

STANISŁAW MUSZYŃSKI

MUTAGENEZA CHEMICZNA W HODOWLI ROŚLIN

Cele hodowli mutacyjnej

W chwili obecnej nikt już nie neguje przydatności metod mutacyjnych w hodowli roślin. Nikt też już nie sądzi, że metody mutacyjne rozwiążą wszystkie, dotąd nie rozwiązane problemy. W ciągu ostatnich lat zmieniły się bowiem zasadniczo poglądy na wykorzystanie mutantów w hodowli (Muszyński, 1968). Obecnie większą uwagę zwraca się na wykorzystanie mutantów jako materiału wyjściowego do krzyżowania. Zdaniem Szkwarnikowa (Szkwarnikow, 1968), takie użycie mutantów zapewni skuteczniejszą realizację następujących celów hodowlanych:

- połączenie w mieszańcu wartościowych cech, indukowanych przy tym samym genotypie podstawowym;
- akumulacja zmian ilościowych i uzyskanie form transgresywnych ważnych cech;
- utrwalenie heterozji dzięki uzyskaniu stabilnych form heterozygotycznych poprzez zaindukowanie zrównoważonych czynników letalnych;
- przenoszenie pojedynczych cech korzystnych z jednych genotypów do innych dzięki wykorzystaniu aberacji chromosomowych przy krzyżowaniu form odległych;
- indukowanie aberacji chromosomowych celem rozbicia sprzężenia cech korzystnych i niekorzystnych;
- indukowanie mutacji w populacjach mieszańców celem stworzenia dodatkowej zmienności.

Indukowanie mutacji może być również przydatne przy realizacji pewnych celów specjalnych:

- indukowanie mutacji rzadkich, jak np. a) fertylności u form samoniezgodnych; b) mutacji cytoplazmatycznej męskiej sterylności; c) zdolności do samozapłodnienia u form apomiktycznych;
- pokonywanie barier uniemożliwiających krzyżowanie form odległych oraz barier sterylności u mieszańców tych form;
- otrzymywanie eksperymentalnych autopoliploidów, pozbawionych zaburzeń w procesie mejozy, itp.

Szkwarnikow podkreśla jednocześnie, że warunkiem skuteczności hodowli mutacyjnej jest:

- stworzenie obszernych kolekcji mutantów roślin uprawnych;
- badanie genetyczne i cytologiczne mutantów;
- opracowanie naukowych programów i schematów hodowlanych z wykorzystaniem czynników mutagennych i mutantów;
- zwrócenie większej uwagi na indukowanie mutacji cech ilościowych, fizjologicznych i biochemicznych, co z kolei wymaga opracowania i zastosowania specjalnych metod wykrywania, izolowania i wykorzystania mutacji tych cech.

Szkwarnikow wskazuje następnie, że wymienione zadania mogą być zrealizowane przy wykorzystaniu wszechstronnej wiedzy genetycznej i cytologicznej, bez której nawet wieloletnie wysiłki mogą być nieproduktywne.

Znaczenie metod mutacyjnych w hodowli roślin

W roku 1968 znajdowało się w uprawie 77 odmian różnych roślin uprawnych, uzyskanych dzięki wykorzystaniu mutantów indukowanych. Największa ich ilość otrzymana została po roku 1962 (tabela 1). Dynamika

Tabela 1

Odmiany roślin uprawnych uzyskane przy pomocy metod mutacyjnych (Sigurbjörnsson B., Micke A., 1969)

Rok otrzymania	Liczba odmian
przed 1950	1
1950—1952	2
1953—1955	3
1956—1958	2
1959—1961	7
1962—1964	15
1965—1967	26
1968—1970	18
Nieznana data	3
O g ó ł e m	77

pojawiania się nowych odmian świadczy wyraźnie o coraz powszechniejszym stosowaniu metod mutacyjnych w hodowli roślin. Trzeba zaznaczyć, że dane te zostały opublikowane w roku 1969, a więc ujmują wyniki uzyskane do roku 1968 włącznie.

Ciekawe jest porównanie czynników mutagennych, przy zastosowaniu których uzyskano wymienione odmiany (tabela 2). Ponad połowę ogół-

Tabela 2

Ilość odmian uzyskana przy pomocy poszczególnych czynników mutagennych (Sigurbjörnsson B., Micke A., 1969)

Czynnik mutageny	Liczba odmian
Promienie x	52
Promienie gamma	12
Neutrony	12
Substancje chemiczne	1
Ogółem	77

Tabela 3

Sposób wykorzystania mutantów przy otrzymywaniu nowych odmian (Sigurbjörnsson B., Micke A., 1969).

Metoda hodowlana	Liczba odmian
Bezpośrednie wykorzystanie mutantów	67
Użycie mutantów do krzyżowania	10
Ogółem	77

nej liczby stanowią mutanty, uzyskane przy pomocy promieni x. Jest to spowodowane łatwym dostępem do źródeł promieni x. Stosunkowo duży udział mutantów, uzyskanych przy pomocy neutronów, w mniejszym stopniu świadczy o dostępności neutronów, natomiast w większym stopniu o większej efektywności ich działania mutagennego.

Stosunkowo najmniej odmian uzyskano przy użyciu mutantów chemicznych. Powodem jest przede wszystkim brak opracowania standardowych metod postępowania z określonym związkem chemicznym przy konkretnych roślinach. Wydaje się jednak, że mutageneza chemiczna odgrywać będzie coraz większą rolę w hodowli mutacyjnej.

Porównanie sposobu wykorzystania hodowlanego mutantów przy uzyskaniu tych odmian (tabela 3) dowodzi, że olbrzymia większość zaindukowanych mutantów dała bezpośredni początek nowym odmianom bez konieczności krzyżowania. Wydaje się jednak, że o wiele większe możliwości daje zastosowanie mutantów w krzyżowaniu i że w miarę upływu czasu pojawiać się będzie coraz więcej odmian, w których mutanty stanowią jeden z wielu, a nie jedyny, składnik.

Interesujące jest również porównanie ilości odmian mutacyjnych u poszczególnych roślin uprawnych (tabela 4). Duża ilość odmian mutacyjnych u pszenicy i jęczmienia jest dowodem z jednej strony dużego znaczenia tych roślin oraz — z drugiej strony — stosunkowo dużej łatwości uzyskiwania mutacji. Wysoka liczba odmian u roślin ozdobnych jest dowodem jedynie łatwości uzyskiwania zmian, które mają znaczenie praktyczne u tych roślin, podczas gdy u innych roślin zmiany takie są bez znaczenia. Zwraca uwagę brak takich roślin jak żyto i ziemniaki. U tych ostatnich uzyskano obiecujące wyniki w wielu laboratoriach i otrzymanie nowych odmian jest tylko kwestią czasu. O wiele trudniejsza jest hodowla mutacyjna żyta, która jest prowadzona w szerszym zakresie przede wszystkim w ZSRR. Tym niemniej duże znaczenie żyta w naszych wa-

Tabela 4
 Odmiany roślin uprawnych uzyskane
 przy wykorzystaniu mutantów induk-
 wanych (Sigurbjörnsson B., Micke A.,
 1969)

Gatunek rośliny uprawnej	Liczba odmian
Pszenica (miękka)	7
Pszenica (twarda, <i>durum</i>)	3
Ryż	4
Jęczmień	11
Owies	4
Soja	4
Fasola	7
Groch	1
Orzech ziemny	1
Brzoskwinia	1
Tytoń	1
Krokosz	1
Rzepak	2
Gorczyca	1
Lespedeza	1
Rośliny ozdobne	28
O g ó ł e m	77

runkach wskazuje na konieczność podjęcia prac nad tą rośliną właśnie w Polsce.

Krótką historią odkrycia działania mutagennego związków chemicznych

Podobnie, jak w przypadku mutagenyzy radiacyjnej, początki mutagenyzy chemicznej nie zostały definitywnie ustalone. Wiadomo jest, że już w roku 1916 Erwin Baur opisał u wyzłinu mutantą *acorrugata*, który został zaindukowany działaniem substancji chemicznych. W latach międzywojennych Sacharow i jego uczniowie w ZSRR indukowali mutacje u muszki owocowej (*Drosophila*) przy pomocy jodu.

W latach II wojny światowej działanie mutagenne niektórych związków chemicznych zostało ponownie odkryte, niezależnie od siebie, przez panią Auerbach w Anglii oraz Oehlkersa w Niemczech i Rapoport w ZSRR. Auerbach stwierdziła efekt mutageny u iperytu, Oehlkers — uretanu, natomiast Rapoport — iminy etylenowej. W latach późniejszych Rapoport wykrył działanie mutagenne takich związków, jak N-nitrozo-

metylomocznik, N-nitrozoetylomocznik, sulfonat dwumetylowy oraz 1,4-bisdiazoacetylobutan, które posiadają wyjątkowo silne działanie mutagenne. Inny, powszechnie stosowany środek mutageny, sulfonat etylometanu, odkryty został przez Heslota we Francji.

Najczęściej stosowanymi środkami mutagennymi chemicznymi są obecnie: imina etylenowa, siarczan dwumetylowy oraz sulfonat etylometanu (Zoz, 1966).

Główne różnice w działaniu mutagenów fizycznych i chemicznych

Zasadniczymi różnicami w działaniu mutagenów chemicznych i fizycznych są:

— o wiele wyższa frekwencja mutacji indukowanych działaniem niektórych substancji chemicznych w porównaniu z najskuteczniejszymi czynnikami fizycznymi;

— pewne związki chemiczne indukują wysokie frekwencje mutacji genowych przy niewielkiej ilości aberacji chromosomowych;

— opóźnione ujawnianie się mutacji, indukowanych działaniem określonych mutagenów chemicznych.

Frekwencja mutacji, zaindukowanych przy pomocy mutagenów chemicznych, u mikroorganizmów jest znacznie wyższa niż przy zastosowaniu mutagenów fizycznych. Trzeba jednak zaznaczyć, że porównywać można w zasadzie jedynie maksymalne frekwencje mutacji, uzyskane w warunkach optymalnych dla danego mutagena. Dane uzyskane przez Westergaarda (1960) na przykładzie mutacji powrotnych dwu alleli u *Neurospora crassa* (tabela 5) dowodzą, że znacznie większe częstości mutacji

Tabela 5

Specyficzność działania czynników mutagennych na przykładzie dwu alleli (bezadeninowy i bezinozytolowy) u podwójnego mutantu *Neurospora crassa* — frekwencja mutacji wstecznych (Westergaard M., 1960)

Czynnik mutageny	Liczba mutacji na 10 ⁶ konidiów	
	inozytol +	adenina +
Mutacje spontaniczne	0,02	0,2
Sulfonat etylometanu (EMS)	11,3	17,4
Siarczan dwuetylowy (DES)	4,3	16,8
Siarczan dwumetylowy (DMS)	3,4	84,0
Sulfonat chloroetylometanowy	0,3	51,0
Diepoksybutan	0,2	89,0
Sulfonat bromoetylometanu	0,04	152,0
Promienie pozafioletkowe (uv)	7,1	3,5
Promienie x	0,2	3,2

uzyskano właśnie pod wpływem czynników chemicznych. Wyniki te wskazują również na niejednakową reakcję obu porównywanych loci na działanie tych samych czynników.

Podobne wyniki uzyskano u roślin wyższych, mianowicie u jęczmienia (tabela 6; Gustafsson 1960). Również u tych organizmów obserwuje się różną reakcję poszczególnych loci na działanie chemicznych czynników mutagennych (tabela 7; Chwostowa 1966). Wydaje się, że różne frek-

Tabela 6

Frekwencja różnych mutacji u jęczmienia pod wpływem czynników mutagennych (Gustafsson 1960; w skróceniu)

Czynnik mutageny i dawka	Mutacje (%)			Sterylność spowodowana translokacjami
	chlorofilowe	karłowe	inne	
Imina etylenowa:				
0,04% (nasiona suche)	27,0	6,2	12,7	38,7
0,05% (nasiona namoczone)	17,7	6,5	12,4	34,7
Neutrony, 640 rep	10,0	2,5	1,7	25,2
Promienie x, 8 kr	6,8	2,7	5,4	38,9

Tabela 7

Rodzaje mutantów otrzymane u pszenicy ozimej, odmiana PPG 186, przy pomocy różnych czynników mutagennych (Chwostowa W. W., 1966) (w % ogólnej liczby mutantów)

Rodzaj mutantów	Promienie gamma 10–20 kr	Neutrony prędkie 210–425 radów	Imina etylenowa 0,01–0,09%
Erektoidalne	11,1	32,2	13,4
„Squarhead”	29,8	17,3	4,4
Speltoidalne	26,0	31,2	5,6
Pozostałe	33,0	20,0	76,6
Ogółem ilość mutantów	81	207	324

wencje mutacji, uzyskane u różnych genów pod wpływem tych samych czynników, mogą stanowić wyjaśnienie różnych opinii, jakie istnieją w literaturze na temat skuteczności określonych mutagenów.

Bardzo ciekawym zjawiskiem jest fakt indukowania mutacji dominujących przez mutageny chemiczne. I w tym przypadku frekwencja mutacji jest różna w odniesieniu do różnych cech (tabela 8; Salnikowa i Zoz, 1966).

Tabela 8

Frekwencja różnych typów mutacji dominujących u pszenicy, zaindukowanych różnymi mutagenami chemicznymi; w % ogólnej ilości mutacji dominujących (Salnikowa T. W., Zoz N. N., 1966)

Mutagen	Typy mutacji							
	compac- tum	typ compac- tum	zbity kłos	zwarty wierz- chołek kłosa	spelto- ides	ości- stość	półości- stość	bez- ostność
N-nitrozometylomocznik	33,3	33,3	11,2	0	11,1	0	0	11,1
1,4-bis-diazoacetylobutan	0	0	40,0	0	0	20,0	20,0	20,0
Imina etylenowa	0	0	18,5	9,25	18,5	0	18,5	36,3

Tabela 9

Częstość mutacji i aberacji chromosomowych, indukowanych u pszenicy przy pomocy mutagenów chemicznych (%); Zoz N. N., 1966)

Mutagen	Stężenie %	Frekwencja	
		mutacji	aberracji
N-nitrozoetylomocznik	0,05	78,3	25,0
Imina etylenowa	0,08	33,8	25,0
Kwas dichloroetylofosforowy	0,02	34,2	0
Dwuetylosulfonat	0,2	41,7	5,0
1,4-bis-diazoacetylobutan	0,25	43,9	0

Poszczególne związki chemiczne indukują różną frekwencję aberracji chromosomowych. Tak np. Zoz (1966; tabela 9) stwierdził, że wysoka frekwencja mutacji może wystąpić zarówno przy wysokiej frekwencji aberracji chromosomowych, jak i przy ich braku.

Podstawą klasyfikacji mutagenów chemicznych na związki o działaniu bezpośrednim oraz o działaniu opóźnionym jest zdolność do uszkodzenia chromosomów podczas określonych faz cyklu komórkowego. Mutageny o działaniu bezpośrednim, takie jak np. promienie jonizujące, indukują aberracje chromosomowe we wszystkich fazach cyklu komórkowego. Działając mutagenami o efekcie opóźnionym na populację komórek asynchronicznych, obserwuje się aberracje chromosomowe dopiero po upływie kilku godzin. Jeżeli przed działaniem takich czynników wprowadzi się do komórki znakowaną trytem tyminę, aberracje wystąpią tylko w komórkach znakowanych. Oznacza to, że mutageny te nie działają na chromosomy w fazie postsyntetycznej, ale wyłącznie w fazie syntezy DNA. Obserwuje się przy tym aberracje jedynie typu chromosomowego. Do muta-

genów o efekcie opóźnionym należą m. in. imina etylenowa, sulfonat etylometanu, hydrazyd kwasu maleinowego (Protopopowa i in. 1970).

Wady i zalety stosowania mutagenów chemicznych w hodowli roślin

Porównanie indukowania mutacji przy pomocy czynników fizycznych oraz chemicznych może być dokonane w sposób następujący (Kamra i Brunner 1970):

a) czynniki chemiczne indukują wysokie frekwencje mutacji, a przynajmniej niektóre z nich w odniesieniu do badanych roślin;

b) stosowanie mutagenów chemicznych jest tańsze, gdyż wymagane są jedynie następujące warunki:

- mała ilość substancji mutagennej,
- zwykłe szkło laboratoryjne,
- wyciąg laboratoryjny;

c) ponieważ substancje mutagenne są jednocześnie związkami rakotwórczymi, przy stosowaniu ich należy zachować szczególne środki ostrożności. Niektóre osoby mogą objawiać reakcję alergiczną na działanie najmniejszych ilości mutagenów. Stwierdzono taką reakcję w odniesieniu do sulfonatu etylometanu (EMS), który jest jednym z najlepszych, a jednocześnie najmniej toksycznych mutagenów.

Prócz tych uwag, wspomnieć należy o dużych trudnościach przy działaniu czynnikami chemicznymi na większe ilości nasion, jak również przy wysiewie namoczonych nasion. Pewne trudności wynikają również z konieczności zapewnienia ściśle określonych, powtarzalnych warunków, jak np. równomierne nasiąkanie związkiem mutagennym oraz z konieczności przemywania nasion po działaniu czynników mutagennych.

Klasyfikacja chemiczna związków mutagennych

Liczba związków chemicznych, które posiadają zdolność indukowania mutacji, jest olbrzymia. Praktyczne zastosowanie znalazły jednak tylko nieliczne z nich.

Mutagenne związki chemiczne można podzielić na cztery główne grupy, a mianowicie na analogi zasad purynowych i pirymidynowych, antybiotyki, związki alkilujące oraz związki różne. Ponieważ najważniejsze związki mutagenne, tzn. sulfonat etylometanu (EMS), siarczan dwuetylowy (dES), imina etylenowa (EI), nitrozoetylouretan (NEU) i nitrozoetylocmocznik (NEH) należą do związków alkilujących, w niniejszym przeglądzie omówione zostaną tylko te ostatnie (w nawiasach podano stosowane powszechnie skróty nazw angielskich).

Analogi zasad ulegają inkorporacji do DNA, co nie powoduje zahamowania replikacji. Powodują one jedynie odmienne parowanie odpo-

wiadających sobie zasad w czasie kolejnej replikacji, dając w ten sposób początek mutacjom. Najczęściej stosowanymi związkami tego typu są analogi tyminy: 5-bromouracyl (3 BU) oraz 5-bromodeoksyurydyna (BudR) i analog adeniny, 2-aminopuryna (AP). 5-bromouracyl indukuje mutacje u roślin wyższych, jednakże frekwencja ich nie jest duża. Stwierdzono też, że nie będące analogami zasad, wchodzących w skład DNA, N-metylowane oksypuryny wywołują aberacje chromosomowe. Najskuteczniejszymi są 8-etoksykafaina i kwas 1,3,7,9-tetrametylomoczwowy. Obie te substancje nie ulegają inkorporacji do DNA. Podobnie hydrazyd maleinowy (MH) powoduje aberacje chromosomowe prawdopodobnie poprzez reakcję z grupami sulfhydrylowymi, a nie dzięki swemu podobieństwu do uracylu.

Antybiotyki nie posiadają większego znaczenia w indukowaniu mutacji.

Związki alkilujące

Jest to najliczniejsza i najważniejsza grupa mutagenów chemicznych. Związki te charakteryzują się posiadaniem specyficznych grup funkcyjnych, zwanych grupami alkilowymi (tabela 10). Grupy te mogą być przy-

Tabela 10

Klasy związków alkilujących (Heslot H., 1970)

Klasa	Grupa funkcyjna
Iperyty siarkowe	$—S—CH_2 CH_2Cl$
Iperyty azotowe	$\begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} NCH_2CH_2Cl$
Epoksydy	$\begin{array}{c} —CH—CH_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \quad O \end{array}$
Iminy etylenowe	$—N \begin{array}{l} \diagup CH_2 \\ \diagdown CH_2 \end{array}$
Siarczany i sulfonaty	$—SO_2OR$
Dwuazoalkany	$N \equiv N—R$
Związki nitrozowe	$\begin{array}{l} ON \\ \diagdown \\ R \end{array} N—R^*$

łączane do innych substancji w miejscach nukleofilnych, o dostatecznie wysokiej gęstości elektronowej. Właśnie zamiana wodoru jakiegokolwiek substancji na grupę alkilową nosi nazwę alkilacji. Substancje, które przyłączyły grupy alkilowe, stają się niestabilnymi.

Ważną cechą związków alkilujących jest liczba grup funkcyjnych. Może ona wynosić od jednej do trzech. Najbardziej mutagennymi są związki monofunkcyjne, natomiast związki dwu- i trójfunkcyjne są o wiele mniej skuteczne (tabela 11; Ehrenberg 1960). Jednakże toksycz-

Tabela 11

Skuteczność mutacyjna mono- i polifunkcyjnych związków alkilujących u jęczmienia – frekwencja mutacji chlorofilowych w ‰ w stosunku do potomstwa jednego kłosa (Ehrenberg 1960).

Związki monofunkcyjne	‰ mutacji	Związki polifunkcyjne	‰ mutacji
Tlenek etylenu	13	Dwuetoksybutan	1,5
Glicydol	22	Trójetylenomelanina	1,5
Imina etylenowa	33	Myrelan	5,6
Sulfonat metylometanu	16		
Sulfonat etylometanu	50—54		
Sulfonat propylometanu	26		

ność związków dwufunkcyjnych jest większa od związków monofunkcyjnych (Heslot, 1970). Prawdopodobnie związki dwufunkcyjne powodują sieciowanie spirali DNA, tworząc mostki pomiędzy obiema niciami spirali, co powoduje efekt letalny.

Związki alkilujące są bardzo reaktywne, mogą reagować nawet z wodą. Stąd wynika konieczność stosowania świeżo przygotowanych roztworów. Aczkolwiek ulegają one rozkładowi, produkty hydrolizy mogą być toksyczne. Tak np. w wyniku hydrolizy EMS powstaje kwas metanosulfonowy oraz alkohol etylowy:



Miernikiem szybkości hydrolizy związków alkilujących jest okres półtrwania, oznaczający czas, po upływie którego połowa pierwotnej ilości substancji ulega rozkładowi (tabela 12; Heslot 1970). Trzeba zaznaczyć, że szybkość hydrolizy zależy od temperatury oraz w niektórych przypadkach również od pH.

Przy stosowaniu związków alkilujących, konieczne jest zachowanie szczególnych środków ostrożności, ponieważ większość z nich może być rakotwórcza. Poza tym, niektóre są bardzo lotne. Tak np. imina etylenowa, której temperatura wrzenia wynosi 56°C, może być stosowana tylko pod dobrze działającym wyciągiem. Mniej lotnym jest sulfonat etylometanu (EMS), który wrze przy 85—86°C. Natomiast nitrozometylomocznik winien być używany w małych ilościach (50—100 g), ponieważ jest wybuchowy.

Tabela 12

Okres półtrwania niektórych związków alkilujących w wodzie w pH = 7 (Heslot 1970)

Związek alkilujący	Temperatura		
	20°C	30°C	37°C
Iperyt siarkowy	—	—	ok. 3 min.
Sulfonat metylometanu	68 godz.	20 godz.	9,1 godz.
Sulfonat etylometanu	93 „	26 „	10,4 „
Sulfonat n-propylometanu	111 „	37 „	—
Sulfonat izo-propylometanu	108 min.	35 min.	13,6 min.
Sulfonat n-butylometanu	105 godz.	33 godz.	—
Siarczan dwuetylu	3,34 „	1 „	—
Epichlorohydryna	—	—	36,3 godz.
Uretan N-nitrozo-N-metylowy	—	35 „	—
Uretan N-nitrozo-N-etylowy	—	84 „	—
Uretan N-nitrozo-N-propylowy	—	103 „	—

U w a g a : Trzy ostatnie związki nitrozowe hydrolizują około 10 razy szybciej w pH = 8 i około 100 razy szybciej w pH = 9.

Najważniejsze właściwości głównych mutagenów chemicznych podano w tabeli 13 (Heslot 1970).

Związki alkilujące oddziałują przede wszystkim na DNA, powodując alkilację grup fosforanowych oraz zasad purynowych i pirymidynowych. Najłatwiej ulegają alkilacji zasady purynowe: przede wszystkim guanina, następnie adenina, a w mniejszym stopniu pirymidynowe, jak np. cytozyna. Nie stwierdzono alkilacji tyminy.

Alkilacja zasad powoduje czasami zmianę konfiguracji, wywołując pęknięcie wiązania między zasadą i dezoksyrybozą w drobinie DNA. Odłączenie zasady może z kolei doprowadzić do pęknięcia wiązania między cukrem a kwasem fosforowym w miejscu odłączenia zasady.

Najczęstszym efektem alkilacji zasad jest zjawisko tranzycji, oznaczające zastąpienie jednej zasady purynowej przez inną purynę albo zasady pirymidynowej przez inną pirymidynę.

Sposób stosowania

Najczęściej stosuje się moczenie nasion, chociaż czasami wstrzykuje się odpowiednie ilości substancji mutagennej do rośliny lub też zwilża się wierzchołki wzrostu przy pomocy tamponów z waty. Czasami stosuje się dodawanie substancji mutagennych do pożywki, aby wniknęły do rośliny przez korzenie. Można też działać parami tych substancji na pyłek.

Szczególną uwagę należy zwrócić na dobór odpowiedniego stężenia (tabela 14; Zoz 1968). Trzeba jednak podkreślić, że zarówno stężenie, jak

Tabela 13

Właściwości fizyczne i chemiczne najważniejszych mutagenów chemicznych
(Heslot 1970)

Mutagen	Stan	Gęstość	Rozpuszczalność w wodzie	Temperatura topnienia lub wrzenia	Okres półtrwania w wodzie przy pH 7		Ciężar cząsteczkowy
					20°C	30°C	
EMS (sulfonat etylometanu)	bezbarwna ciecz	D ₄ ²⁵ 1,203	ok. 8‰	t.w. 85—86°C	93 godz.	26 godz.	124
EI (imina etylenowa)	bezbarwna ciecz	D ₄ ³⁹ 0,832	we wszystkich proporcjach	t.w. 56°C	—	—	43
NEU (uretan nitrozoetylowy)	ciecz różowa	D ₄ ¹⁷ 1,088	ok. 0,5‰	t.w. 53°C	—	84 godz.	146
NEH (mocznik nitrozoetylowy)	ciało stałe barwy żółtej	—	—	t.t. = 98—100°C	—	—	117

Tabela 14

Koncentracje mutagenów chemicznych, zalecane dla różnych roślin uprawnych
(Zoz N.N., 1968)

Mutagen	Koncentracja ‰	
	dla roślin wrażliwych	dla roślin odpornych
Imina etylenowa	0,001—0,03	0,003—0,06
N-nitrozoetylomocznik	0,012—0,025	0,025—0,1
N-nitrozometylomocznik	0,005—0,012	0,012—0,025
1,4-bis-diazoacetylobutan	0,05 —0,1	0,1 —0,2
Siarczan dwuetylu	0,05 —0,1	0,1 —0,2
Siarczan dwumetylu	0,01 —0,02	0,15 —0,04
Sulfonat etylometanu	0,1 —0,15	0,15 —0,25

i czas działania winny być każdorazowo określone przy pomocy testu zahamowania wzrostu.

Na zakończenie trzeba stwierdzić, że mutageneza chemiczna wstąpiła już w okres zastosowań praktycznych. Wydaje się celowe omówienie jej osiągnięć i wyników u poszczególnych roślin w odrębnym, obszerniejszym artykule.

LITERATURA

1. Chwostowa W. W.: Trudy Moskowskiego obszczestwa isnytatielnoj prirody, t. 23, s. 9—22, 1966.
2. Ehrenberg L.: Abh. Deutsch, Ak. Wiss. Kl. Med. N. 1, s. 124—136, 1960.
3. Gustafsson A.: Abh. Deutsch. Ak. Wiss. Kl. Med. N. 1, s. 14—29, 1960.
4. Heslot H.: Review of main mutagenic compounds. Manual on mutation breeding. Technical Reports Series N. 119, IAEA, Vienna 1970, s. 53—62.
5. Kamra O. P., Brunner H.: Mode of action. Manual on mutation plant breeding. Technical Reports Series No. 119, IAEA, Vienna 1970, s. 66—69.
6. Muszyński S.: Postępy Nauk Rolniczych, nr 2; s. 71—80, 1968.
7. Protopopowa E. M., Szewczenko B. B., Grigorjewa G. A.: Gienietika v. 6, Nr 1; s. 29—35, 1970.
8. Salnikowa T. W., Zoz N. N.: Typy dominantnych mutacji, wyzowanych chemiczeskimi mutagenami. w: Rapoport A. I. (ed.): Supiermutagieny. Izw. Nauka, Moskwa 1966, s. 121—130.
9. Sigurbjörnsson B., Micke A.: Progress in mutation breeding. Induced Mutations in plants. IAEA, Vienna 1969, s. 673—698.
10. Szkwarnikow P. K.: Ekspierimentalnyj mutagieniez i selekcja rastienij. Primienienije ekspierimentalnych mutacji w selekcji rastienij. Tezisy dokładow simpozjuma. Naukowa Dumka, Kijew 1968, s. 3—6.
11. Westergaard M.: Abh. Deutsch. Ak. Wiss. Kl. Med. N 1; s. 30—44, 1960.
12. Zoz N. N.: Chemiczeskij mutagieniez u wysszych rastienij. Rapoport A. I. (ed.): Supiermutagieny. Iz-wo Nauka, Moskwa 1966, s. 93—105.
13. Zoz N. N.: Mietodika ispolzowanija chemiczeskich mutagenow w selekcji sielskochozajstwiennych kultur. Mutacjonnaja selekcja. Nauka, Moskwa 1968, s. 217—230.