

ELŻBIETA ADAMSKA
WOJCIECH RYBIŃSKI

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Ocena reakcji odmian jęczmienia jarego na działanie chemomutagenu i światła lasera na podstawie wybranych cech ilościowych

The reaction of spring barley varieties to chemomutagen and laser light for some quantitative

Celem przeprowadzonych badań było określenie synergistycznego działania azydku sodu z światłem lasera na zmienność cech ilościowych w pokoleniu M_1 ze szczególnym uwzględnieniem roli genotypu wyjściowego na uzyskane efekty. Materiał do badań stanowiły trzy odmiany jęczmienia jarego których ziarniaki poddawano działaniu azydku sodu (AS), światła lasera oraz kombinacji łączonych (AS + laser i laser + AS). W pokoleniu M_1 analizowano zmienność cech ilościowych roślin dotyczących cech struktury plonu. O ile najkrótszy z czasów ekspozycji laserowej (30 minut) dla odmian i wybranych cech indukował w porównaniu z kontrolą efekt biostymulacji, to dłuższe naświetlanie wywoływało obniżenie wartości badanych cech. Azydek sodu z kolei indukował wyłącznie uszkodzenia somatyczne. Kombinacje łączone (AS + laser i laser + AS) wywoływały przede wszystkim redukcję wartości badanych cech, z tym, że jej wartość była niższa aniżeli przy wyłącznym stosowaniu AS i wyższa niż przy wyłącznym naświetlaniu laserem. Zmienność wartości badanych cech struktury plonu zależna była od rodzaju materiału wyjściowego. Najwyższe, istotne wartości kontrastu między cechami roślin M_1 a kontrolą uzyskano dla odmiany Boss, niższe natomiast dla odmian Rudzik i Rambo.

Słowa kluczowe: jęczmień, laser, mutagen, pokolenie M_1 , struktura plonu, szkodliwość somatyczna

The aim of the performed investigation on barley was estimation of influence of a combined treatment with sodium azide and laser light on variability of quantitative traits in M_1 progeny as well as the influence of initial material on the obtained results. The object of the investigation constituted grain of three barley varieties treated with chemomutagen — sodium azide (SA), laser light and their combinations (SA + laser and laser + SA). Variability of yield structure parameters was analysed in the M_1 progeny. The laser light emission for 30 min. induced a biostimulation effect. For longer irradiation of grains (90 and 120 min.) a reduction effect was observed. A separate treatment with SA induced only a decrease of the analysed traits. The combined treatment (SA + laser and laser + SA) induced reduction, which was lower as compared to the sole treatment with SA but higher than the exclusive irradiation with laser light. The variation among the M_1 plants depended on initial material used for the mutagenic treatment. The highest significance contrast values between the traits of control and M_1 generation were obtained for the variety Boss, the smaller ones were recorded for the varieties Rambo and Rudzik.

Key words: barley, laser, mutagen, M_1 progeny, somatic injuries, yield structure

WSTĘP

Obok rekombinacji mutacje są podstawowym czynnikiem uzyskiwania zmienności genetycznej cech u wszystkich organizmów żywych. Z uwagi na fakt, że mutacje spontaniczne u roślin pojawiają się z niską częstotliwością, bez możliwości przewidywania ich wystąpienia, ich znaczenie praktyczne ma charakter marginalny. Wykorzystanie mutacji indukowanych pozwoliło na istotne podwyższenie częstotliwości ich uzyskiwania i efektywności wykorzystania w badaniach podstawowych oraz praktyce hodowlanej (Gottschalk i Wolff, 1983).

Szybki rozwój mutagenезy w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych pozwolił opracować metodykę traktowań mutagennych (Małuszyński i in., 1978) a wprowadzenie szeregu modyfikacji w procesie indukowania mutacji (Małuszyńska, 1981) jak również wprowadzenie do badań nowych mutagenów pozwoliło istotnie zwiększyć uzyskiwaną zmienność genetyczną cech (Kubjak i Huczkowski, 1981; Gottschalk i Wolff, 1983). Do chemomutagenów wprowadzonych do badań na początku lat siedemdziesiątych należy azydek sodu (Nilan i in., 1973). W porównaniu z stosowanymi dotąd chemomutagenami (MNU, NEU, EI, EMS itp.) azydek sodu okazał się nie tylko mutagenem wywołującym wysoką częstotliwość mutacji (Rybiński in., 1993), ale w porównaniu z innymi chemomutagenami jego wysoka efektywność dotyczyła indukowania mutacji punktowych a w mniejszym stopniu natomiast mutacji chromosomowych. Mimo że w porównaniu z powszechnie stosowanym MNU azydek sodu indukuje u roślin pokolenia M_1 mniejszą szkodliwość somatyczną, nie mniej jej obecność istotnie wpływa na redukcję liczby otrzymywanych ziaren z roślin M_1 uniemożliwiając często (zwłaszcza przy wyższych dawkach mutagenu) uzyskanie odpowiednio dużej populacji roślin w pokoleniu M_2 .

W latach osiemdziesiątych na szerszą skalę zaczęto wykorzystywać światło lasera do mikrochirurgii komórki i subkomórkowych struktur (Weber i in., 1988), modyfikacji komórki roślinnej, tkanek i indukowania fuzji protoplastów (Wiegand Steubing i in., 1987) oraz fragmentacji chromosomów (Monajembashi i in., 1986). Okazało się również, że światło lasera helowo-neonowego w krótkich czasach naświetlania nasion wywołuje silny efekt biostymulacyjny (Vasilevski, 1991) natomiast wydłużanie czasów naświetlania prowadzi do uszkodzenia materiału genetycznego komórki i powstawania mutacji (Dudin, 1989; Rybiński i in., 1993). Obecnie w praktyce z powodzeniem wykorzystuje się biostymulacyjne właściwości lasera w podwyższaniu plonowania łubinu (Podleśny, 1997), bobiku (Podleśny, 1997), kukurydzy (Gieroba i in., 1995), pszenicy (Drozd i in., 1999), pomidora (Koper, 1997) i ogórka (Gładyszewska i Koper, 1997).

Specyficzne właściwości światła lasera oraz wysoka efektywność chemomutagenu — azydku sodu skłoniły nas do określenia ich współdziałania w pokoleniu M_1 .

Celem badań było określenie reakcji odmian jęczmienia jarego na synergistyczne działanie azydku sodu i światła lasera wyrażone poziomem szkodliwości somatycznej u roślin pokolenia M_1 .

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły ziarniaki jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.) odmiany Boss, Rambo i Rudzik, które poddawano działaniu chemomutagenu — azydku sodu (AS) oraz światła lasera. Przed rozpoczęciem traktowań mutagenem ziarniaki moczone w wodzie destylowanej przez okres 10 godzin w temperaturze 24°C. Po zakończeniu moczenia ziarniaki zanurzano w wodnym roztworze azydku sodu, który stanowił bufor fosforowy o pH 3,0. Traktowanie prowadzono przez 3 godziny przy stężeniu AS wynoszącym 4,0 mM.

Źródłem naświetlania ziarniaków był laser helowo-neonowy (H-Ne) emitujący światło czerwone o długości fali 632 nm i mocy mierzonej na powierzchni obiektu wynoszącej 1 mW/cm². Stosowano trzy czasy naświetlania: 30, 90 i 120 minut.

Oprócz wyłącznego traktowania ziarniaków przez AS oraz światło lasera stosowano także traktowania łączone. W kombinacji typu laser + AS najpierw naświetlano ziarniaki a potem traktowano mutagenem, w kombinacji AS + laser postępowano odwrotnie. Ziarniaki nie poddawane działaniu mutagenu i lasera stanowiły kombinacje kontrolną.

Po zakończeniu traktowania ziarniaki wysiewano na poletka w układzie bloków losowanych w trzech powtórzeniach i rozstawie 20 x 5 cm. Po zbiorze roślin określano ich strukturę plonu w odniesieniu do liczby płodnych kłosów z rośliny oraz liczby i masy ziaren w kłosie. Analizę materiału pokolenia M₁ prowadzono wykorzystując wielozmienne metody statystyczne (Caliński i in., 1976; Ceranka i in., 1977) w odniesieniu do poszczególnych odmian oraz kombinacji i porównań średnich wartości badanych cech roślin M₁ z ich formami wyjściowymi.

WYNIKI I DYSKUSJA

Jednym z efektów towarzyszących indukowaniu mutacji jest występowanie uszkodzeń somatycznych u roślin pokolenia M₁ (Rybiński, 2001). Ich wielkość zależy od rodzaju użytego mutagenu, jego dawki i rodzaju materiału wyjściowego (Małuszyński i in., 1978; Stawiński i in., 2000). Wskazują na to również wartości średnich dla badanych odmian i cech przedstawione w tabeli 1.

Ocenę i wyniki testowania porównań dla badanych cech i odmian między kombinacjami a kontrolą oraz między kombinacjami przedstawiono w tabelach 2, 3 i 4. Wartości statystyki F dla odmian łącznie wskazują, że większość dawek AS i światła lasera oraz ich wzajemnych kombinacji istotnie wpływała na zróżnicowanie badanych cech. Najwyższe wartości statystyki F uzyskano dla azydku sodu zwłaszcza w odniesieniu do liczby i masy ziaren z kłosa, przy czym więcej istotnych wartości kontrastu obserwowano dla odmiany Boss aniżeli Rudzik i Rambo. Stosując zróżnicowane dawki MNU u jęczmienia (Rybiński, 2001) obserwowano również obniżenie płodności roślin M₁ a jej redukcja była zależna od dawki mutagenu i rodzaju materiału wyjściowego. W odniesieniu do światła lasera 30 minut dla wszystkich cech i odmian uzyskano ujemne wartości kontrastu. Wskazuje to na wystąpienie efektu biostymulacji.

Tabela 1

Średnie wartości badanych cech po działaniu różnych kombinacji azydki sodu i lasera dla roślin pokolenia M₁ i ich form wyjściowych
Mean values for the analyzed traits of M₁ plants and their initial forms after treatment with sodium azide and laser

Kombinacje Treatments	Cecha — Trait								
	liczba płodnych kłosów z rośliny fertile spikes number per plant			liczba ziaren z kłosa grain number per spike			masa ziaren z kłosa (g) grain weight per spike (g)		
	Boss	Rambo	Rudzik	Boss	Rambo	Rudzik	Boss	Rambo	Rudzik
Kontrola (H ₂ O) Control	8,1	9,7	11,1	22,7	20,8	23,6	1,17	1,13	1,23
Laser 30 min. (L1)	9,2	9,9	13,5	24,5	24,1	24,8	1,30	1,30	1,30
Laser 90 min. (L2)	7,7	7,7	12,3	20,7	19,3	20,6	1,03	0,90	1,07
Laser 120 min. (L3)	7,2	6,9	12,2	19,2	17,7	18,7	0,93	0,87	0,93
Azydek sodu 4mM (AS)	4,9	8,4	8,6	10,4	16,7	18,4	0,60	0,77	0,80
L1 + AS	7,2	9,3	13,0	18,2	18,4	20,6	0,97	0,97	0,97
L2 + AS	6,7	6,3	9,9	14,3	17,5	21,1	0,73	0,87	1,00
L3 + AS	5,4	6,8	8,0	13,5	17,3	19,9	0,53	0,77	1,00
AS + L1	5,7	7,4	9,4	17,5	19,7	20,5	0,80	1,00	1,03
AS + L2	5,6	7,0	8,9	15,2	19,4	19,8	0,73	0,90	0,93
AS + L3	4,8	6,4	8,7	13,0	17,5	18,5	0,53	0,77	0,90

Tabela 2

Ocena i wyniki testowania porównań między dawkami azydki sodu i lasera dla liczby płodnych kłosów na roślinie

The estimation and results of comparison between treatments with of sodium azide and laser for the number of fertile spikes per plant

Kontrast Contrast		Ocena kontrastu dla Estimation of contrast for			Wartość stat. F łącznie dla odmian F value jointly for all varieties
		odmiana — variety			
		Boss	Rambo	Rudzik	
Kontrola Control	Laser 30 min. (L1)	-1,1	-0,3	-2,4**	7,65
	Laser 90 min. (L2)	0,4	1,9*	-1,2	0,69
	Laser 120 min. (L3)	0,9	2,8**	-1,1	3,64
	Azydek sodu 4mM (AS)	3,2**	1,3	2,5**	26,66
	(L1 + AS)	0,9	0,4	-1,8	0,13
	(L2 + AS)	1,4	3,4**	1,2*	19,62
	(L3 + AS)	2,7**	2,9**	3,1**	41,11
	(AS + L1)	2,4**	2,2**	1,7*	21,62
	(AS + L2)	2,4**	2,7**	2,2**	28,99
	(AS + L3)	3,3**	3,2**	2,4**	43,34
L1 - (L1 + AS)		2,0*	0,7	0,6	5,75
L1 - (AS + L1)		3,5**	2,5**	4,1**	54,98
(L1 + AS) - (AS + L1)		1,4	1,8*	3,6**	25,17
L2 - (L2 + AS)		1,0	1,5	2,4**	12,94
L2 - (AS + L2)		2,0*	0,7	3,4**	20,72
(L2 + AS) - (AS + L2)		1,0	-0,7*	1,0	0,91
L3 - (L3 + AS)		1,8*	0,1	4,2**	20,28
L3 - (AS + L3)		2,4**	0,4	3,5**	21,85
(L3 + AS) - (AS + L3)		0,6	0,3	-0,7	0,03
Wartości krytyczne F _{0,05} — Critical values F _{0,05}					3,99
Wartości krytyczne F _{0,01} — Critical values F _{0,01}					7,05

* — Istotność na poziomie $\alpha = 0,05$ * — Significance at $\alpha = 0.05$ ** — Istotność na poziomie $\alpha = 0,01$ ** — Significance at $\alpha = 0.01$

Tabela 3

Ocena i wyniki testowania porównań między dawkami azydku sodu i lasera dla liczby ziaren z kłosa
The estimation and results of comparison between treatments with of sodium azide and laser for grain number per spike

Kontrast Contrast		Ocena kontrastu dla Estimation of contrast for			Wartość statystyczna F łącznie dla odmian F value, jointly for all varieties
		odmiana — variety			
		Boss	Rambo	Rudzik	
Kontrola Control	Laser 30 min. (L1)	-1,8	-3,2**	-1,2	13,26
	Laser 90 min. (L2)	2,0*	1,6	3,0	14,41
	Laser 120 min.(L3)	3,5**	3,1**	4,9**	43,94
	Azydek sodu 4mM (AS)	12,3**	4,2**	5,2**	156,86
	(L1 + AS)	4,5**	2,4*	3,0**	32,97
	(L2 + AS)	8,4**	3,3**	2,5*	68,01
	(L3 + AS)	9,2**	3,6**	3,7**	90,60
	(AS + L1)	5,2**	1,1	3,1**	29,95
	(AS + L2)	7,5**	1,4	3,8**	53,89
	(AS + L3)	9,7**	3,3**	5,1**	109,07
L1 - (L1 + AS)		6,3**	5,7**	4,2**	88,05
L1 - (AS + L1)		7,1**	4,3**	4,4**	83,06
(L1 + AS) - (AS + L1)		0,7	-1,3	0,1	0,07
L2 - (L2 + AS)		6,4**	1,8	-0,4	19,81
L2 - (AS + L2)		5,5**	-0,2	0,8	12,57
(L2 + AS) - (AS + L2)		-0,9	-1,9	1,3	0,82
L3 - (L3 + AS)		5,7**	0,5	-1,2	8,35
L3 - (AS + L3)		6,2**	0,2	0,2	14,56
(L3 + AS) - (AS + L3)		0,5	-0,2	1,4	0,86
Wartości krytyczne F _{0,05} — Critical values F _{0,05}					3,99
Wartości krytyczne F _{0,01} — Critical values F _{0,01}					7,05
* — Istotność na poziomie α = 0,05		* — Significance at α = 0.05			
** — Istotność na poziomie α = 0,01		** — Significance at α = 0.01			

Dla dłuższych czasów naświetlania (90 i 120 minut), z wyjątkiem liczby płodnych kłosów na roślinie u odmiany Rudzik, obserwowano dodatnie wartości kontrastu wskazujące na redukcję wartości badanych cech. Okazuje się, że wydłużanie czasu naświetlania powoduje zanik efektu stymulacji i wystąpienie uszkodzeń somatycznych. Badania nad łubinem potwierdziły również wystąpienie tej zależności (Rybiński i Stawiński, 2001).

W kombinacjach łączonych (AS + laser i laser + AS) najniższe wartości statystyki F oraz kontrastu uzyskano dla kombinacji AS z 30 minutowym naświetlaniem. Może to mieć związek z wywoływaniem przez tę dawkę światła lasera efektu biostymulacji. Stosując naświetlanie ziarniaków przez 30 minut przed lub po traktowaniu AS światło lasera może wpływać „ochronnie” na poziom uszkodzeń somatycznych indukowanych przez mutagen. Możliwość wystąpienia tego efektu potwierdzają kombinacje AS z 90 i 120 minutowym naświetlaniem dla których obserwowano wzrost istotnych wartości kontrastu wskazujących na wystąpienie i pogłębienie się redukcji wartości badanych cech. Na korzyści wynikające z stosowania kombinacji łączonych (poziom uszkodzeń somatycznych i częstotliwość mutacji) wskazują autorzy stosując światło lasera z promieniami jonizującymi (Avremenko i Volodin, 1989), chemomutagenami (Dudin, 1989; Plesnik, 1993) i fitohormonami (Ehrenbergerova i in., 1990). Najwyższe, dodatnie i istotne wartości kontrastu w kombinacjach łączonych obserwowano dla odmiany Boss, niższe dla

odmian Rudzik i Rambo. Wskazuje to zróżnicowaną reakcję odmian na zastosowane kombinacje i większą wrażliwość odmiany Boss aniżeli pozostałych na działanie AS i światła lasera.

Tabela 4

Ocena i wyniki testowania porównań między dawkami azydku sodu i lasera dla masy ziarna z kłosa
The estimation and results of comparison between treatments with sodium azide and laser for grain weight per spike

Kontrast Contrast		Ocena kontrastu dla Estimation of contrast for			Wartość statystyczna F łącznie dla odmian F value jointly for all varieties
		odmiana — variety			
		Boss	Rambo	Rudzik	
Kontrola Control	Laser 30 min. (L1)	-0,13	-0,16*	-0,06	8,54
	Laser 90 min. (L2)	0,13	0,23**	0,16*	18,06
	Laser 120 min.(L3)	0,23**	0,26**	0,30**	40,63
	Azydek sodu 4mM (AS)	0,56**	0,36**	0,43**	118,58
	(L1 + AS)	0,20**	0,16*	0,26**	25,47
	(L2 + AS)	0,43**	0,26**	0,23**	55,30
	(L3 + AS)	0,63**	0,36**	0,23**	96,57
	(AS + L1)	0,36**	0,13	0,20**	31,11
	(AS + L2)	0,43**	0,23**	0,30**	59,33
	(AS + L3)	0,63**	0,36**	0,33**	112,87
L1 - (L1 + AS)		0,33**	0,33**	0,33**	63,49
L1 - (AS + L1)		0,50**	0,30**	0,26**	72,23
(L1 + AS) - (AS + L1)		0,16*	-0,03	-0,06	0,28
L2 - (L2 + AS)		0,30**	0,03	0,06	10,16
L2 - (AS + L2)		0,30**	0,00	0,13	11,92
(L2 + AS) - (AS + L2)		0,00	-0,03	0,07	0,07
L3 - (L3 + AS)		0,40**	0,10	-0,06	11,92
L3 - (AS + L3)		0,40**	0,10	0,03	18,06
(L3 + AS) - (AS + L3)		0,00	0,00	0,10	0,63
Wartości krytyczne F _{0,05} — Critical values F _{0,05}					3,99
Wartości krytyczne F _{0,01} — Critical values F _{0,01}					7,05

* — Istotność na poziomie $\alpha = 0,05$

** — Istotność na poziomie $\alpha = 0,01$

* — Significance at $\alpha = 0.05$

** — Significance at $\alpha = 0.01$

Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowane kombinacje łączone dla odmiany Boss wywołały większe zróżnicowanie cech roślin pokolenia M_1 aniżeli dla pozostałych odmian. Potwierdza to silniejszą wrażliwość tej odmiany na zastosowane kombinacje, co obserwowano również w traktowaniach łączonych MNU z światłem lasera (Rybiński, 2001). Wskazuje to na rolę materiału wyjściowego w badaniach nad indukowaniem mutacji u jęczmienia jarego.

WNIOSKI

1. Światło lasera helowo-neonowego wykazujące biostymulujące właściwości przy krótkich czasach naświetlania (30 minut) wywierało „ochronny” wpływ w traktowaniach łączonych z AS na poziom uszkodzeń somatycznych u roślin M_1 wywołanych działaniem mutagenu.

2. Zastosowanie biostymulacyjnej dawki światła lasera przed, a zwłaszcza po działaniu mutagenu, poprawiało płodność roślin w porównaniu z wyłącznym stosowaniem AS umożliwiając otrzymanie większej liczby ziarniaków koniecznych do uzyskania odpowiednio liczego pokolenia M_2 .
3. Poziom uszkodzeń somatycznych przy zastosowanych kombinacjach AS i światła lasera zależny był od rodzaju materiału wyjściowego użytego do traktowań mutagennych. Reakcja odmian we wrażliwości na zastosowane kombinacje wskazuje na mniejszą wrażliwość odmian Rudzik i Rambo, a wyższą odmiany Boss.

LITERATURA

- Avremenko B. J., Volodin V. G. 1989. Method of obtaining breeding material of cereals by means of combined irradiation of the seeds with laser light and ionizing radiation. *Thезisy Dokладov* 2: 3 — 6.
- Caliński T., Dyczkowska A., Kaczmarek Z. 1976. Algorytmy Biometrii i Statystyki 5: 77 — 113.
- Ceranka B., Chudzik H., Czajka S., Kaczmarek Z. 1977. Wielozmienna analiza wariancji dla doświadczeń wieloczynnikowych. *Algorytmy Biometrii i Statystyki* 6: 51 — 60.
- Drozd D., Szajsner H., Laszkiewicz E. 1999. Wykorzystanie biostymulacji laserowej w uprawie pszenicy jarej. *Biul. IHAR* 211: 85 — 90.
- Dudin P. 1989. Mutagenic action of N-diethyl-N-nitrosourea and laser irradiation on spring barley. *Selskhozajstvennaja Radiobiologija* 12: 61 — 68.
- Ehrenbergerova J., Andonov I., Popelkova M. 1990. Effect of laser irradiation on the degree and variability of characters under selection in spring fodder barley. *Acta Universitatis Agriculturae* 38: 11 — 18.
- Gieroba J., Koper R., Matyka S. 1995. The influence of pre-sowing laser biostimulation of maize seeds on the crop and nutritive value of the corn. 45th Australian Cereal Chemistry Conference, Adelaide: 30 — 33.
- Gładyszewska B., Koper R. 1997. Technologia i efekty przedsiewnej biostymulacji nasion ogórków szklarniowych. Materiały Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Teoretyczne i aplikacyjne problemy inżynierii rolniczej”. Wrocław — Otmuchów: 41.
- Gottschalk W., Wolff G. 1983. Induced mutations in plant breeding. Springer Verlag, Berlin, New York, Tokyo: 1 — 231.
- Koper R. 1997. Stymulacja laserowa nasion pomidorów. *Owoce, Warzywa, Kwiaty*, 21: 16.
- Kubjak A., Huczowski J. 1981. Wpływ oddziaływania prędkich neutronów i NMH na groch łuskowy odmiany Cud Kalvedonu. *Mutageneza Roślin Wyższych. Prace Naukowe Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach* 447: 185 — 191.
- Małuszyński M., Małuszyńska J., Malepszy S. 1978. Wybrane zagadnienia mutagenezy roślin wyższych. *Mutageneza Roślin Wyższych. Prace Naukowe Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach*, 222: 1 — 15.
- Małuszyńska J. 1981. Mutageny efekt dwukrotnego traktowania różnymi środkami mutagenicznymi z zastosowaniem kiełkowania międzyinkubacyjnego. *Mutageneza Roślin Wyższych. Prace Naukowe Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach*, 447: 161 — 167.
- Monajembashi S., Crener C., Crener T., Wolfrum T., Greulich K.O. 1986. Microdissection of human chromosome by laser microbeam. *Exp. Cell Res.* 167: 262 — 265.
- Nilan R.A., Sideris E., Kleinhofs A., Sander C. 1973. Azide — a potent mutagen. *Mutation Research* 17: 142 — 144.
- Plesnik S. 1993. The evaluation of some quantitative traits in M_1 generation in soybean after laser emission and ethyleneimine. *Genetica at Biologia Molecularis* 24: 105 — 113.
- Podleśny J. 1997. Wpływ przedsiewnego traktowania nasion światłem laserowym na kształtowanie się cech morfologicznych i plonowania łubinu białego. *Łubin we Współczesnym Rolnictwie. Materiały Konferencyjne, Olsztyn — Kortowo*: 87 — 92.
- Podleśny J. 1997. Wpływ przedsiewnego traktowania nasion światłem laserowym na kształtowanie cech morfologicznych i plonowania bobiku. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 446: 435 — 439.

- Rybiński W., Patyna H., Przewoźny T. 1993. Mutagenic effect of laser and chemical mutagen in barley (*Hordeum vulgare* L.). Genet. Pol. 34: 337 — 343.
- Rybiński W. 2001. Influence of laser beams combined with chemomutagen (MNU) on the variability of traits and mutation frequency in spring barley. Int. Agrophysics 15: 115 — 119.
- Rybiński W., Stawiński S. 2001. Wykorzystanie biostymulującego działania światła lasera helowo-neonowego w badaniach nad łubinem andyjskim. Acta Agrophysics 46: 159 — 166.
- Stawiński S., Rybiński W., Bocianowski J. 2000. Analiza cech ilościowych w pokoleniu M₁ u łubinu andyjskiego i wąskolistnego. Biul. IHAR 216/2: 445 — 451.
- Weber G., Monajembashi S., Greulich K. O., Wolfrum J. 1988. Genetic manipulation of plant cells and organelles with a microfocused laser beams. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 12: 219 — 222.
- Wiegand Steubing R. W., Weber G., Zimmermann K., Monajembashi S., Wolfrum J., Greulich K. O. 1987. Laser induced fusion of mammalian cells and plant protoplast. J. Cell. Sci. 88: 145 — 150.
- Vasilevski G. 1991. By laser to healthier and cheaper food. Report of Agriculture Faculty Skopje 2: 1 — 12.

PODZIĘKOWANIE

Prof. Ludwikowi Pokorze oraz Centrum Techniki Laserowej w Warszawie za umożliwienie korzystania z aparatury laserowej.