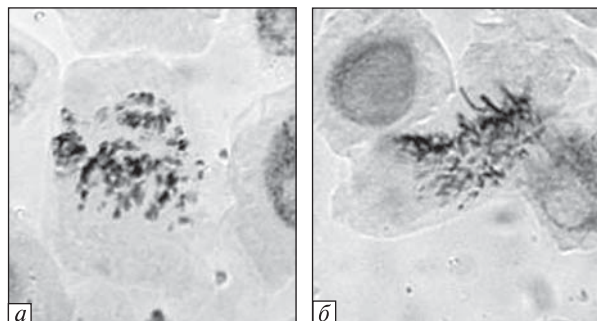


Рис. 3. Массовая фрагментация хромосом в клетке: *a*, *б* – S(+)НМвБС, сорт Federer

Карнуа (смесь спирта и ледяной уксусной кислоты 3:1) в период митоза. Фиксированный материал хранили в 70 ° спирте при температуре 2 °С. Структурные изменения хромосом и патологии митозов учитывали в анафазах и других фазах митотического цикла. Цитологические препараты готовили по методике [19].

Результаты исследований и их обсуждение. Процессы, протекающие непосредственно после мутагенного воздействия, приводят к различным хромосомным перестройкам.

Новые хиральные мутагены, как и широко используемые в мутационной селекции растений НЭМ и гамма-лучи, вызывают существенные по сравнению с контролем изменения в митотических клетках. В опытных вариантах частота анафаз с типичными хромосомными aberrациями зависела от мутагена, его концентрации, генотипа сорта и составляла 5,1–30,8 % (табл. 1). Максимальная частота анафаз с aberrациями при воздействии R(-)НМвБМ составляла 15,4 % (сорт Federer) и 21,9 % (сорт Кирена) при максимальной частоте 15,8 и 17,5 %, индуцированной НЭМ. Существенная разница в сравнении с НЭМ выявлена у сорта Кирена при концентрациях R(-)НМвБМ 0,03 и 0,05 %.

Хиральная S(+)НМвБМ активнее НЭМ, максимальная частота анафаз с aberrациями составила 19,2 % при 15,8 % на сорте Federer и 21,8–30,8 % против 11,0–17,5 % (сорт Кирена) соответственно. Влияние генотипа на мутационную изменчивость неоднократно было показано на многих культурах [6, 10]. По частоте анафаз с aberrациями хиральная S(+)НМвБМ в концентрациях 0,005 и 0,01 % более чем в два раза активнее R(-)НМвБМ на сорте Federer и существенно активнее при концентрациях 0,03 и 0,05 % на сорте Кирена (табл. 1).

Следует отметить, что при действии хиральных нитроалкилмочевин R(-)НМвБМ и S(+)НМвБМ с повышением концентрации частота анафаз с aberrациями повышается, однако между отдельными промежуточными концентрациями разница не является существенной.

Во многих анафазах, особенно в опытных вариантах с хиральными мутагенами, выявлены не единичные, а множественные aberrации

Таблица 2

Спектр хромосомных aberrаций в анафазах митозов после воздействия мутагенами на семена озимой пшеницы, %

Номер опыта	Мутаген, концентрация	Ацентрические фрагменты	Мосты хроматидные, хромосомные	Отстающие хромосомы	Микроядра	Всего aberrаций в анафазах
Сорт озимой пшеницы Federer						
1	Вода, контроль	0	0,7 ± 0,49	0	0	0,7 ± 0,49
2	Гамма-лучи, 100 Гр	7,1 ± 1,27	5,3 ± 1,11	0	0	12,4 ± 1,63 *
НЭМ						
3	0,0125	5,0 ± 1,12	3,2 ± 0,9	0	0	8,2 ± 41 *
4	0,025	14,7 ± 2,2	3,0 ± 1,06	0	0	17,7 ± 2,37 *
R(-)НМвБМ						
5	0,005	4,0 ± 0,56	1,7 ± 0,37	0	0	5,7 ± 0,66 *
6	0,01	4,0 ± 0,66	2,8 ± 0,55	0	0	6,8 ± 0,85 *
7	0,03	12,4 ± 1,08	3,6 ± 0,61	0,5 ± 0,23	0	16,5 ± 1,21 *
8	0,05	12,8 ± 1,17	7,1 ± 0,9	0	0,1 ± 0,11	20,0 ± 1,40 *
S(+)-НМвБМ						
9	0,005	10,2 ± 1,19	6,0 ± 0,93	0	0	16,2 ± 1,45 *
10	0,01	13,7 ± 1,34	7,5 ± 1,03	0	0,2 ± 0,17	21,4 ± 1,60 *
11	0,03	15,2 ± 1,59	5,1 ± 0,97	4,5 ± 0,92	0	24,8 ± 1,91 *
12	0,05	19,2 ± 1,85	9,4 ± 0,37	1,8 ± 0,63	1,3 ± 0,53	31,7 ± 2,19 *
Сорт озимой пшеницы Кирена						
1	Вода, контроль	0,9 ± 0,36	0,1 ± 0,10	0	0	1,0 ± 1,00
2	Гамма-лучи, 100 Гр	8,5 ± 0,99	12,2 ± 1,17	1,4 ± 0,42	1,9 ± 0,49	24,0 ± 1,52 *
НЭМ						
3	0,0125	7,9 ± 0,98	5,5 ± 0,83	0	0	13,4 ± 1,23 *
4	0,025	11,8 ± 1,64	6,9 ± 1,29	0	0	18,7 ± 1,98 *
R(-)НМвБМ						
5	0,005	12,0 ± 1,25	5,0 ± 0,84	0,1 ± 0,12	0,3 ± 0,21	17,4 ± 1,50 *
6	0,01	16,2 ± 2,16	10,4 ± 1,79	0	0,3 ± 0,32	26,9 ± 2,60 *
7	0,03	22,7 ± 2,04	8,2 ± 1,34	0,7 ± 0,41	0	31,6 ± 2,26 *
8	0,05	13,7 ± 1,69	13,4 ± 1,67	0,9 ± 0,46	0	28,0 ± 2,20 *
S(+)-НМвБМ						
9	0,005	18,3 ± 1,99	8,8 ± 1,46	0	0	27,1 ± 2,29 *
10	0,01	20,5 ± 1,94	8,5 ± 1,34	1,6 ± 0,6	0,7 ± 0,4	31,3 ± 2,22 *
11	0,03	21,2 ± 1,85	10,8 ± 1,40	1,8 ± 0,6	1,4 ± 0,53	35,2 ± 2,16 *
12	0,05	22,6 ± 1,67	12,2 ± 1,30	2,5 ± 0,62	0,4 ± 0,25	37,7 ± 1,93 *

* Разница существенна при $P_{0,05}$ в сравнениях: сорт Federer: 1–(2–12); 2–(5, 10–12); 3–(4,7,8); 4–(5,6,11,12); 5–(7–12); 6–(7–12); 7–(10–12); сорт Кирена: 1–(2–12); 2–(7–12); 3–(6–12); 4–(6–12); 5–(6–12); 6–(11,12); 7–(12); 8–(11,12); 9–(11,12).

ции, такие как фрагменты, мосты, отстающие хромосомы (табл. 2). Общая частота таких aberrаций на 100 анафаз в вариантах R(-)НМвБМ и S(+)-НМвБМ при концентрации мутагенов 0,05 наиболее высока и составляет 20,0 и 31,7 % у сорта Federer и 28,0 и 37,7 % у сорта Кирена соответственно (рис. 1).

С целью выявления особенностей действия новых хиральных мутагенов нами изучен спектр хромосомных aberrаций и другие па-

тологии митозов. Общий вид митозов пшеницы в контроле показан на рис. 2. В опытных вариантах с хиральными мутагенами нами выявлены такие повреждения хромосом и патологии митозов как массовая фрагментация хромосом (рис. 3), мосты хроматидные и хромосомные (рис. 4), образование микроядер (рис. 5), неравномерное расхождение хромосом (рис. 7), гиперспирализация и слипание хромосом (рис. 8), полиплоидные клетки (рис. 9),

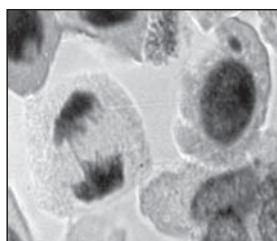


Рис. 4. Хроматидный мост, R(-)НМвБМ, сорт Federer



Рис. 5. Микроядро

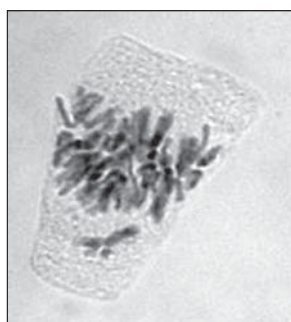


Рис. 6. Отдельно лежащие хромосомы, S(+)-НМвБМ, сорт Federer

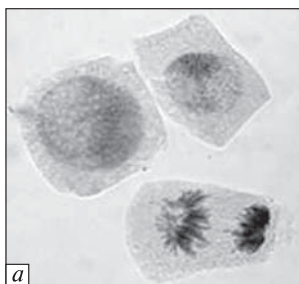


Рис. 7. Неравномерное расхождение хромосом (а), клетка с двумя ядрами и микроядрами S(+)-НМвБМ, сорт Federer (б); клетка без ядер S(+)-НМвБМ, сорт Кирена (в)

увеличенное число ядрышек (рис. 10), трехплюсные митозы (рис. 12), «растекание» хроматина (рис. 13), циклическое расположение хромосом при делении клеток (рис. 14) и другие нарушения.

Среди хромосомных aberrаций, выявленных при действии хиральными мутагенами S(+)-НМвБМ и R(-)-НМвБМ, наиболее высо-

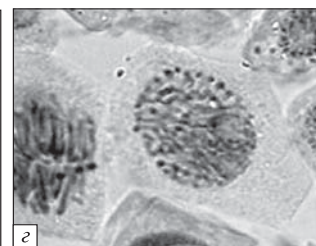
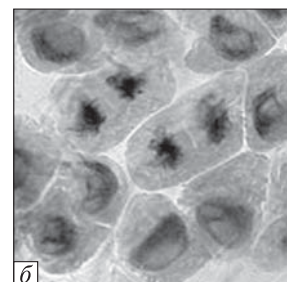


Рис. 8. Слипание и гиперспирализация хромосом: а, б – R(-)НМвБМ, сорт Кирена; в, г – S(+)-НМвБМ, сорт Federer

кий процент составляют фрагменты и мосты – 19,2 и 22,7 % и 13,4 и 12,2 % соответственно, что существенно выше таких же aberrаций, индуцированных гамма-лучами и нитрозоэтилмочевинной. Фрагменты в дальнейшем могут элиминироваться, образовывать микроядра или объединяться и приводить к возникновению инверсий, делеций, дупликаций и транслокаций [20].

В метафазах митоза только в случае воздействия хиральными мутагенами наблюдалась массовая фрагментация хромосом, при которой фрагменты в клетке рассеиваются по цитоплазме и при делении клетки не передвигаются подобно хромосомам (рис. 3).

Следствием фрагментации хромосом могут быть микроядра. При объединении фрагментов, содержащих центромеры, образуются дигетрические хромосомы, которые, растягиваясь между дочерними ядрами, образуют хромосомные или хроматидные мосты (рис. 4). Их частота в опытах составляет 1,7–13,4 %. При повреждениях в области центромеры возникает отставание хромосом в метакинезе и при расхождении к полюсам [21]. Такие хромосомы в период митоза не движутся к экватору, а на стадии телофазы оттесняются перегородкой к дочерним ядрам или образуют дополнительные микроядра (рис. 4 и 5). Отстающие

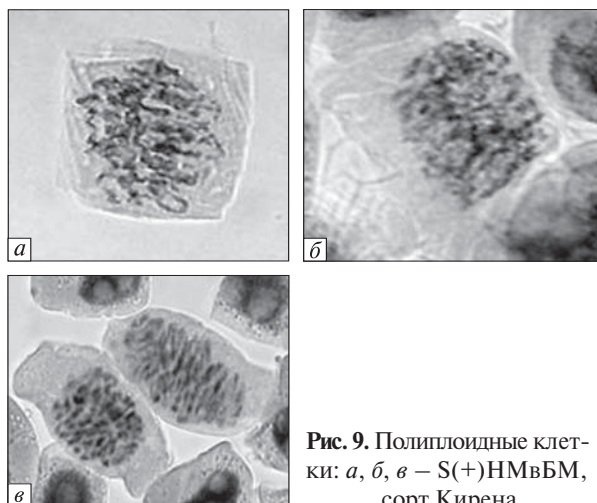


Рис. 9. Полиплоидные клетки: а, б, в – S(+)-НМвБМ, сорт Кирена

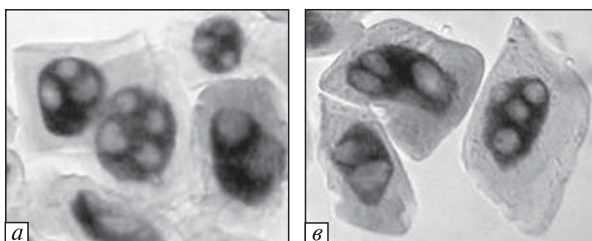


Рис. 10. Увеличенное количество ядрышек в ядрах клеток: а, б – S(+)-НМвБМ, сорт озимой пшеницы Кирена

хромосомы (рис. 6) выявлены при воздействии гамма-лучами и хиральными нитрозоалкилмочевинами, причем максимальное количество клеток с такими нарушениями (4,5 %) выявлено при воздействии стереоизомером S(+)-НМвБС.

В ходе исследований только при воздействии хиральными мутагенами выявлены различные патологии митозов и среди них неравномерное расхождение хромосом, что приводит к возникновению клеток с несбалансированным их набором. При этом одна из клеток имеет увеличенный набор хромосом за счет уменьшения в другой, вследствие чего наблюдаются дочерние ядра разных размеров и клетки без ядер (рис. 7).

Выявлены также такие патологии митозов, как нарушения спирализации и деспирализации хромосом, нерасхождение и их слипание (рис. 8). При действии хиральной S(+)-НМвБМ в концентрации 0,03 % во многих клетках отдельных препаратов наблюдали

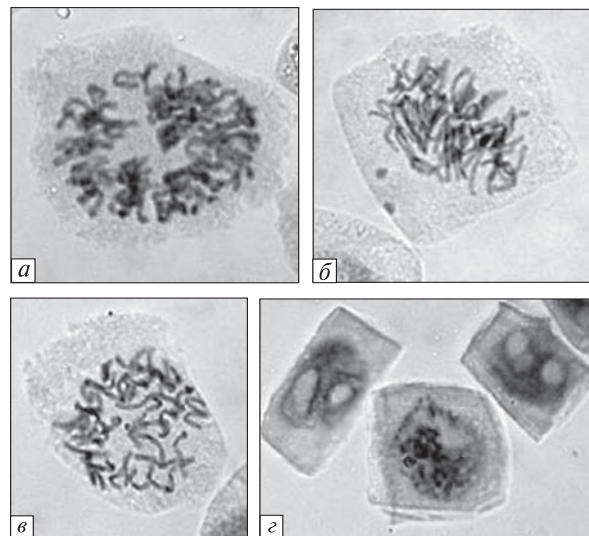


Рис. 11. Нарушения митоза в метафазе: а, б, в – R(-)-НМвБМ, сорт Federer; з – сорт озимой пшеницы Кирена

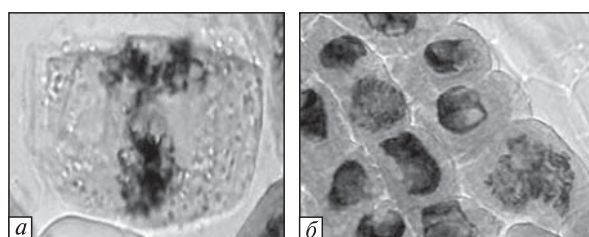


Рис. 12. Трехполюсный митоз: а, б – S(+)-НМвБМ, сорт Кирена

массовое слипание хромосом. Обнаружены клетки с гиперспирализацией хроматина, приводящей к формированию укороченных и утолщенных хромосом и полиплоидных клеток (рис. 9). В профазе таких клеток наблюдали от 3 до 5 ядрышек (рис. 10).

В результате действия хиральных нитрозоалкилмочевин выявлены патологии митозов, связанные с повреждением митотического аппарата: задержка митоза в метафазе, асимметричный (рис. 11, а–в), трехполюсный митоз (рис. 12, а, б), растекание хроматина (рис. 13, а, б) и другие оригинальные изменения (рис. 14, а, б). Упомянутые патологии могут привести к возникновению в поколениях растений-анеуплоидов.

Выводы. В результате проведенных нами исследований установлено, что хиральная

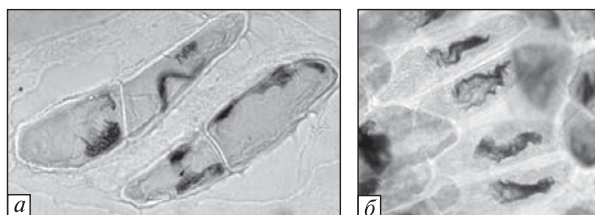


Рис. 13. «Растекание» хроматина: а, б – S(+)-НМвБМ, сорт Кирена

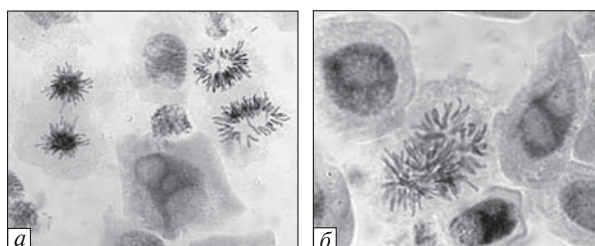


Рис. 14. Циклическое расположение хромосом при делении клеток: а, б – S(+)-НМвБМ, сорт озимой пшеницы Federer

S(+)-НМвБМ по максимальной частоте индуцированных aberrаций существенно активнее НЭМ на сортах озимой пшеницы Federer и Кирена, а R(-)-НМвБМ – на сорте Кирена. Хиральная S(+)-НМвБМ в отдельных концентрациях активнее R(-)-НМвБМ более чем в два раза.

Хиральные нитрозоалкилмочевинны вызывают не только типичные хромосомные aberrации, но и различные патологии митозов, чем существенно отличаются по цитологическим эффектам от известных мутагенов, таких как нитрозоэтилмочевина и гамма-лучи.

V.V. Morgun, E.A. Larchenko,
R.G. Kostyanovskiy, A.M. Katerynchuk

THE CHIRAL MUTAGENS: CYTOGENETIC EFFECTS ON HIGHER PLANTS

The paper covers investigation of cytogenetic activity of chiral mutagens and their specific effects on the plant cells chromosomes of soft winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Comparative analysis of cytogenetic activity of chiral NEU: S(+)-1-N-nitroso-1-N-methyl-3-N-sec-buthylureas (S(+)-NMsBU) and R(-)-1-N-nitroso-1N-methyl-3-N-sec-buthylureas (R(-)-NMsBU) on winter wheat was performed. As it was shown by the frequency of chromosomal aberrations the S(+) stereoisomer was twice more active than R(-). In addition to typical anaphase aberrations (frag-

ments, bridges, lagging chromosomes) the numerous mitosis pathologies were revealed – K-mitoses, hyperspiralization and despiralization of chromosomes, unequal allocation of chromosomes between the daughter nuclei, mass fragmentation, nondisjunction and chromosome adhesion, three-pole mitoses, etc. Neither of the mentioned pathologies was observed under the action of NEU and gamma-rays.

V.V. Morgun, K.A. Larchenko,
R.G. Kostyanovskiy, O.M. Katerynchuk

ХІРАЛЬНІ МУТАГЕНИ: ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЕФЕКТИ НА ВИЩИХ РОСЛИНАХ

Досліджено цитогенетичну активність хіральних нітрозоалкілсечовин та специфіку їхньої дії на хромосоми клітин озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.). Вперше проведено порівняльний аналіз цитогенетичної активності хіральних нітрозоалкілсечовин – S(+)-1-N-нітрозо-1-N-метил-3-N-втор-бутилсечовини (S(+)-НМвБМ) та R(-)-1-N-нітрозо-1-N-метил-3-N-втор-бутилсечовини (R(-)-НМвБМ) на вищих рослинах. За частотою хромосомних aberrаций стереоізомер S(+) активніше стереоізомера R(-) майже у два рази. Крім типових анафазних aberrаций (фрагменти, мости, відстаючі хромосоми), виявлено інші численні патології митозів: К-мітози, гіперспіралізація та деспіралізація хромосом, нерівномірний розподіл хромосом між дочірніми ядрами, масова фрагментація, нерозходження і злипання хромосом, трьохполюсні мітози та ін. При дії нітроетилсечовини та гамма-променів такі патології не виявлені.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Ранопорт И.А.* Карбонильные соединения и химический механизм мутаций // Докл. АН СССР. – 1946. – 54, № 1. – С. 65–68.
2. *Auerbach C., Robson J.V.* Chemical production of mutations // Nature. – 1946. – 157. – P. 302.
3. *Lawley P.D., Orr D.J., Jarman M.* Isolation and identification of products from alkylation of nucleic acids: ethyl- and isopropyl-purines // Biochem. J. – 1975. – 145, № 1. – P. 73–84.
4. *Natarajan A.T., Simons J.W.I.M., Vogel E.W., Van Zeeland A.A.* Relationship between cell killing, chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges and point mutations induced by monofunctional alkylating agents in Chinese hamster cells a correlation with different ethylation products in DNA // Mutat. Res. – 1984. – 128. – P. 31–40.
5. *Natarajan A.T.* Chemical mutagenesis: From plants to human // Curr. Sci. – 2005. – 89, № 2. – P. 312–317.
6. *Ранопорт И.А.* Избранные труды. Открытие химического мутагена. – М.: Наука, 1993. – 304 с.
7. *Калайджан А.А., Хлевной Л.В., Нецадим Н.Н. и др.* Российский солнечный цветок. – Краснодар: Сов. Кубань, 2007. – 351 с.

8. Василенко В.Н., Грабовец А.И., Тимаренко А.И. и др. Сорта полевых культур. — Ростов-на-Дону, 2009. — 126 с.
9. Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы. — Киев : Наук. думка, 1995. — 627 с.
10. Shafiqe S., Bajwa R., Shafiqe S. Mutation of alternaria tenuissima FCBP-252 for hyper-active α -amylase // Indian J. Exp. Biol. — 2009. — **47**. — P. 591–596.
11. Nuclear Safety Review For the Year 2009 IAEA/NSR/2009 Printed in the IAEA in Austria July 2010 <http://www.iaea.org/Publications/Reports/index.html>
12. Ларченко Е.А. Изучение мутагенной активности химических соединений из классов нитрозоалкилмочевин и диазокетонов на кукурузе : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1976. — 25 с.
13. Моргун В.В. Спонтанна та індукована мутаційна мінливість та її використання в селекції рослин // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — Київ : Логос, 2001. — Т. 2. — С. 144–174.
14. Рапопорт И.А., Костяновский Р.Г. Мутационная активность некоторых ингибиторов холинэстеразы // Докл. АН СССР. — 1960. — **131**, № 1. — С. 191.
15. Rauk A., Shishkov I.F., Vilk L.V., Koehler K.F., Kostyanovsky R.G. Structure and chiroptical properties of the parent nerve gas — methoxy methylphosphonofluoridate — by ab initio calculations, electron diffraction analysis and NMR spectroscopy // J. Amer. Chem. Soc. — 1995. — **117**, № 27. — P. 7180–7185.
16. Anderson T., McMenamin M.G., Schein P.S. Chlorozotocin 2-(3-(2-chloroethoxy)-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose, an antitumor agent with modified bone marrow toxicity // Cancer Res. — 1975. — **35**, № 3. — P. 761–765.
17. Isobe M., Yano K. Comparison of mutagenicity and chemical properties of N-methyl-N'-alkyl-N-nitrosoureas // Mutat. Res. — 1982. — **93**. — P. 57–66.
18. Зоз Н.Н. Химический мутагенез у высших растений. Супермутагены. — М.: Наука, 1966. — С. 93–105.
19. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
20. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. — М.: Мир, 1978. — 452 с.
21. Дубинин Н.П. Генетика. — Кишинев : Штиинца, 1985. — 536 с.

Поступила 20.07.10