ACTA AGROBOTANICA
Vol. XXV, z. 2 — 1972

# Dalsze studia cyto-embriologiczne di-, tetra- i oktoploidalnych form *Trifolium*

**K. BIJOK, ST. GÓRAL, L. GRYGORCZYK**

Instytut Biologii Uniwersytetu Gdańskiego, w Gdyni; Stacja Hodowli Roślin w Skrzeszowicach; Instytut Hodowli i Nasiennictwa WSR, Olsztyn-Kortowo

K. Bijok, Institute of Biology, University of Gdańsk, Gdynia, Czołgistów 46, Poland; St. Góral, Station of Plant Cultivation, Skrzeszowice, Poland; L. Grygorczyk, Institute of Cultivation and Seed Production, High School of Agriculture, Olsztyn-Kortowo, Poland

*Further cyto-embryological studies on di, tetra- and octoploid forms of Trifolium*

Abstract

In the course of this study no significant differences in the length of pollen-tubes of ecological types collected from natural stations (*Trifolium pratense* L. var. *spontaneum* Willk., *T. hybridum* L. and *T. repens* L.) were found as compared with their polyploid forms obtained in the experimental way. Disorders in fertilization, decay of unfertilized embryo sacs, and degeneration of embroys were observed more frequently on a percentage basis in the polyploid forms.
Embryo and endosperm development were similar in the initial species and in the experimentally obtained polyploids.

## WSTĘP

Praca niniejsza stanowi dalszy ciąg badań nad znalezieniem przyczyn zmniejszonej płodności u form poliploidalnych *Trifolium pratense* L. var. *spontaneum* Willk., *T. hybridum* L. *i T. repens* L. w odniesieniu do materiału wyjściowego, jaki stanowiły ekotypy tych gatunków zebrane ze stanowisk naturalnych (tab. 1).

Przeprowadzone badania w tym kierunku (Bijok, Góral, Góral 1970, 1970), Bijok, Góral (1970) nie wykazały przyczyn mogących wyjaśnić obniżoną płodność u form poliploidalnych w stosunku do form wyjściowych.

Konieczne więc były dalsze badania embriologiczne nad procesem zapłodnienia, rozwojem zarodka i bielma.

Podjęte w tym kierunku studia stanowią główny przedmiot niniejszej pracy.

## MATERIAŁ I METODY

Materiałem do prowadzonych badań embriologicznych *T. pratense* L. var. *spontaneum* Willk., *T. hybridum* L. i *T. repens* L. były ekotypy ze stanowisk naturalnych z miejscowości, które przedstawia tabela 1, oraz ich formy poliploidalne uzyskane drogą eksperymentalną przez zastosowanie wodnego roztworu kolchicyny.

Tabela 1

Wyka z stanowisk

List of habitats

| Gatunek<br>Species | Stanowisko<br>Origin |
|---|---|
| *Trifolium pratense* L.<br>var. *spontaneum* Willk.<br>(2n=14) | Chrzęsne, pow. Wołomin *<br>Tłuszcz, pow. Wołomin *<br>Jaroty, pow. Olsztyn *<br>Wadąg, pow. Olsztyn *<br>Bartoszyce, pow. Bartoszyce *<br>Gierłoż, pow. Kętrzyn *<br>Rogale, pow. Gołdap *<br>Serwy, pow. Augustów * |
| *Trifolium hybridum* L.<br>(2n=16) | Bartąg, Barczewko, Wadąg, pow. Olsztyn * |
| *Trifolium repens* L.<br>(2n=32) | Jaroty, Słupy, Wadąg, Stary Dwór,<br>pow. Olsztyn * |

* pow. — district.

Pączki kwiatowe, kwiaty i strąki o różnym stopniu rozwoju zostały zebrane w latach 1967—1969 z poletek doświadczalnych byłej Katedry Genetyki Wyższej Szkoły Rolniczej w Olsztynie.

Materiał utrwalono w 50% roztworze Nawaszyna, zatopiono w parafinie przy 52°C i pokrojono na mikrotomie na skrawki o grubości 15μm. Preparaty barwiono 1% fioletem gencjanowym i różnicowano je roztworem fenolu w ksylenie (1 : 3).

Rysunki wykonano aparatem Zeissa spod mikroskopu NfpK przy użyciu obiektywów 90× i 40× w połączeniu z okularami K 20× i 12× Zeissa. Powiększenia rysunków podano przy odnośnych figurach.

## WYNIKI OBSERWACJI

### Zapłodnienie

Zapłodnienie u badanych gatunków *Trifolium* i ich form poliploidalnych obserwowano od czasu pojawienia się łagiewek pyłkowych i rozrastających się wzdłuż szyjki słupka w jego części środkowej.

W szyjkach słupka u badanych form, w jej górnych częściach obserwowano kilka łagiewek pyłkowych, do zalążni natomiast dochodziły już najczęściej u *T. pratense* var. *spontaneum* i *T. hybridum* jedna albo dwie, natomiast u *T. repens* — jedna do trzech (rys. 1, 2, 17, 18, 37, 38).

Wzrost pozostałych łagiewek pyłkowych kończył się na różnych wysokościach szyjki słupka, najczęściej w $^1/_3$ u *T. pratense* var. *spontaneum* i *T. hybridum*, a w $^1/_2$ u *T. repens*.

W łagiewkach dochodzących do zalążków obserwowano w ich końcowej części wyraźne jądro łagiewkowe i nieco wyżej nad nimi liniowo ułożone dwa jądra plemnikowe, otoczone własną cytoplazmą, odcinającą się od treści łagiewki (rys. 1, 2, 17, 18, 37, 38).

Wnikanie łagiewki pyłkowej do woreczka zalążkowego u wszystkich badanych form odbywało się przez okienko — porogamia. Wnikająca łagiewka pyłkowa do woreczka zalążkowego niszczyła jedną z synergid (rys. 3, 4, 19, 20). Na 100—130 badanych woreczków zalążkowych każdej formy obserwowano również wnikanie łagiewki pyłkowej pomiędzy komórką jajową, a jedną z synergid — u form *T. pratense* var. *spontaneum* w dwóch przypadkach, u formy diploidalnej *T. hybridum* w 9, u sztucznego tetroploida *T. hybridum* w 10, u tetraploidalnej *T. repens* w 5, a u sztucznego oktoploida *T. repens* w 8 przypadkach.

Po wniknięciu łagiewki pyłkowej do woreczka zalążkowego, jej szczytowa część pękała, a jądra plemnikowe wlewały się w treść woreczka zalążkowego. W czasie wnikania jąder plemnikowych do woreczka zalążkowego ich cytoplazma zanikała. Również w czasie zbliżania się łagiewki pyłkowej do woreczka zalążkowego zanikało jądro wegetatywne (rys. 3—6, 19—22, 39, 40).

W czasie przesuwania się jednego z jąder plemnikowych w kierunku komórki jajowej, a drugiego w kierunku wtórnego jądra woreczka zalążkowego nie obserwowano pomiędzy nimi różnic w wielkości i kształcie (rys. 5, 6, 19—22, 39, 40).

Samego momentu zapłodnienia u badanych form *Trifolium* nie obserwowano, natomiast w kilku przypadkach u każdej z form obserwowano moment ułożenia jądra plemnikowego na komórce jajowej i na wtórnym jądrze woreczka zalążkowego (rys. 5, 6, 21, 22, 39, 40). Zapłodnienie komórki jajowej zachodziło u wszystkich form *Trifolium* nieco później od zapłodnienia wtórnego jądra woreczka zalążkowego. Można było bo-

## Tablica I — Plate I

### 1—16. *Trifolium pratense* L. var. *spontaneum*

Rys. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 i 15 — ekotypy ze stanowisk naturalnych (2n=14); rys. 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 15 i 16 — tetraploidy eksperymentalne (2n=28)

Figs. 1, 3, 5, 9, 11, 13 and 15 — ecological types from the natural stands (2n=14); figs. 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 15 and 16 — experimental tetraploids (2n=28)

Rys. 1, 2 — wynikanie łagiewki pyłkowej do zalążni (150×); rys. 3, 4 — zapłodnienie komórki jajowej (1000×); rys. 5, 6 — zapłodnienie jądra wtórnego (1000×); rys. 7, 8 — zdegenerowane woreczki zalążkowe (500×); rys. 9, 10 — podział mitotyczny zapłodnionej komórki jajowej (600×); rys. 11, 12 — młode zarodki w bielmie jądrowym (350×); rys. 13, 14 — starsze zarodki w bielmie jądrowym (350×); rys. 15, 16 — zdegenerowane zarodki (500×)

Figs. 1, 2 — extension of pollen tube in to the ovary (×300); figs. 3, 4 — fertilization of egg cell (×150); figs. 5, 6 — fertilization of second nuclei (×1000); figs. 7, 8 — degenerate embryo sacs (×500); figs. 9, 10 — mitotic division of fertilized egg cell (×600); figs. 11, 12 — young embryos in nuclear endosperm (×350); figs. 13, 14 — Elder embryos in nuclear endosperm (×350); figs. 15, 16 — degenerated embryos (×500)

## Tablica II — Plate II

### 17—26. *Trifolium hybridum* L.

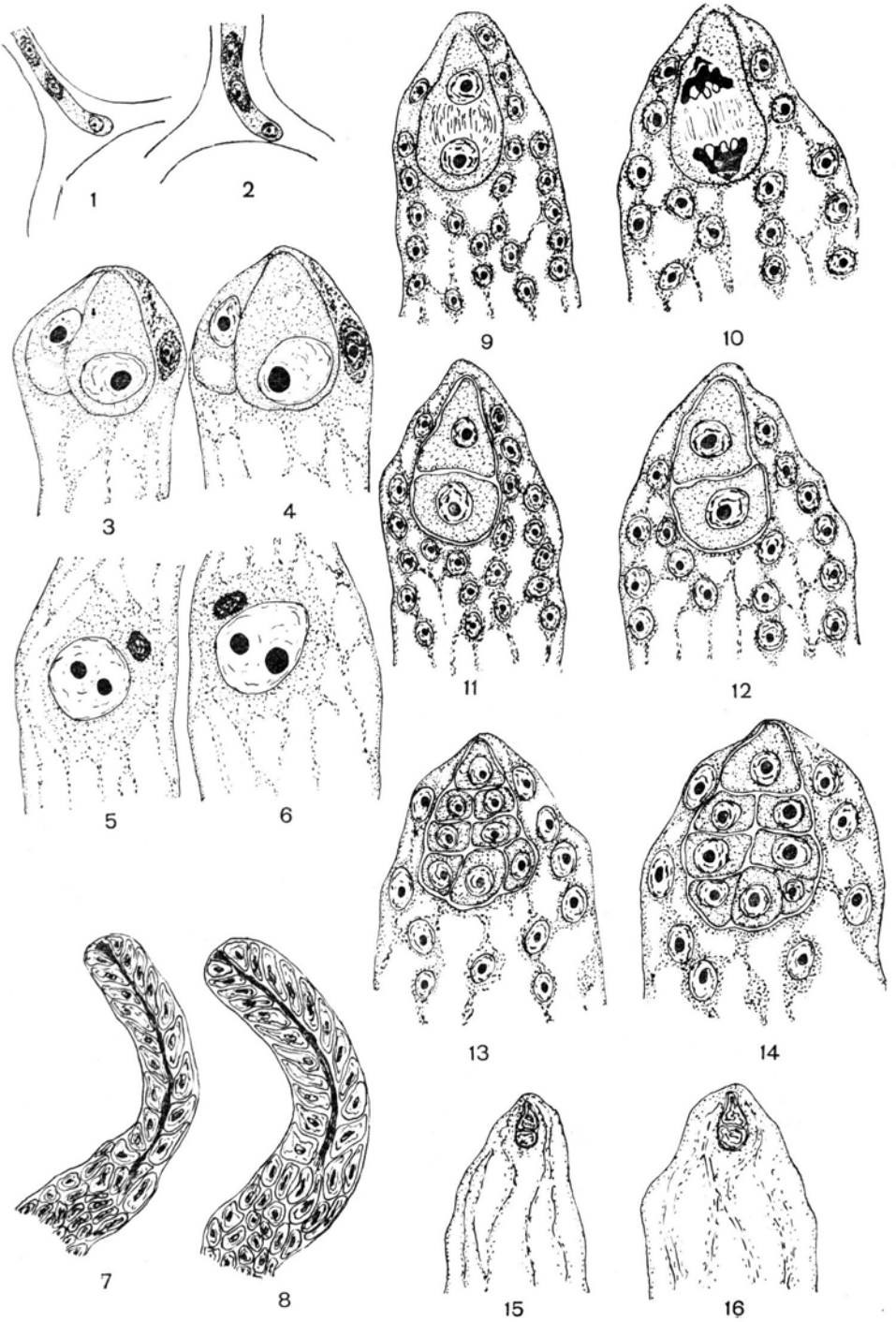
Ryc. 17, 19, 21, 23, 25 — ekotypy ze stanowisk naturalnych (2n=16); rys. 18, 20, 22, 24, 26 — tetraploidy eksperymentalne (2n=32)

Figs. 17, 19, 21, 23, 25 — ecological types from the natural stands; figs. 18, 20, 22, 24, 26 — experimentals tetraploids (2n=32)

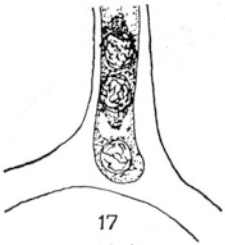
Rys. 17, 18 — wnikanie łagiewki pyłkowej do zalążni (150×); rys. 19, 22 — zapłodnienie komórki jajowej i wtórnego jądra (1000×); rys. 23, 24 — podział mitotyczny zapłodnionego wtórnego jądra (600×); rys. 25, 26 — zdegenerowane woreczki zalążkowe (500×)

Figs. 17, 18 — extension of pollen-tube in to the ovary (×150); figs. 19, 22 — fertilization of egg cell and second nuclei (×600); figs. 23, 24 — mitotic division of fertilized second nuclei (×600); figs. 25, 26 — degenerate embryo sac (×500)

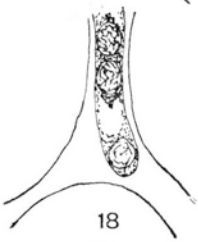
Tablica I — Plate I



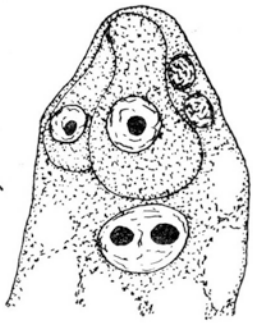
Tablica II — Plate II



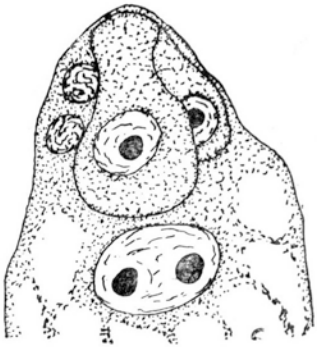
17



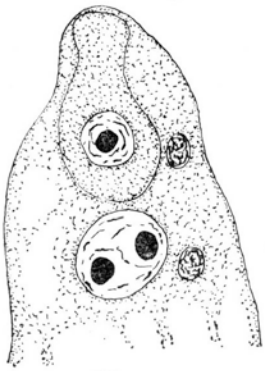
18



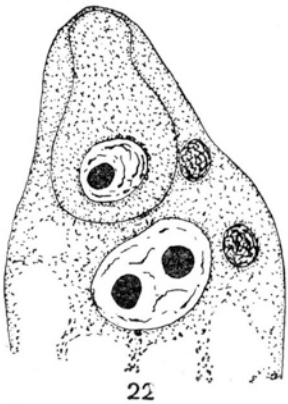
19



20

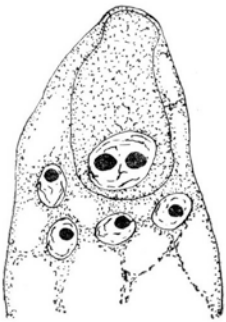


21

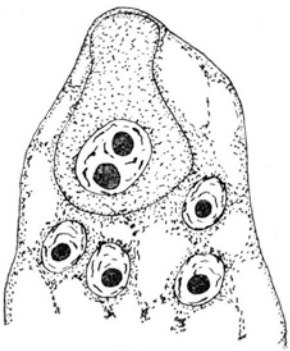


22

25



23



24

26

## Tablica III — Plate III

27—36. *Trifolium hybridum* L.

Rys. 27, 29, 31, 33, 35 — ekotypy ze stanowisk naturalnych (2n=16); rys. 28, 30, 32, 34, 36 —tetraploidy eksperymentalne (2n=32)

Figs. 27, 29, 31, 33, 35 — ecological types from the natural stands (2n=16); rys. 28, 30, 32, 34, 36 — experimentals tetraploids (2n=32)

Rys. 27—30 — podziały mitotyczne zapłodnionej komórki jajowej (600×); rys. 31—34 — młodsze i starsze zarodki w bielmie jądrowym (350×); rys. 35, 36 — zdegenerowane zarodki (500×)

Figs. 27—30 — mitotic division of fertilized egg cell (×600); figs. 31—34 — young and elder embryos in nuclear endospermae (×350); figs. 35, 36 — degenerated embryos (×500)

## Tablica IV — Plate IV

37—52. *Trifolium repens* L.

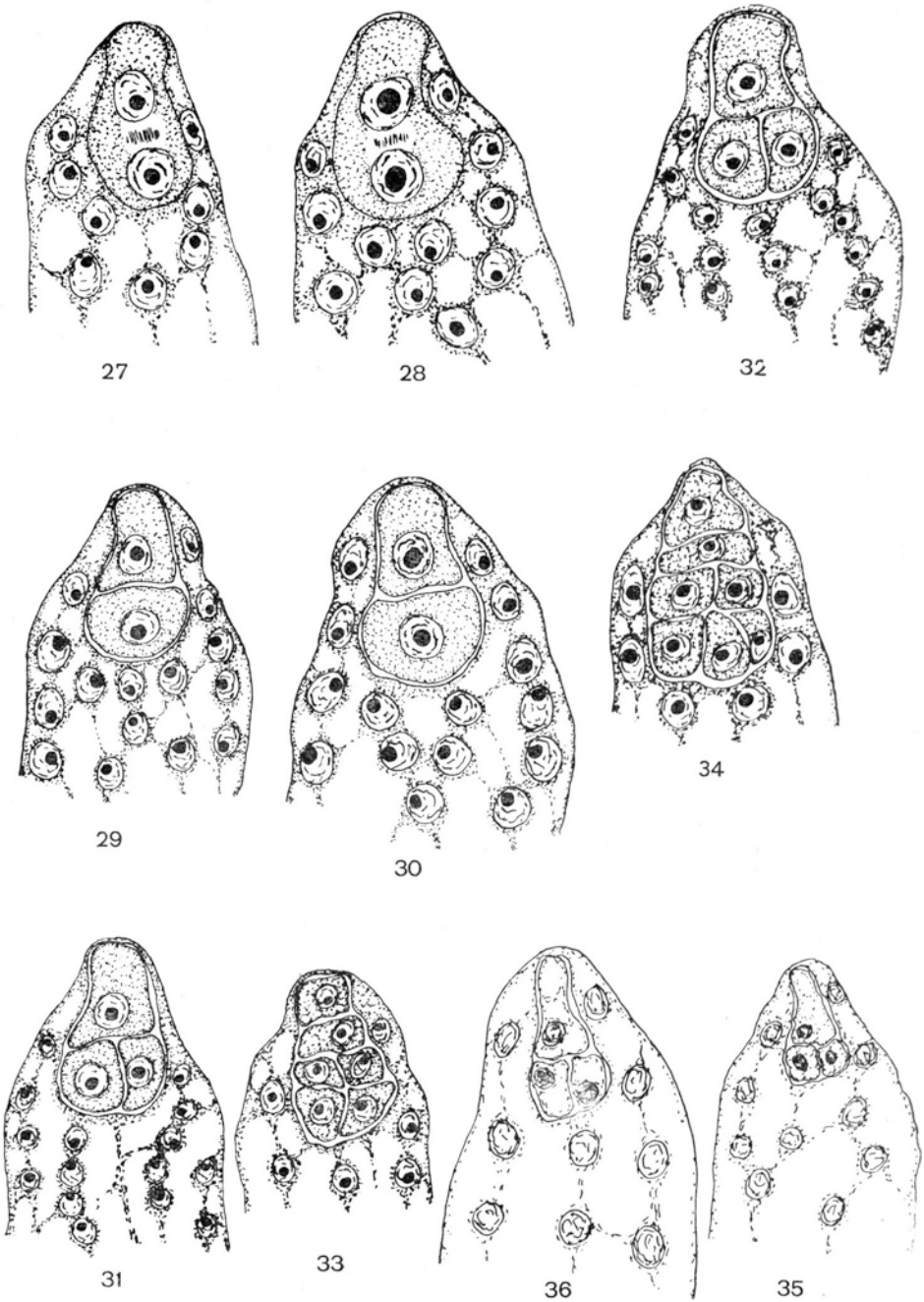
Rys. 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 — ekotypy ze stanowisk naturalnych (2n=32); rys. 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 — oktoploidy eksperymentalne (2n=64)

Figs. 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 — ecological types from the natural stands (2n=32); figs. 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 — experimental octoloid (2n=64)

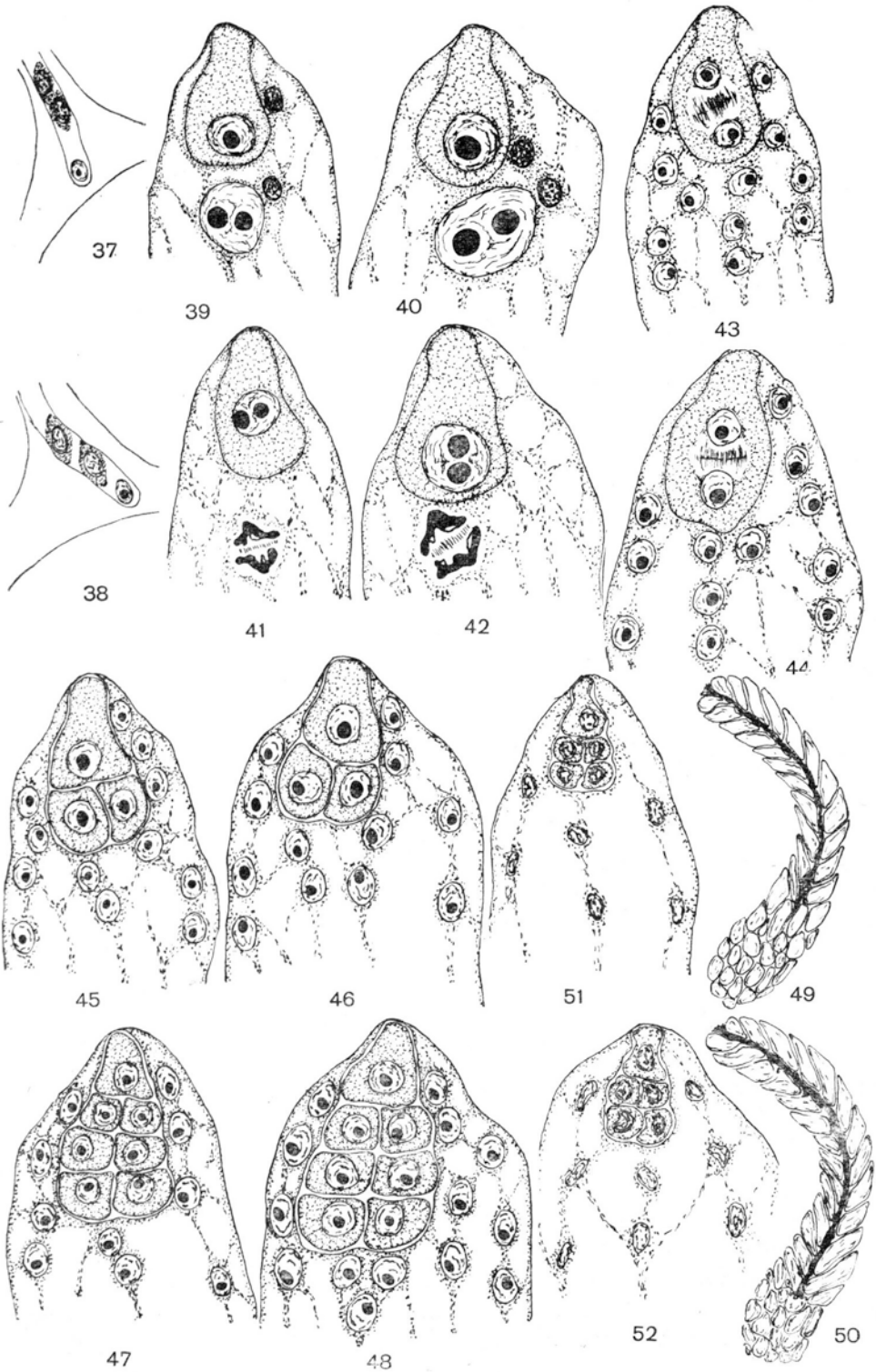
Rys. 37, 38 — wnikanie łagiewki pyłkowej do zalążni (150×); rys. 39, 40 — zapłodnienie (1000×); rys. 41, 42 — podział mitotyczny zapłodnionego jądra (1000×); rys. 43, 44 — podział mitotyczny zapłodnionej komórki jajowej (1000×); rys. 45, 46 — młode zarodki w bielmie jądrowym (350×); rys. 47, 48 — starsze zarodki w bielmie jądrowym (350×); 49, 50 — zdegenerowane woreczki zalążkowe (500×); rys. 51, 52 — zdegenerowane zarodki (500×)

Figs. 37, 38 — extension of pollen tube in to the ovary (×150); figs. 39, 40 — fertilization (×1000); figs. 41, 42 — mitotic division of fertilized second nuclei (×1000); figs. 43, 44 — mitotic division of fertilized egg cell (×1000); figs. 45, 46 — young embryos in nuclear endospermae (×350); figs. 47, 48 — elder embryos in nuclear endospermae (×350); figs. 49, 50 — degenerate embryo sac. (×500); figs. 51, 52 — degenerated embryos (×500)

Tablica III — Plate III



Tablica IV — Plate IV



wiem obserwować przez dłuższy czas ułożenie jądra plemnikowego obok jądra komórki jajowej, gdy tymczasem zapłodnione wtórne jądro woreczka zalążkowego uległo już podziałowi.

W pracy niniejszej, podobnie jak w pracach poprzednich (Bijok, Góral, Góral 1970 a, b) Bijok, Góral (1970) została potwierdzona liczba zalążków występujących w zalążni badanych form *Trifolium*, a mianowicie: 2 u *T. pratense* var. *spontaneum*, 2—3 u *T. hybridum* i 4—7 u form *T. repens*, w których zawsze wykształcały się dojrzałe woreczki zalążkowe.

Z przeprowadzonych badań u wszystkich form stwierdzono degenerację woreczków zalążkowych (rys. 7, 8, 25, 26, 49, 50). Degeneracja ta zachodziła u obu form *T. pratense* var. *spontaneum* w zalążkach od strony dna kwiatowego, podobnie u form *T. hybridum* i *T. repens*, z tym że u form *T. hybridum* obumieranie woreczków zalążkowych w zalążkach zachodziło również sporadycznie od strony szyjki słupka, a u *T. repens* najczęściej jednak od strony dna kwiatowego, a wyjątkowo od strony szyjki słupka. Liczba degenerujących woreczków zalążkowych na 100 zbadanych zalążków każdej formy u diploidalnej formy *T. pratense* var. *spontaneum* wynosiła 10, a u tetraploidalnej 20. Na 140 zbadanych zalążków każdej formy, u diploidalnej *T. hybridum* liczba degenerujących woreczków zalążkowych wynosiła 5, a u tetraploidalnej 11, przy czym u formy diploidalnej 2, a u tetraploidalnej 5 od strony szyjki słupka. Natomiast na 130 zbadanych zalążków każdej formy *T. repens*, u formy tetraploidalnej degenerowało 6, a u oktoploidalnej 10 woreczków zalążkowych, przy czym znowu od strony szyjki słupka u formy tetraploidalnej w 2, a u formy oktoploidalnej w 4 przypadkach.

W żadnym przypadku nie stwierdzono w degenerujących woreczkach zalążkowych wykształcania się zarodka. Można przypuszczać, że w zalążkach tych nie dochodził do skutku proces zapłodnienia, a to dlatego, że w żadnym przypadku w tych zalążkach nie obserwowano łagiewki pyłkowej, a w ich degenerujących woreczkach zalążkowych, jąder plemnikowych.

Zalążki zawierające zdegenerowane woreczki zalążkowe, a co zatem idzie pozbawione i zarodków, najczęściej degenerowały lub w bardzo rzadkich przypadkach rozwijały się w nasiona bez zarodków.

## Rozwój zarodka

Rozwój zarodka u form *T. hybridum* i *T. repens* obserwowano od momentu, kiedy zapłodniona komórka jajowa nie uległa jeszcze podziałowi, natomiast u form *T. pratense* var. *spontaneum* od stadium pierwszego jej podziału (rys. 9—12, 23, 24, 41, 42). Po zapłodnieniu komórka jajowa nieco się wydłużała, po czym dzieliła się na dwie komórki: bazalną —

większą, i terminalną — mniejszą (rys. 9—12, 27—30, 43, 44). Dalszy rozwój zarodka następował u wszystkich badanych form przez stopniowo po sobie następujące podziały komórki terminalnej. Komórka bazalna nie brała udziału w rozwoju zarodka, a dawała początek krótkiemu i masywnemu wieszadełku (rys. 13, 14, 31—34, 45—48).

Rozwój zarodka u wszystkich badanych form następował tylko na drodze płciowej. Ani razu nie obserwowano rozwoju zarodka na drodze apomiktycznej.

Z przeprowadzonych obserwacji wynika, że rozwój zarodka, zarówno u badanych gatunków *Trifolium* ze stanowisk naturalnych, jak i ich form poliploidalnych następuje, jak to stwierdza Johansen (1950), według typu Onagrad, odmiany *Trifolium*.

W początkowym rozwoju obserwowano dość rzadko degenerację prazarodków (rys. 15, 16, 35, 36, 51, 52). Na 100 zbadanych zalążków każdej formy *T. pratense* var. *spontaneum* proces ten wystąpił u formy diploidalnej w 15 przypadkach i w 25 u formy tetraploidalnej, a u *T. hybridum*, u każdej formy, na 120 zalążków w 7 przypadkach wśród diploidów i w 9 wśród tetraploidów. Natomiast u każdej z form *T. repens* na 110 zbadanych zalążków degenerację prazarodków obserwowano u formy tetraploidalnej w 8 przypadkach, a u formy oktoploidalnej w 10.

### Rozwój bielma

Podziały zapłodnionego wtórnego jądra woreczka zalążkowego następowały szybciej niż zapłodnionej komórki jajowej (rys. 9—12, 23, 24, 27, 28, 41—44). Jądra bielma początkowo otaczały zarodek, później jednak układały się wzdłuż ścian i przez środek woreczka zalążkowego w postaci pasm cytoplazmy z jądrami w niej leżącymi (rys. 9—14, 23, 24, 27—34, 43—48). W stadium kiedy rozwijający się zarodek przyjmował kształt kulisty, bielmo występowało u wszystkich badanych roślin jeszcze w postaci jądrowej. Jądra bielma w tym czasie były gęsto rozmieszczone wzdłuż ścian, luźniej natomiast w środku woreczka zalążkowego. W czasie kiedy w zarodku zaczęły wykształcać się liścienie, bielmo typu jądrowego przekształcało się w bielmo typu komórkowego. Proces ten zachodził początkowo wzdłuż ścian, a później stopniowo przesuwał się w kierunku wnętrza woreczka zalążkowego. W miarę dalszego rozwoju zarodka bielmo stopniowo było resorbowane przez zarodek. W dojrzałych nasionach badanych form *Trifolium* bielma nie stwierdzono.

## DYSKUSJA

Znaczną różnorodność cech poliploidalnych form *T. pratense*, *T. hybridum* i *T. repens* uzyskanych z materiału hodowlanego wykazali Łączyńska-Hulewicz (1957), Mackiewicz (1958, 1963, 1965), na-

tomiast z materiału uzyskanego ze stanowisk naturalnych Bijok, Góral, Góral (1968, 1969). Formy poliploidalne gatunków ze stanowisk naturalnych północnej Polski przewyższały płodnością formy poliploidalne gatunków uzyskanych z form uprawnych.

Prace Desseraux (1951), Hertzscha (1954) i Mackiewicza (1958, 1963) wykazały, że współczynnik rozmnażania u koniczyn zależy od liczby zalążków w strąku i ich płodności.

Praca niniejsza miała za zadanie dalsze studia embriologiczne nad procesem zapłodnienia, rozwojem zarodka i bielma, celem wyjaśnienia przyczyny mogącej wpłynąć na obniżoną płodność u form poliploidalnych w stosunku do form wyjściowych, na co poprzednio wykonane prace nie dały odpowiedzi (Bijok, Góral, Góral 1970 a, 1970 b, Bijok, Góral (1970).

Wnikanie licznych łagiewek pyłkowych w szyjkę słupka, zahamowanie ich wzrostu na pewnej wysokości szyjki słupka z wyjątkiem nielicznych, które dochodziły do woreczków zalążkowych, podobnie jak to wynika z naszych prac, obserwowali u *T. pratense* Martin (1913), Silov (1931), Damisch (1963) i Kazubowska-Mackiewicz (1964).

U *T. pratense* Kazubowska-Mackiewicz (1964) obserwowała wyraźne różnice w kształcie i wielkości jąder plemnikowych zapładniających komórkę jajową i wtórne jądro woreczka zalążkowego. W przeprowadzonych badaniach różnicy tej nie obserwowano.

Zaburzenia w zapłodnieniu, obumieranie woreczków zalążkowych, w których nie nastąpiło zapłodnienie, oraz obumieranie zarodków we wczesnym stadium rozwoju obserwowała Kazubowska-Mackiewicz (1964) także u *T. pratense*. Jednocześnie stwierdziła ona również, że podobnie jak w naszych badaniach, procesy te zachodziły procentowo częściej u form poliploidalnych niż u form wyjściowych. Pandey (1957) jest zdania, że powodem obumierania zalążków u koniczyn, jest ich niedorozwój na skutek ich słabego odżywiania.

Kazubowska-Mackiewicz (1964) u *T. pratense* nie obserwowała wykształcania się nasion pozbawionych zarodków. Zaburzenia w rozwoju bielma obserwowała ona (l. c.) jedynie u roślin z krzyżówki tetraploidalnej z diploidalną *T. pratense*, gdzie bielmo się nie wykształciło.

Z przeprowadzonych uprzednio prac (Bijok, Góral, Góral 1968, 1969, 1970 a, b; Bijok, Góral, (1970) i obecnych badań wynika, że powodem obniżonej płodności u sztucznych poliploidów *T. pratense* var. *spontaneum*, *T. hybridum* i *T. repens* mogą być zaburzenia występujące w czasie tworzenia się pyłku, zapłodnienia, jak i zaburzenia w rozwoju zarodka. Można przypuszczać, że niepoślednią rolę w płodności poliploidów odgrywają owady, ich liczebność i zróżnicowanie ilościowe i gatunkowe w okresie kwitnienia koniczyn.

## STRESZCZENIE I WNIOSKI

W toku badań nie stwierdzono istotnych różnic w długości łagiewek pyłkowych u ekotypów zebranych ze stanowisk naturalnych (tab. 1) *T. pratense* L. var. *spontaneum* Willk. *T. hybridum* L. i *T. repens* w odniesieniu do ich form poliploidalnych uzyskanych na drodze eksperymentalnej (rys. 1, 2, 17, 18, 37, 38).

Zaburzenia w zapłodnieniu, obumieranie woreczków zalążkowych, w których nie nastąpiło zapłodnienie oraz degeneracja zarodków we wczesnym stadium rozwoju i sporadyczne powstawanie nasion bez zarodków, zachodziły procentowo liczniej u form poliploidalnych (rys. 7, 8, 15, 16, 25, 26, 35, 36, 49—52).

Rozwój zarodka zarówno u gatunków wyjściowych, jak ich sztucznych poliploidów odbywał się podobnie. Przebiegał on jak podaje Johansen (1950) według typu Onagrad, odmiany *Trifolium*. Podobnie i rozwój bielma odbywał się normalnie według typu jądrowego (rys. 3—6, 9—14, 19—24, 27—34, 39—48).

Z badań prowadzonych poprzednio i obecnie można wnioskować, że powodem obniżonej płodności u sztucznych poliploidów mogą być występujące u nich w większym procencie w stosunku do ich gatunków wyjściowych zaburzenia w czasie rozwoju pyłku, w czasie zapłodnienia i zaburzenia w rozwoju zarodka. Przypuszczalnie w procesie tym odgrywają rolę również owady — ich liczebność oraz zróżnicowanie ilościowe i gatunkowe w czasie kwitnienia.

## SUMMARY

The present work is a continuation of previous studies on polyploid forms of *Trifolium hybridum* L., *T. repens* L. (Bijok, Góral and Góral 1970 a, b) and *T. pratense* L. var. *spontaneum* Will. (Bijok and Góral — (1970)).

In the course of this study no significant differences in the length of pollen tubes were found between ecological types collected from natural stations (*Trifolium pratense* L. var. *spontaneum* Willk. *T. hybridum* L. and *T. repens* L. (Tab. 1)) and their polyploid forms obtained in the experimental way (Figs. 1, 2, 17, 18, 37, 38).

Disorders in fertilization, decay of embryo sac in which fertilization did not occur, degeneration of embryos in their early stages of development and sporadic formation of seeds without embryos were observed more frequently on a percentage basis in the polyploid forms.

Embryo and endosperm development were similar in initial and polyploid species. According to Johansen (1950) embryo development took place after Ongrad's type, *Trofolium* variety. Endosperm development was also normal, of nuclei type.

From previous and present studies the conclusion may be drawn that reduced fertility of experimental polyploids may be due to disorders during pollen develop-

*(Przyjęto: 15.IX.1971.)*

ment, fertilization and embryo development, which may occur more frequently on the percentage basis as compared with their initial species. The assumption that this process is influenced by insects, namely by their number and quality and species differentiation during the florescence may also be made.

## LITERATURA

Atwood S. S., 1941, Cytological basis for incompatibility in *Trifolium repens*, Amer. Journ. Bot. 28: 551—557.

Bijok K., Góral M., Góral St., 1968, Badania cytologiczne i osadzanie nasion u poliploidalnych form *Trifolium repens* L., Hod. Rośl. Aklim. i Nasienn. 12: 423—435.

Bijok K., Góral M., Góral St., 1969, Badania cytologiczne i osadzanie nasion u poliploidalnych form *Trifolium hybridum* L., Hod. Rośl. Aklim. i Nasienn. 13: 89—103.

Bijok K., Góral M., Góral St., 1970 a, Studia embriologiczne nad poliploidalnymi formami *Trifolium repens* L., Acta Agrobot. 23: 259—277.

Bijok K., Góral M., Góral St., 1970 b, Badania embriologiczne di- i tetraploidalnych form *Trifolium hybridum* L., Acta Agrobot. 23: 279—295.

Bijok K., Góral St., 1971, Wstępne badania ekotypów *Trifolium pratense* L. var. *spontaneum* Willk., Hod. Rośl. Aklim. i Nasienn. 15: 353—364.

Bijok K., Góral St., 1970, Studia cyto-embriologiczne di- i tetraploidalnych form *Trifolium pratense* L. var. *spontaneum* Willk. Acta Agrobot. (1970), 23: 367—386.

Bleier H., 1925, Chromosomenzahlen und Kernvolumina in der Gattung Trifolium, Ber. Deutsch. Bot. Ges. 43: 236—238.

Damisch W., 1963, Über den Einfluss biologischer Faktoren auf den Samenansatz bei Rotklee, Biol. Zentralbl. 82.

Desseraux L., 1951, Ovula formation as a factor influencing seed setting of Ladino ehite clover, Sci. Agr. 31: 373—382.

Guignard L., 1882, Recherches anatomiques et physiologiques sur des Legumineuses, Diss. Paris.

Hertzsch W., 1954, Beobachtungen an kunstlich hergestellten poliploiden Futterpflanzen, Z. Pflanzenzücht. 34: 59—70.

Johansen D. A., 1950, Plant Embryology. Embryogeny of the Spermatophyta, Walthaim, Mass USA Chr. Bot. Comp.

Kazubowska-Mackiewicz T., 1964, Badania cytologiczno-embriologiczne przyczyn słabszego wiązania nasion u koniczyny czerwonej tetraploidalnej (*Trifolium pratense* L.) w porównaniu z formą diploidalną, Manuskrypt.

Łączyńska-Hulewicz T., 1957, Badania nad sztucznymi poliploidami, Cz. I, Roczn. Nauk Roln. 75-A-3: 291—338.

Łączyńska-Hulewicz T., 1965, Crossing experiments among cultivated clover specie (*Trifolium pratense*, *T. hybridum* and *T. repens*), Gen. Pol. 6; 1—4.

Mackiewicz H. O., 1958, Badania nad di- i tetraploidalną koniczyną szwedzką (*Trifolium hybridum* L.), Roczn. Nauk Roln. 79-A-2: 677—688.

Mackiewicz H. O., 1963, Studies on di- and tetraploid alsike clover (*Trifolium hybridum* L.), Part. I. Morphology and anatomy of vegetative organs, Gen. Pol. 4: 121—138.

Mackiewicz H. O., 1965, Studies on di- and tetraploid alsike clover (*Trifolium hybridum L.*), Part. II. Flover morphology and the problem of fertility, Gen. Pol. 6: 41—42.

Maheshwari P., 1950, Embryology of Angiosperms, Mc. Graw.-Hill Book Comp., Inc. New. York, Toronto, London.

Martin J. N., 1913, The physiology of pollen of *Trifolium pratense*, Bot. Gaz. 56: 12—126.

Martin J. N., 1914, Comparative morphology of some *Leguminosae*, Bot. Gaz. 58: 154—167.

Pandey K. K., 1957, A self-compatible hybrid form a cross between two self-incompatible species in *Trifolium*, Journ. Hered. 48: 278—281.

Silov R. A., 1931, A preliminary report of pollen tube growth in red clover, Welsh. Ol. Br. Sta. Ser. H. 12: 228—233.

Skovsted A., 1939, Cytological studies in twin plants, Compt. Rend. des Trav. Carlsberg Lab. Ser. Physiol. 22: 427—446.

Soueges R., 1927, Embryogenie des *Legumineuses*. Developpment du proembryon chez *Trifolium minus* Rehl., C. R. des Scences de L'Acad. des Scien. 184: 1018—1019.

Soueges R., 1927, Embryogenie des *Legumineuses*. Les derniers stades du developpment de l'embryon chez le *Trifolium minus* Rhl., C. R. des Seances de L'Acad. des Scien. 184: 1196—1198.