

JANUSZ PALA

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego — Akademia Rolnicza w Warszawie

NIEKTÓRE PROBLEMY RADIACYJNEJ HODOWLI ROŚLIN

Indukowane mutanty dały początek ponad 200 odmianom roślin, których znaczna część jest nadal uprawiana [10]. Dotychczas uzyskano w ten sposób najwięcej odmian pszenicy, jęczmienia, ryżu, owsa, soi, roślin motylkowych i ozdobnych. Większość odmian wymienionych gatunków roślin wyhodowano po skrzyżowaniu wyselekcjonowanych mutantów z biotypami uprawnymi. Tylko niewielką liczbę odmian uzyskano wprost przez rozmnożenie mutantów.

Drugą dziedziną, w której wykorzystuje się promienie jonizujące jest przenoszenie cech między odległymi gatunkami. Dokonuje się tego przez krzyżowanie napromienionych roślin z sobą albo z roślinami nienapromienionymi. Pionierską pod tym względem pracę wykonał Sears [cyt. za 10], któremu udało się przenieść geny warunkujące odporność na rdzę liściową z kozieńca (*Aegilops umbellulata*) do uprawnej pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum*).

Aspekty metodyczne zagadnienia

Najtańszym i najbardziej dostępnym źródłem promieni jonizujących były początkowo aparaty Rentgena. Temu zapewne należy zawdzięczać, że większość mutacji, jakie uzyskano po raz pierwszy w Związku Radzieckim, Szwecji i w Niemczech powstała pod wpływem promieni rentgenowskich. Negatywne wyniki pierwszych doświadczeń zniechęciły jednak badaczy i spowodowały, że na wiele lat przerwano prace nad indukowaniem mutacji. Później jednak, głównie dzięki badaniom szwedzkim, nastąpił ponowny wzrost zainteresowania metodą radiacyjną, która zaczęła sobie zyskiwać coraz więcej zwolenników.

Analizując przyczyny pierwszych niepowodzeń, badacze doszli do wniosku, iż mogą być one różnego rodzaju. Za jedną z najważniejszych uznano stosowanie zbyt wysokich dawek promieni. Dawki te, zwane letalnymi lub subletalnymi powodowały śmierć wszystkich lub połowy napromieniowanych roślin. Rośliny, które przeżyły przedstawiały na ogół małą wartość hodowlaną. Jeśli bowiem wystąpiły u nich mutacje, to mia-

ły one charakter niekorzystny i towarzyszyło im bardzo duże zmniejszenie bujności rozwoju i plenności. Powyższe przyczyny spowodowały, że na czoło badań radiacyjnych zaczęło wysuwać się zagadnienie wrażliwości roślin na promienie jonizujące. Badania nad radioopornością nasion i roślin zielonych przekształciły się z czasem w odrębną gałąź wiedzy, która dziś ma już ogromne piśmiennictwo. Na szczególną uwagę zasługuje opublikowana ostatnio w Związku Radzieckim praca Preobrażenskiej [9], w której autorka scharakteryzowała radiooporność roślin należących do dwu klas, 42 rzędów, 63 rodzin, 262 rodzajów, 508 gatunków i 218 podgatunków, odmian botanicznych i hodowlanych. Zdaniem wymienionej autorki, radiooporność roślin należy oceniać za pomocą dawki subletalnej (LD_{50}) i letalnej (LD_{100}), a nie krytycznej, która zgodnie z określeniem Gustafssona, odpowiada dawce promieni jonizujących niezbędnej do spowodowania nieplodności 70—100% roślin (zawiazuje nasiona około 20—30% roślin). Po zastosowaniu dawki półletalnej (LD_{50}) ginie połowa, zaś letalnej (LD_{70}) — 70% roślin. Spośród roślin, które przeżywają — nasiona zawiazuje tylko część. Przy dawce letalnej (LD_{100}), wszystkie napromienione rośliny giną do zakończenia wegetacji.

Określenie wysokości dawek letalnych i półletalnych nie zakończyło jednak kłopotów. Okazało się bowiem, że ta sama dawka promieni może w różnych, a nawet w jednakowych warunkach uprawy, wywoływać zupełnie inny efekt.

Dużo światła na wymienione zagadnienia rzuciły badania amerykańskie. Między innymi dzięki Congerowi, Konzakowi, Nilanowi i innym autorom [wg 7] wyjaśniono wpływ wody, temperatury, tlenu, azotu itp. czynników na efekt napromieniania i radiooporność roślin. Stwierdzono przy tym, jak ogromne znaczenie w badaniach radiobiologicznych ma ujednoczenie środowiska. Nawet niewielka zmiana zawartości wody w nasionach i składu gazowego atmosfery, może bardzo istotnie wpłynąć na efekt wywoływany przez tę samą dawkę promieni. Należy więc podkreślić, że małą wartość mają wyniki badań nad radioopornością, jeśli przed napromienieniem nie ujednoczono wilgotności nasion. Niedostatkim tym odznacza się niestety stosunkowo duża ilość doświadczeń.

Wykryto również, że radiooporność zależy od wielu czynników biologicznych, z których do najważniejszych należą: stopień poliploidalności, liczba chromosomów w genomie diploidalnym, objętość jąder komórkowych, liczba jąder komórkowych i inne.

Pomimo znacznego postępu nadal nie opracowano uniwersalnych metod testowania napromienionych roślin. Do najstarszych i najlepiej opracowanych należy zaliczyć tzw. test chlorofilowy. Opisał go po raz pierwszy obszernie Gustafsson [4] w 1940 r. Od tego czasu klasyfikację mutacji chlorofilowych znacznie rozszerzono i dostosowano do innych niż zbo-

za gatunków roślin, szczególnie grochu, którego mutacje chlorofilowe opisali bardzo dokładnie Lamprecht i Blixt [cyt. za 7].

Pomimo stosunkowo dokładnego opisanie mutacji chlorofilowych występujących u jęczmienia, klasyfikacja Gustafssona nastęrcza pewne trudności. Ich przyczyną jest stosunkowo duża zmienność mutantów pod wpływem siedliska i możliwość błędnej interpretacji oraz opisu mutantów. Dlatego wszystkie mutacje chlorofilowe należy klasyfikować w miarę możliwości bardzo ściśle na podstawie oryginalnej nomenklatury Gustafssona, zachowując ściśle określone parametry siedliska, a szczególnie temperaturę. Określone bowiem typy mutacji w temperaturach podwyższonych całkowicie zanikają lub zmienia się stopień ich ekspresji.

Częstotliwość mutowania u roślin można badać za pomocą kilku metod. U zbóż określa się ją przeważnie w drugim pokoleniu na podstawie liczby mutantów chlorofilowych, tj. siewek o zmienionym zabarwieniu pierwszego liścia. Frekwencję mutacji wyraża się w stosunku do 100 kłósów, 100 roślin lub 1000 siewek M_2 .

Częstość mutowania bada się również za pomocą metod polegających na analizie cech gospodarczo ważnych. Może to być m. in. liczba roślin odznaczających się krótkim źdźbłem, zmienioną zawartością białka w ziarnie, składem aminokwasowym itp. Wymienione i inne cechy nie są jednak u zbóż tak uniwersalnym wskaźnikiem zdolności do mutowania jak test chlorofilowy.

Za najlepsze kryterium częstotliwości mutowania wszystkich roślin należy uznać liczbę aberracji chromosomowych w wierzchołkach wzrostu korzeni. I tu jednak czyha na badaczy wiele trudności, z których bardzo ważna wypływa ze zdolności do reperacji uszkodzeń popromiennych. Wskutek tego prawdziwą wielkość zmian wywoływanych przez daną dawkę promieni można wykryć tylko w trakcie pierwszego podziału mitotycznego, który u roślin napromienionych następuje zwykle później niż u wzorcowych.

Zewnętrznym objawem uszkodzenia chromosomów jest niepłodność roślin, która u zbóż może wynosić nawet 100%. Zdaniem niektórych autorów [Politzer, cyt. za 4], niepłodność wywołana promieniami rentgenowskimi może być proporcjonalna do wielkości dawki i liczby aberracji. Wydaje się więc, że szersze stosowanie tego kryterium może znacznie ułatwić ocenę zdolności roślin do mutowania.

Możliwość ukierunkowania procesu mutowania

Uzyskanie wielu odmian roślin uprawnych było możliwe dzięki opracowaniu skutecznych metod wykrywania i selekcji mutantów, ich krzy-

zowania, rozmnażania itp. Do bardzo trudnych zagadnień należy możliwość kierowania mutagenezą. Wydaje się, że trudność ta wynika przede wszystkim z różnej skłonności do mutowania poszczególnych loci. Na zjawisko to zwrócono uwagę już dawno, dopiero jednak po wykryciu mechanizmu mutowania i wpływu czynników zewnętrznych na ten proces, uzyskano możliwość kierowania procesem mutagenezy. W poznaniu wymienionego zjawiska odegrały bardzo ważną rolę tzw. mutageny chemiczne, m. in. pochodne puryny i pirymidyny, kwas azotawy, hydroksyloamina, związki alkilujące, akrydyny i wiele innych. Uważa się dziś, że kierować można również zmiennością wywoływaną promieniami jonizującymi. W tym celu należy napromieniać genotypy odznaczające się skłonnością do mutowania w pożądanym kierunku i w określony sposób modyfikować czynniki siedliska, w tym przede wszystkim zawartość wody i tlenu. Przykłady tego rodzaju zmienności kierunkowej podaje wielu autorów, w tym m. in. Lundkvist [cyt. za 2], Chwostowa [6] i inni. Wymieniona badaczka szwedzka wyjaśniła, że spośród genów eceriferum, pod wpływem promieni wywołujących dużą gęstość jonizacji, mutuje najczęściej locus *i*. Najmniej wybiórczo działają promienie wyróżniające się małą gęstością jonizacji.

Spektrum indukowanych mutacji zależy w dużym stopniu od genotypu. Zdaniem Jenkena [5], im bardziej podobne pod względem genotypu są odmiany, tym podobniejsze uzyskuje się spektrum mutacji. Genotyp wpływa przy tym silniej na spektrum mutacji niż rodzaj stosowanego mutagenu.

Istotny wpływ na spektrum mutacji wywierają warunki uprawy napromienionych roślin. Wykazali to m. in. Batygin i Pitimirowa [1] w doświadczeniu nad wpływem warunków uprawy na liczbę i spektrum mutacji chlorofilowych u jęczmienia traktowanego czterema mutagenami. Niezależnie od rodzaju mutagenu, warunki uprawy w M_1 wpływały na liczbę mutacji w M_2 . Rośliny wyrosłe na poletkach lepiej nawożonych dały w M_2 mniej mutacji chlorofilowych niż pochodzące z poletek słabiej nawożonych. Opisane zjawisko można zapewne wyjaśnić intensywniejszym przebiegiem procesów reperacji uszkodzeń popromiennych u roślin rosnących w warunkach sprzyjających wegetacji. Warunki niesprzyjające mogą również powodować eliminację roślin zawierających najwięcej mutacji. Świadczą o tym wyniki uzyskane w doświadczeniu nad wpływem warunków uprawy polowej i szklarniowej na częstotliwość pojawiania się mutacji chlorofilowych w M_2 jęczmienia dwurzędowego odmiany Browarny PZHR [8]. Warunki uprawy polowej przyczyniały się do eliminacji roślin wyróżniających się największą liczbą mutacji. Wskutek tego częstość mutacji chlorofilowych w wariacie doświadczenia z uprawą w polu była znacznie niższa niż przy uprawie w szklarni. Te oraz in-

ne wyniki badań dowodzą, że czynniki siedliska bardzo silnie wpływają na efekt wywoływany przez mutageny.

Można więc stwierdzić, że metoda mutacyjna umożliwia wywołanie u roślin zmienności cech zwiększających plenność, odporność na choroby i szkodniki oraz na wyleganie. Wymienione cechy są uwarunkowane na ogół poligenicznie, wskutek czego również mutacje muszą mieć naturę kompleksową.

Za pomocą metody mutacyjnej można również zmieniać cechy fizjologiczne roślin, w tym długość okresu wegetacji, reakcję fotoperiodyczną, reakcję na nawożenie itp.

Metoda mutacyjna umożliwia również zmianę cech biochemicznych roślin, a m. in. zawartości tłuszczu, cukrów, białek, zmianę składu aminokwasowego, zawartości alkaloidów itp. U roślin rozmnażanych wegetatywnie za pomocą promieni jonizujących można uzyskać wartościowe mutacje somatyczne. Odnosi się to tak do rozpowszechnionych gatunków drzew owocowych, jak roślin ozdobnych, traw i innych.

LITERATURA

1. Batygin N.F., Pitirimowa M.A.: Wlijanije usłowij wyraszcziwania pierwszego pokolenia jaczmienia sorta Winer na czastotu pojawlenija i charakter chlorofilnych mutacji w M_2 . W: Radiacjonnaja biofizyka i radiobiologija rastienij. Zbiorowa. „Kołos”, Leningrad 1969.
2. Chwostowa W.W.: Metodiczeskije woprosy primienienija izłuczenij i drugih mutagennych faktorow w selekcji rastienij. W: Spowremiennyje problemy radiacjonnoj genetyki. Red.: Dubinin N.P., Atomizdat, Moskwa 1969.
3. Dubinin N.P., Panin W.A.: Nowyje metody selekcji rastienij. „Kołos”, Moskwa 1967.
4. Gustafsson A.: The mutation system of the chlorophyl apparatus. Lund 1940.
5. Jenken W.B.: Eksperymentalnyj mutagenez u s/ch rastienij i jego ispolzowanije w selekcji. „Nauka”, Moskwa 1966.
6. Khvostosowa V.V.: Mutat. Res., t. 2, s. 339, 1965.
7. Pala J.: Badania radiacyjne w rolnictwie. PWRiL, Warszawa 1969.
8. Pala J.: Hod., Roślin, Aklim. i Nas., t. 16, nr 3, 1972.
9. Preobrażenskaja J.L.: Radioustojcziwost' siemian rastienij. Atomizdat, Moskwa 1971.
10. Sigurbjornsson B.: Scientific American, t. 224, nr 1, 1971.