

ALICJA SOKOŁOWSKA-KULCZYCKA

BADANIA EKSPERYMENTALNE NAD SAMOSTERYLNOŚCIĄ ROŚLIN OKRYTOZALĄŻKOWYCH

W numerze 3—4, rocznik 1960 Wiadomości Botanicznych ukazał się artykuł p. dr A. Putrament omawiający genetyczne i fizjologiczne podstawy zjawiska samosterylności u roślin. W niniejszym opracowaniu pragnę zwrócić specjalną uwagę na badania eksperymentalne, które doprowadziły do przełamania bariery samosterylności i otrzymania nasion po samozapyleniu.

Samozapłodnienie nie jest korzystne dla większości roślin i stąd w procesie ewolucji wykształcił się szereg mechanizmów, których zadaniem jest bądź to utrudnianie zapylenia słupka przez własny pyłek, bądź to niedopuszczanie do wytworzenia nasion po samozapyleniu. Przykładowo podam najbardziej znane:

1. Rozdzielność płciowość u roślin.

2. Rozdzielność płciowość kwiatostanów męskich i żeńskich w obrębie jednej rośliny.

3. Specyficzna budowa kwiatów obupłciowych, występująca u szeregu gatunków obcopolnych, zapobiegająca samozapyleniu.

4. Nierównoczesne dojrzewanie pręcików i słupków (tzw. protandria i protogynia).

5. Genetyczne mechanizmy samosterylności.

Należy zaznaczyć, iż w wielu przypadkach wchodzi w grę nie jeden mechanizm, lecz kilka współdziałających i uzupełniających się.

Pojęcie samosterylności odnosi się do piątego z wymienionych wyżej mechanizmów i oznacza niezdolność wytwarzania nasion po zapyleniu pyłkiem własnym, lub pyłkiem pochodzącym od osobnika o tym samym genotypie (np. w obrębie jednego klonu). Przyczyną samosterylności jest skład genetyczny biotypów w obrębie danego gatunku. W najprostszym przypadku diploidalna, samosterylna roślina zawiera dwa różne geny samosterylności, które możemy oznaczyć jako S_1 i S_2 . Jądra generatywne ziarn pyłku i jądra komórek jajowych zawierają odpowiednio bądź gen S_1 , bądź gen S_2 . Po samozapyleniu łagiewki pyłkowe zawierające jedno gen S_1 , drugie S_2 rosną między tkankami szyjki słupka zawierającymi te same geny

i właśnie ta identyczność genów samosterylności tkanek słupka i pyłku wywołuje reakcję niezgodności o niewątpliwym podłożu biochemicznym. Jeżeli natomiast roślina S_1S_2 zostanie zapyłona pyłkiem rośliny zawierającej inną parę genów samosterylności np. S_2S_3 , wówczas ziarna pyłku z genem S_2 zostaną wyeliminowane, natomiast łagiewki pyłkowe z genem S_3 rosna niezahamowane i doprowadzają do powstania potomstwa S_1S_3 i S_2S_3 . W przypadku skrzyżowania rośliny zawierającej geny S_1S_2 z rośliną zawierającą geny S_3S_4 nie zostaną wyeliminowane żadne ziarna pyłku i w rezultacie otrzymamy bardziej zróżnicowane potomstwo: S_1S_3 , S_1S_4 , S_2S_3 , S_2S_4 (ryc. 1). Poszczególne gatunki roślin posiadają wysoką liczbę genów samosterylności. Tworzą one szereg alleli wielokrotnych, których składniki mogą łączyć się w dowolnych kombinacjach.

Opisany powyżej genetyczny mechanizm samoniezgodności jest określany jako typ gametofityczny (Straub 1958). Stosunki tu zachodzące nie zawsze są tak proste, komplikują się znacznie przy podwyższonym stopniu ploidalności. W takich przypadkach może dojść niekiedy do częściowej samopłodności, o czym będzie mowa niżej.

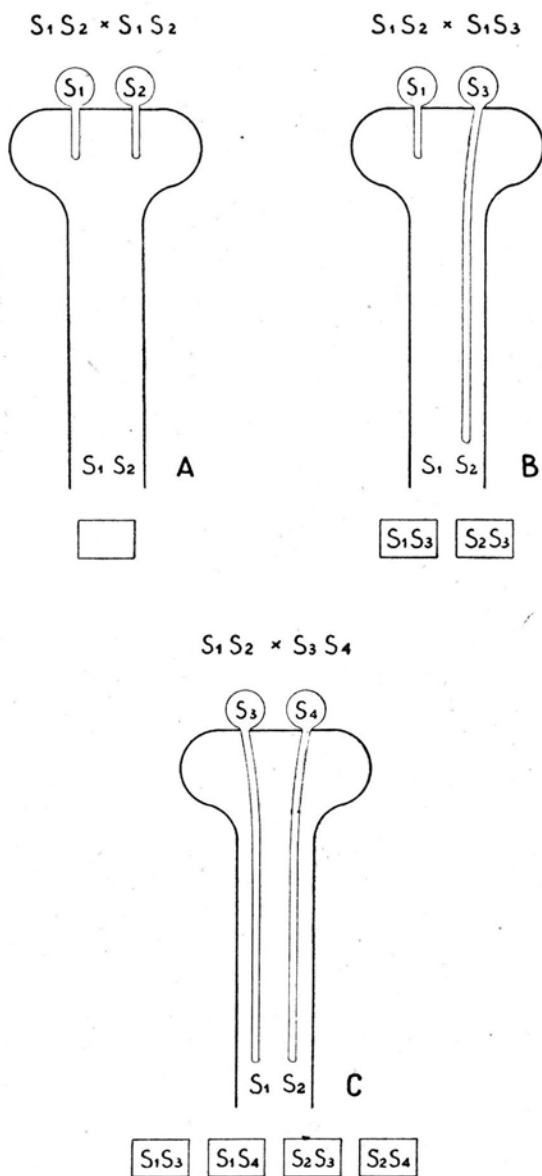
Istnieją również inne typy samobezpłodności. Roślina macierzysta (sporofit) może niekiedy determinować jednakową reakcję obu rodzajów pyłku na geny szyjki słupka, bez względu na zawarte geny S. Jeżeli rośliną ojcowską jest S_2S_3 , a S_2 jest dominującym, wówczas zarówno ziarna pyłku z S_2 , jak i z S_3 zachowują się jak nosiciele genu S_2 i krzyżówka $S_1S_2 \times S_2S_3$ jest bezpłodna, ponieważ komórki słupka również zawierają gen S_2 . Przy opisywanej sporofitowej determinacji (Straub 1958) krzyżówki przeciwne mogą dawać różne rezultaty. Na przykład po skrzyżowaniu $S_2S_3 \times S_1S_2$ można osiągnąć pełną płodność w przypadku dominowania allelu S_1 . W potomstwie wystąpią wówczas cztery kombinacje alleli S: S_1S_2 , S_2S_2 , S_1S_3 i S_2S_3 .

W przyrodzie występują liczne modyfikacje opisanych tu z pewnym uproszczeniem zasadniczych mechanizmów samosterylności.

Wzajemne oddziaływanie genów samosterylności słupka i pyłku może uwidocznić się w różnych odstępach czasu od momentu zapylenia.

U pewnych roślin pyłek nie kiełkuje na znamionach własnych kwiatów lub kiełkowanie jest zbyt powolne, łagiewki krótkie, niezdolne do przeniknięcia tkanek znamienia. Takie zjawisko obserwowali między innymi Correns (1912) u *Cardamine pratensis*, Sears (1937) u *Secale cereale* i *Raphanus sativus*.

Najczęściej wzajemne oddziaływanie genów S ujawnia się nieco później. Ziarna pyłku kiełkują, łagiewki rozpoczynają wrastanie pomiędzy tkanki znamienia, a następnie w głąb szyjki. Wzrost ten zostaje jednakże zahamowany i w rezultacie łagiewki nie osiągają poziomu załączni. Tak przedstawiają się stosunki u *Petunia violacea*, *Nicotiana strumosa* (Sears 1937), *Nicotiana forgetiana*, *N. alata* (East, Mangelsdorf 1926) *Tolmiea Menziesii* (Correns 1928), *Lilium bulbiferum* (Sokołowska-Kulczycka 1965) i wielu innych samosterylnych gatunków. U pewnych gatunków z rodzaju *Gasteria* (Sears 1937) stwierdzono, iż własne łagiewki pyłkowe rosna równie szybko jak obce i dokonują samozapłodnienia, ale zarodek nie ma



Ryc. 1. Schemat ilustrujący wzrost łagiewek pyłkowych w przypadku samosterylności uwarunkowanej strukturą genetyczną gametofitu: A. samozapylenie, lub skrzyżowanie z rośliną o takim samym genotypie — zapłodnienie nie następuje. B. skrzyżowanie z rośliną mającą jeden z alleli (S_1) wspólny, drugi zaś (S_3) odmienny — zapłodnienie następuje. C. skrzyżowanie z rośliną różniącą się pod względem obu alleli S — zapłodnienie następuje

szans rozwojowych i obumiera szybko nie osiągnąwszy dojrzałości. Ten ostatni przypadek jest przez niektórych autorów określany mianem samoniezdgodności i przeciwstawiany właściwej samosterylności, która ujawnia się wcześniej bądź w znamieniu, bądź w szyjce słupka. W niniejszym opracowaniu będę używała terminu samosterylności zarówno dla właściwej samosterylności, jak i dla samoniezdgodności.

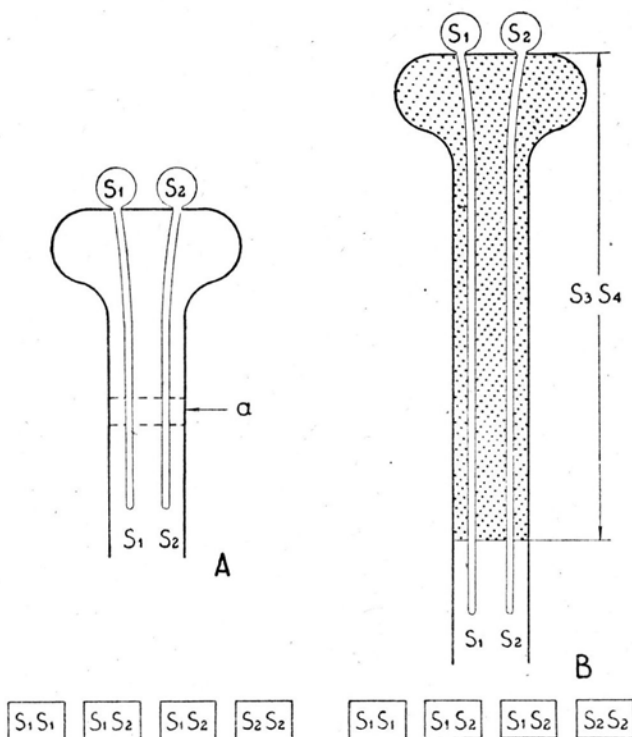
Opisane na wstępie mechanizmy genetycznej samosterylności nie są jednak tak silne, by nie można było ich przełamać i na drodze eksperymentalnej doprowadzić nawet wysoko samosterylne rośliny do zawiązania nasion po zapyleniu własnym pyłkiem. Według Strauba (1958) takie przełamanie bariery samosterylności można osiągnąć przez zmianę podłoża, na którym kiełkują łagiewki pyłkowe. Jednym ze znanych sposobów jest mechaniczne uszkodzenie znamienia. Tak postępował Kroh (1956) (cyt. wg Strauba 1958) z *Raphanus raphanistrum*. U tego bowiem gatunku zahamowanie wzrostu własnych łagiewek pyłkowych następuje na brodawkach znamienia. Po usunięciu ich lub uszkodzeniu reakcja hamowania słabnie; własne łagiewki dorastają do poziomu załąźni i okazują się zdolne do zapłodnienia. Podobnie Nemeš (1937) doprowadził samosterylne *Lilium candidum* do samozapłodnienia i wytworzenia zdolnych do kiełkowania nasion przez zapylenie zranionych uprzednio znamion własnym pyłkiem.

Buchholz (1931) (cyt. wg Strauba 1958) przeprowadził szereg doświadczeń nad samosterylnymi gatunkami *Datura*. U tego rodzaju hamowanie wzrostu łagiewek pyłkowych ma miejsce w szyjce słupka. Buchholz amputował środkowe części szyjki i dzięki temu skracał znacznie strefę hamowania. Doświadczenia te dały pozytywne rezultaty, bowiem skrócona szyjka słupka nie była zdolna do wywołania reakcji hamowania o normalnej sile i wiele własnych łagiewek pyłkowych dotarło do załąźni. Innym sposobem mechanicznego przełamania samosterylności było przeszczepianie szyjek słupka. Zabiegi takie przeprowadził Straub (1948). Odcinał on znamię i część szyjki słupka zawierające jedną parę genów S np. S₁S₂ i zaszczepiał na ich miejsce szyjkę z inną parą genów S np. S₃S₄, a następnie zapytał to obce znamię pyłkiem rośliny macierzystej. Łagiewki pyłkowe, jedne z S₁ drugie z S₂, rosły dobrze w szyjce S₃S₄, przechodziły miejsce szczepienia i krótką część własnej szyjki i okazywały się zdolne do dokonania zapłodnienia (ryc. 2).

Sears (1937) i Straub (1958) podają przykłady szeregu gatunków samosterylnych (*Nicotiana*, *Verbascum phoeniceum*, *Petunia violacea*), które można doprowadzić do wytworzenia nasion po samozapyleniu, jeżeli zostanie ono dokonane w nierozwiniętych, znajdujących się jeszcze w pączkach kwiatach. Sears (1937) tłumaczy to zjawisko nazwane „płodnością pączkową“ w następujący sposób: „U gatunków samosterylnych, u których łagiewki po przejściu pewnego odcinka zatrzymują się — krótka niewyrośnięta szyjka może umożliwić przerastanie łagiewek pyłkowych. Nie jest wykluczone, że niedojrzała szyjka słupka nie jest zdolna do wywołania reakcji hamowania o normalnej sile“.

Wiele uwagi poświęcono wpływowi pewnych substancji chemicznych o charakterze hormonalnym na indukowanie zawiązywania nasion po samozapyleniu.

Substancje hormonalne stanowiły tu rodzaj stymulatora pobudzającego wzrost łagiewek pyłkowych. Emsweller i Stuart (1948) przeprowadzili szereg doświadczeń, których celem było otrzymanie nasion po samozapyleniu roślin samosterylnych. Za obiekt badań wybrano kilka wyselekcjonowanych klonów lili ogrodowych. Rośliny doświadczalne były zabezpieczone przed samozapyleniem i zapyleciem krzyżowym przez usunięcie niedojrzałych pylników (kastrowanie) i izolację.



Ryc. 2. Schemat ilustrujący przełamanie bariery samosterylności: A. przez skrócenie szyjki słupka (a — miejsce amputacji). B. przez przeszczepienie obcego znamienia i szyjki słupka (odcinek przeszczepiony S_3S_4 zakropkowany)

Kwiaty w tym samym stadium rozwojowym zostały podzielone na trzy grupy: pierwszą zapyłono wyłącznie własnym pyłkiem, drugie traktowano substancjami o charakterze hormonalnym (kwas indolo-masłowy, kwas indolo-octowy, kwas beta-naftoxyoctowy, kwasy mono-, di-, tri-chloroxyoctowe, oraz amid kwasu naftaleno-octowego). Ostatnia grupa kwiatów została poddana wspólnemu działaniu własnego pyłku i hormonu. Najlepsze rezultaty dało trzecie doświadczenie, samozapylenie przy jednoczesnym użyciu hormonu doprowadziło w dużym procencie do wytworzenia nasion. Po samozapyleniu bez użycia hormonu załóżnie rozwijały się przez pierwsze 16 dni, po czym obumierały. Natomiast samo działanie

hormonu pobudzało rozwój ścian zalążni, co z kolei prowadziło w pewnej ilości przypadków do powstawania owoców pozbawionych nasion, tzw. owoców partenokarpicznych. Powstawanie owoców partenokarpicznych jako skutek traktowania niezapylnych słupek substancjami o charakterze hormonalnym zostało opisane u przedstawicieli rodziny *Solanaceae* oraz u *Ilex aquifolium*, *Melandrium album* i *Lilium regale* (Beal 1943).

Opisane powyżej doświadczenia Emsweller i Stuart były poprzedzone podobnymi doświadczeniami innych autorów. Eyster (1941) (cyt. wg Emsweller i Stuart-1948) otrzymał nasiona po samozapyleniu i spryskaniu amidem kwasu alfa-naftaleno-octowego znamion następujących samobezpłodnych gatunków: *Tagetes erecta*, *Brassica oleracea*, *Trifolium pratense*. Nemeč (1937) w doświadczeniach z *Lilium candidum* używał roztworu cukru jako stymulatora wzrostu własnych łagiewek pyłkowych, a Lewis (1946) (cyt. wg Emsweller i Stuart 1948) wykazał, że u czeresni, śliw i grusz po samozapyleniu i potraktowaniu znamion kwasem naftaleno-octowym zostały zawiązane owoce i nasiona. Pozytywne efekty działania substancji hormonalnej są tłumaczone przez Emsweller i Stuarta następująco: „Traktowanie hormonem mobilizuje gwałtownie węglowodany w młodych, rozwijających się owocach, szyjki słupek traktowanych nie odpadają tak prędko, a woreczki zalążkowe i komórki jajowe dłużej utrzymują swą żywotność, tak że łagiewki pyłkowe mają więcej czasu na przerośnięcie całej długości szyjki“. Nie jest też wykluczone, iż działanie hormonów osłabia reakcję hamowania zachodzącą w którymś etapie wrastania łagiewki pyłkowej do słupek.

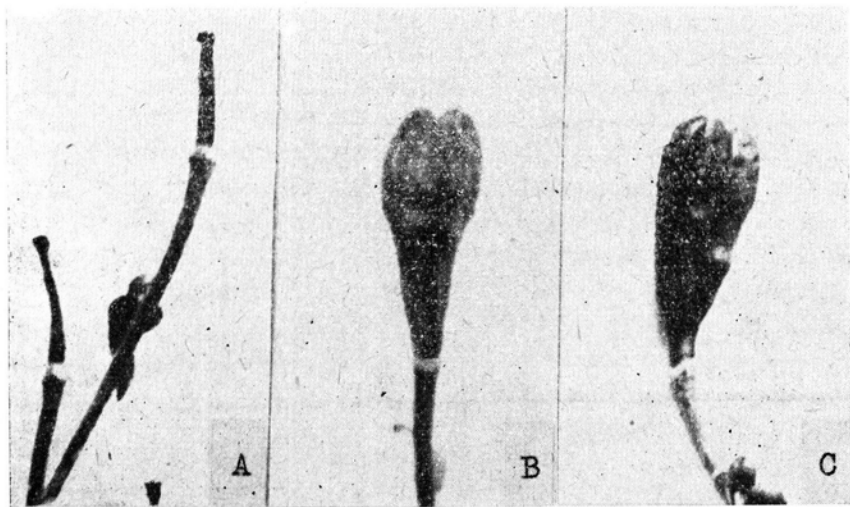
Działanie hormonalne może wykazać również domieszka pyłku obcogatunkowego, jak dowiodły badania M. Skalińskiej (1962) nad *Valeriana officinalis* i Sokołowskiej-Kulczyckiej (1965) nad *Lilium bulbiferum*. *Valeriana officinalis* jest gatunkiem ściśle obcopolnym; w wyniku zapylenia niekastrowanych kwiatów omawianego gatunku pyłkiem diploidalnych i tetraploidalnych form *V. exaltata* uzyskano nieliczne rośliny potomne. Ich liczby chromosomów dowodzą, że nie były one oczekiwanymi mieszańcami, lecz potomstwem powstałym w wyniku samozapylenia, które zostało indukowane domieszką obcogatunkowego pyłku. Eksperymentalne badania nad zawiązywaniem nasion u *Lilium bulbiferum* zostały przeprowadzone w latach 1961—63. Rośliny użyte do doświadczeń stanowiły jeden klon i nie rozwijały owoców i nasion przy zapyleniu wewnątrz klonu. Badania embriologiczne wykazały prawidłowość procesów prowadzących do wytworzenia gamet, a obserwacje kiełkowania ziarn pyłku oraz wrastania łagiewek pyłkowych po samozapyleniu stwierdziły hamowanie wrastania tych łagiewek w połowie długości słupek. Celem przełamania bariery samobezpłodności przeprowadzono dwie serie zapyłań krzyżowych:

$$\begin{aligned} &L. \text{ bulbiferum} \times L. \text{ bulbiferum} + L. \text{ candidum} \\ &L. \text{ bulbiferum} \times L. \text{ bulbiferum} + L. \text{ martagon} \end{aligned}$$

Obie serie krzyżowań dały pozytywne rezultaty — zostały zawiązane torebki na-

sienne, a nasiona wykiełkowały dając początek roślinom morfologicznie odpowiadającym *L. bulbiferum*. Przeprowadzone równoległe badania embriologiczne wykazały, że po zapyleniu „pyłkiem mieszanym“ następuje podwójne zapłodnienie, a następnie normalny rozwój zarodka i endospermy. Uzyskany wynik można tłumaczyć tym, iż domieszka obcego pyłku osłabia reakcję hamowania zachodzącą pomiędzy tkankami słupka a własnymi łagiewkami pyłkowymi, co umożliwia tym ostatnim przerośnięcie do zalążni i dokonanie zapłodnienia (ryc. 3, 4).

Przełamania bariery samosterylności można również dokonać przez zmianę podłoża genetycznego. Straub (1958) podaje, że mogą tu wchodzić w grę geny mody-

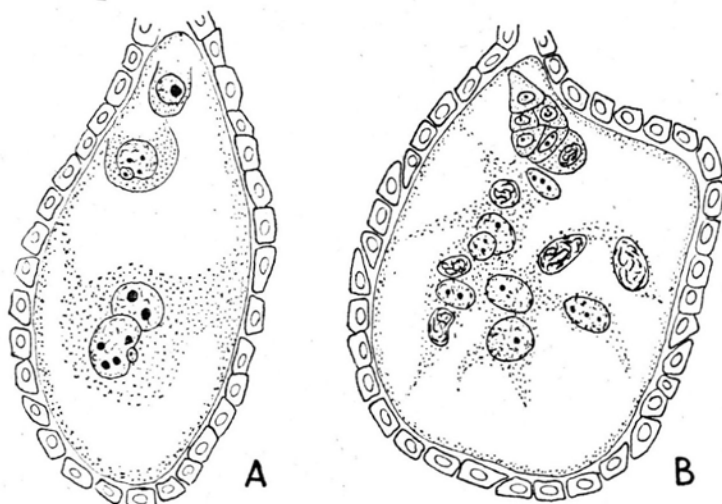


Ryc. 3. A. zdegenerowana zalążnia po samozapyleniu *Lilium bulbiferum*. B, C. rozwinięte torebki nasienne po eksperymentalnym zapyleniu *L. bulbiferum* pyłkiem własnym z domieszką pyłku *L. martagon* (B) i pyłku *L. candidum* (C)

fikacyjne oraz zmienione stosunki cytologiczne. Jeżeli bowiem krzyżuje się dwie samosterylne formy tego samego gatunku, wówczas w potomstwie można znaleźć formy samopłodne obok samosterylnych. Pojawienie się osobników samopłodnych wśród populacji samosterylnych wskazuje na to, że na działanie genów S wpływają czynniki (geny) modyfikacyjne. W skrajnych przypadkach kombinacje genów modyfikacyjnych z określonymi genami S wywołuje pełną samopłodność. Szczególnie wyraźnie występuje skomplikowane współdziałanie genów S z czynnikami sprzyjającymi wzrostowi łagiewki lub hamującymi go u przedstawicieli rodziny *Cruciferae*, u których trudno uzyskać silnie samosterylne linie. Modyfikujące działanie mechanizmu hamowania może pochodzić od genów warunkujących inne cechy, np. zmniejszenie wzrostu, jak wykazały prace Eue (1953) (cyt. wg Elliot 1964) nad *Petunia*.

Do samopłodności mogą również doprowadzić niekiedy zmienione stosunki ilościowe pomiędzy genami szyjki słupka i pyłku. Straub (1958) podaje, iż u samo-

sterylnej *Petunia hybrida*, przez działanie kolchicyny i odpowiednie krzyżówki uzyskano formy poliploidalne: triploidy i tetraploidy, u których stosunek jednego z genów S np. S_1 do pozostałych alleli S jest różny. Badano następnie wzrost łagiewek pyłkowych po zapyleniu roślin o budowie: S_1S_1 , S_1S_2 , $S_1S_2S_3$ oraz $S_1S_2S_3S_4$ pyłkiem haploidalnym homozygotycznej rośliny S_1S_1 . Otrzymane wyniki wykazały, iż ze



Ryc. 4. Podwójne zapłodnienie (A) oraz wczesne stadia rozwojowe zarodka i endospermy (B) obserwowane po zapyleniu *Lilium bulbiferum* pyłkiem własnym z domieszką pyłku *L. martagon*

zmniejszającym się udziałem S_1 w tkankach szyjki obniżało się hamowanie wzrostu łagiewek pyłkowych S_1 . U tetraploidów dochodziło nawet do zawiązywania nasion.

Samozapłodnienie może być również osiągnięte przez „powiększenie ziarna pyłku“ (Straub 1958), np. przez zastosowanie pyłku diploidalnego, zebranego z roślin tetraploidalnych do zapylenia rośliny diploidalnej o tym samym genotypie: $S_1S_2 \times \times S_1S_1S_2S_2$. Osiągnięcie pozytywnego efektu jest uwarunkowane w tym przypadku prawdopodobnie przez zwiększoną zawartość substancji stymulujących wzrost łagiewek pyłkowych.

U samosterylnych gatunków *Petunia*, *Solanum*, *Oenothera*, *Linaria* i *Pyrus* formy tetraploidalne, otrzymane ze samosterylnych diploidów są samopłodne. U form tetraploidalnych komórki rozrodcze zawierają po dwa allele S, np. tetraploidalna roślina typu $S_1S_1S_2S_2$ wytwarza trzy typy gamet: S_1S_1 , S_1S_2 , S_2S_2 . Po samozapyleniu heterogeniczne ziarna pyłku S_1S_2 natrafiają na znacznie zmniejszoną reakcję hamowania i okazują się zdolne do zapłodnienia, podczas gdy ziarna pyłku homogeniczne: S_1S_1 i S_2S_2 zostają wyeliminowane. Lewis i Modlibowska (1942) (cyt. wg Elliot 1964) tłumaczą to zjawisko współdziałaniem lub konkurencją pomiędzy allelami S w heterogenicznych ziarnach pyłku. Prowadzi to z kolei do obniżenia niezgodności pomiędzy genami pyłku i słupka.

Prowadzone na tak szeroką skalę badania nad przełamywaniem samosterylności mają również aspekt praktyczny. Rośliny obcopolne wykazują z reguły dużą zmienność, co przy materiale hodowlanym nastęrcza hodowcy dużo trudności. Dlatego w celu ujednoczenia materiału dąży się do wyprowadzenia tzw. linii czystych, tj. linii o jednakowym genotypie. Linie te można uzyskać jedynie przez doprowadzenie roślin samosterylnych do zawiązywania nasion po samozapłodnieniu. Opisane wyżej badania mogą tu być cennym drogowskazem.

LITERATURA

- Beal J. M., 1943. *Histological Studies on parthenocarpic Fruits of Lilium Regale induced by Growth Substances*. The Bot. Gaz. 105, 25—34.
- Correns C., 1912. *Selbststerilität und Individualstoffe*. Festchr. Ges. 84. Versamml. deutsch. Natur. u. Ärzte, 1—32.
- Correns C., 1928. *Neue Untersuchungen an selbststerilen Pflanzen*. I. *Tolmiea Menziesii* Biol. Zbl. 48, 760—768.
- East E. M., Mangelsdorf A. J., 1926. *Studies on Self-Sterility*. VII. *Heredity and Selective Pollen*. Tubé Growth. Genetics 11, 466—481.
- Elliot W. C., 1964. *Hodowla roślin i cytogenetyka*. PWRiL, Warszawa.
- Emsweller S. L., Stuart, 1948. *Use of Growth Regulating Substances to Overcome Incompatibilities in Lilium*. Am. Soc. f. Hort. Sc. 51.
- Nemec B., 1937. *Über Kapsel und Samenbildung bei Lilium candidum*. Cytologia I, 329—332.
- Putrament A. 1960. *O samobezpłodności u roślin*. Wiad. Bot. IV, 3—4, 281—294.
- Sears E. R., 1937. *Cytological Phenomena connected with self-sterility in the flowering plants*. Genetics 22 130—181.
- Skalińska M., 1962. *Cytological studies in a chromosomal aberrant of Valeriana and its derivatives*. Folia Biol. 10, 155—167.
- Sokołowska-Kulczycka A., 1965. *Badania eksperymentalne nad rozwojem nasion Lilium bulbiferum L.* Acta Biol. Crac. ser. bot. 8, 63—81.
- Straub J., 1958. *Das Überwinden der Selbststerilität*. Zeitschr. f. Bot. 46, 98—110.