

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

261157

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 06 02 87
(21) PV 799-87.E

(51) Int. Cl.⁴

A 01 H 1/06

(40) Zveřejněno 15 06 88

(45) Vydáno 15 06 89

(75)

Autor vynálezu

GICHNER TOMÁŠ RNDr. CSc., JUŘÍČEK MILOSLAV ing.,
VELEMÍNSKÝ JIŘÍ RNDr. CSc., STANĚK JAN RNDr. CSc.,
MORAVCOVÁ JITKA ing. CSc., JARÝ JIŘÍ prof. ing. DrSc., PRAHA

(54) Mutagenní prostředek ke šlechtění rostlin

Použití 3-azido-1,2-propandiolu jako
mutagenního prostředku ke šlechtění rostlin.

Vynález se týká mutagenního prostředku ke šlechtění rostlin.

K indukci mutací u rostlin se dnes používá celá řada chemických sloučenin, převážně alkylačních látek, jako například ethylmethansulfonát, methylnitrosomočovina apod. Nevýhodou těchto látek je jejich relativně vysoké riziko pro manipulátora, způsobené genotoxickými účinky na savčí a lidské buňky a z nich vyplývající karcinogenity.

Uvedené nevýhody odstraňuje použití 3-azido-1,2-propandiolu ke šlechtění rostlin. Jak bylo prokázáno (M. Juříček et al., Mutat. Res. v tisku), 3-azido-1,2-propandiol neindukuje u lidských periferních lymfocytů výměny sesterských chromatidů a chromosomální aberace a dá se tedy předpokládat, že jeho použití bude relativně bezpečnější, než při práci s dosud používanými chemomutageny.

3-azido-1,2-propandiol je ve vodném roztoku stálý a jeho účinek nezávisí na pH prostředí a zřejmě též na metabolické aktivaci.

Použití je dokumentováno na následujících příkladech.

P ř í k l a d 1

Arabidopsis thaliana, odrůda Dijon

Suchá semena byla namočena do vodného roztoku 3-azido-1,2-propandiolu na 24 hod při 25 °C. Po promytí vodou (30 min) byla vyseta do půdy ve skleníku. Pro hodnocení frekvence mutací a stupně sterility byla použita metoda A. J. Müllera, Biol. Zentralbl. 82, 113 (1963). Byly hodnoceny vždy 3 šesulky z 60 rostlin, celkem tedy 180 M₁ šesulek.

Jak vyplývá z tab. 1, vykazuje 3-azido-1,2-propandiol v závislosti na dávce vysoký mutagenní účinek. Nejvyšší použitelná koncentrace 30 mmol/l indukovala 92,9 % šesulek štěpících na chlorofylové a letální mutace. Vyšší koncentrace nemohly již být hodnoceny, neboť ovlivněné rostliny byly sterilní. Azid sodný je na tomto systému nemutagenní (T. Gichner, J. Velemínský, Biol. Plantarum 19, 153 (1977)).

P ř í k l a d 2

Tradescantia, klon 4 430

Z květenství řízku *Tradescantia* bylo odstraněno 4 až 6 poupat a do vzniklé mezery bylo aplikováno 20 µl vodného roztoku 3-azido-1,2-propandiolu. Kultivace probíhala v Hoaglandově roztoku ve světelném boxu (18 °C, 16 hod světla denně). Pro každou koncentraci bylo použito 5 až 10 květů, to je 1 500 až 3 000 trichomů tyčinek květů. Somatické mutace v barvě trichomových buněk květních tyčinek byly hodnoceny dle Underbrinka et al. (A. G. Underbrink, L. A. Schairer, A. H. Sparrow, Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection, Vol 3, Plenum Press, New York, 171 až 207 (1973)).

3-azido-1,2-propandiol silně zvyšoval frekvenci somatických mutací v závislosti na dávce (Tab. 2). Optimální dávka 250 mmol/l zvyšovala 40krát frekvenci somatických mutací, což reprezentuje velmi vysoký mutagenní účinek. Azid sodný byl na tomto systému neúčinný (J. Velemínský et al., Mutat. Res., v tisku).

P ř í k l a d 3

Hordeum vulgare, var. Spartak

Semena ječmene byla namočena na 24 hod do vodného roztoku 3-azido-1,2-propandiolu při 25 °C. Po následujícím 15 min promytí byla vyseta na pokusné pole (400 semen pro každou

koncentraci). Po měsíci růstu bylo vyhodnoceno procento klíčivosti. Hodnoty fertility a frekvence mutací byly hodnoceny dle Gaula (H. Gaul, Radiat. Bot., 4, 155 (1964)).

Působení 3-azido-1,2-propandiolu vedlo ke zvýšení frekvence chlorofylových mutací a současně ke snížení fertility a to opět v závislosti na dávce. Klíčivost semen byla ovlivněna méně. Při nejvyšší použité dávce 10 mmol/l došlo ke zvýšení frekvence segregujících M_1 klasů asi 30krát nad spontánní úroveň (Tab. 3). Účinnost 3-azido-1,2-propandiolu se rovnala účinnosti azidu sodného, který patří u tohoto organismu mezi nejsilnější mutageny (A. Kleinhofs, W. M. Owais, R. A. Nilan, Mutat. Res., 55, 165 (1978)).

Závěr

Z uvedených příkladů je zřejmé, že 3-azido-1,2-propandiol má u testovaných rostlin extrémně vysoký mutagenní účinek, který je na úrovni takových supermutagenů jako například methylnitrosomočovina (T. Gichner et al., Biol. Zentralbl., 101, 375 (1982)).

Vzhledem k univerzálnosti jeho působení u rostlin, demonstrovaném na výše uvedených příkladech, relativní bezpečnosti při práci (neindukuje chromosomální aberace ani sesterské chromatidové výměny u lidských periferních lymfocytů (M. Juříček et al., Mutat. Res., v tisku)), vysoké rozpustnosti ve vodě, nezávislosti jeho mutagenního působení na pH prostředí, stabilitě ve vodných roztocích a mutagenitě u těch rostlinných druhů, kde azid sodný byl neúčinný etc., jeví se 3-azido-1,2-propandiol jako nový, perspektivní mutagen pro použití na šlechtění kulturních rostlin.

T a b u l k a 1

Mutagenní aktivita 3-azido-1,2-propandiolu u *Arabidopsis thaliana*

Konc. mutagenu (mmol/l)	Štěpící M_1 šesulky (%)	M_1 šesulky s chlorofyl. mutacemi (%)	Stupeň sterility (%)
30,0	92,9	27,2	85,4
20,0	78,7	12,6	33,7
15,0	69,2	12,8	38,3
12,5	56,5	14,1	22,8
10,0	54,8	8,3	15,0
7,5	23,3	2,8	4,4
5,0	20,0	0	6,9
2,5	11,2	1,7	7,3
1,0	12,2	0	8,4
pufr	1,7	0	0,5

T a b u l k a 2

Mutagenní aktivita 3-azido-1,2-propandiolu u *Tradescantia 4 430*

Konc. mutagenu (mmol/l)	Počet hodnocených trichomů	Počet růžových mutací	% růžových mutací
250	21 804	1 777	8,15
1 100	23 484	1 003	4,27
75	26 672	916	3,43
50	24 578	622	2,55
25	22 809	335	1,47
0	34 920	69	0,20

T a b u l k a 3

Mutagenní účinek 3-azido-1,2-propandiolu u *Hordeum vulgare*, var. Spartak

Konc. mutagenu (mmol/l)	M ₁ klíčivost (%)	M ₁ fertilita (%)	Počet M ₁ klasů	Frekvence štěpících M ₁ klasů	Počet M ₂ semen	Frekvence chlorofylových mutací
10,0	71,5	2,2	12	33,3	20	20,0
5,0	82,3	29,8	519	36,8	2 832	12,8
2,5	82,5	48,6	672	29,2	6 928	5,7
1,0	83,8	69,7	597	10,6	8 632	1,7
0	79,5	84,0	461	1,1	8 486	0,06

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Použití 3-azido-1,2-propandiolu jako mutagenního prostředku ke šlechtění rostlin.