MARJA SKALIŃSKA

Pracownia Botaniczna Wolnej
Wszechnicy Polskiej, Warszawa

BADANIA CYTOLOGICZNO-GENETYCZNE NAD MIESZAŃCEM TRIPLOIDALNYM *AQUILEGIA*.

(Etudes cyto-génétiques sur un hybride triploide *d'Aquilegia*).

W pracy niniejszej przedstawiam wyniki badań genetyczno-cytologicznych nad mieszańcem triploidalnym, powstałym samorzutnie w pierwszem pokoleniu mieszańców dwóch gatunków diploidalnych: *Aquilegia chrysantha* i *A. flabellata nana*. Literatura cytologiczna, dotycząca triploidów jest dość obszerna, natomiast dane genetyczne z konieczności posiadają często charakter fragmentaryczny, z powodu silnie obniżonej płodności tych organizmów o niezbalansowanej strukturze karjologicznej. Przedstawione poniżej wyniki badań nad triploidalnym mieszańcem *Aquilegia* nie stanowią pod tym względem wyjątku; zasługują one jednak na uwagę głównie z następujących względów: roślina omawiana, w przeciwieństwie do licznych triploidów, posiada wysoki procent płodnego, zdolnego do funkcjonowania pyłku, dzięki czemu krzyżowanie z nią, jako rośliną ojcowską. daje naogół dobre wyniki, natomiast jeśli zostaje ona użyta jako roślina macierzysta, okazuje się bardzo mało płodna; w potomstwie jej, dzięki selektywnemu rozwojowi, występuje bardzo niewielka ilość typów karjologicznych; przy krzyżowaniach rozwój typów potomstwa stoi w związku z budową karjologiczną użytego do krzyżo-

wania partnera; w potomstwie, pochodzącem z samozapylenia, występują stosunkowo często rośliny tetraploidalne. Jest to już drugi zaobserwowany przeze mnie fakt wystąpienia mieszańców poliploidalnych u *Aquilegia*. Rodzaj ten odnośnie budowy karjologicznej odznacza się znaczną jednolitością, wszystkie bowiem zbadane dotąd gatunki dzikie i mieszańce posiadają haploidalną liczbę chromozonów równą siedmiu (2, 12, 28, 32). Pierwsze odchylenie od tej liczby skonstatowałam w r. 1932 (29) u tetraploidalnej rośliny siostrzanej triploida, opisanego w pracy niniejszej. Tetraploid ten powstał przez somatyczne podwojenie liczby chromozonów, przypuszczalnie w pierwszych stadjach rozwoju zarodka. Rzadkie zjawiska poliploidalności u *Aquilegia* wykazują, że rodzaj, któremu brak zróżnicowania karjologicznego, może osiągnąć jego pierwsze etapy dzięki powstaniu tych typów, które posiadają odrębność, właściwą nowym gatunkom.

CECHY MORFOLOGICZNE GATUNKÓW KRZYŻOWANYCH I MIESZAŃCÓW F_1.

Oba gatunki, użyte do krzyżowań, były izolowane i samozapylane w moich kulturach w ciągu trzech pokoleń. Z trzech krzyżowań, wykonanych w r. 1929 na *A. chrysantha*, jako roślinie macierzystej, otrzymałam około 100 roślin F_1. Potomstwo było całkowicie jednolite z wyjątkiem dwóch roślin, z których jedna okazała się następnie tetraploidem, druga zaś — triploidem,

Aquilegia chrysantha A. Gr. ($2n = 14$) użyta do krzyżowań, jako roślina macierzysta, posiada ok. 70 cm. wysokości. Rozwija ona od 1 do 3 pędów kwiatowych. Liście dwukrotnie lub trzykrotnie trójdzielne, o drobnych wycinanych blaszkach, osadzonych na długich ogonkach drugiego, względnie trzeciego rzędu. Antocjan obecny w częściach wegetatywnych. Pączki kwiatowe wąskie, zaostrzone. Kwiaty duże, działki zewnętrzne wąskie i zaostrzone, ostrogi działek miodnikowych cienkie i długie (4, 7 — 5 cm. długości), proste, działki i ostrogi jasno-żółtej barwy, dzięki obecności ksantofilu (26), natomiast zaokrąglone, dość krótkie górne części działek miodnikowych (t. zw. lamina) posiadają zabarwienie jaskrawo-żółte, wywołane przez inny pigment.

Aquilegia flabellata nana Sieb. i Zucc. ($2n = 14$) użyta jako roślina ojcowska jest gatunkiem karłowatym, wysokości 25 — 35 cm. Rozwija liczne (5 — 8) pędy kwiatowe. Liście dwukrotnie trójdzielne o dość dużych wachlarzowatego kształtu blaszkach, osadzonych po trzy na końcach ogonków drugiego rzędu. Antocjan nieobecny w częściach wegetatywnych i w kwiatach. Kwiaty nieco mniejsze, niż u gatunku macierzystego. Działki zewnętrzne dość szerokie, zaostrzone, górne części działek miodnikowych wyraźnie wydłużone, blado-kremowe; natomiast ostrogi krótkie, dość grube, wyraźnie zakręcone. Kwiaty białe.

Mieszańce diploidalne F_1 posiadały wysokość 90 — 100 cm.; bujnością przewyższały znacznie oba gatunki krzyżowane. Posiadały one antocjan w częściach wegetatywnych, oraz w kwiatach, które miały barwę jasno-lawendowo-niebieską z kremowem wnętrzem. Syntezę barwy kwiatów tych mieszańców wyjaśniłam w jednej z prac poprzednich (1929). *A. chrysantha* wprowadza do krzyżowania następujące geny, wpływające na barwę kwiatów: gen C_1, warunkujący rozwój antocjanu w częściach wegetatywnych i będący podłożem barwika antocjanowego w kwiatach; gen ten wywołuje w kwiatach *A. chrysantha* zaledwie dostrzegalny nalot bronzowy na końcach ostróg; gen Y, warunkujący rozwój barwika żółtego chromoplastów; nadto gen L warunkuje intensywne żółte zabarwienie lamina. *A. flabellata* zaś wprowadza geny następujące: gen R, aktywujący w kwiatach mieszańców gen C_1, prowadząc do syntezy antocjanu (różowego); oraz gen F, zmieniający barwę rozwijającego się antocjanu na lawendowo-niebieską. Dzięki współdziałaniu zatem genów C_1, R i F występuje w kwiatach mieszańców F_1 barwa lawendowo-niebieska. Ostrogi są długości pośredniej, zakręcone.

Mieszaniec triploidalny ($2n = 21$) (Fig. 8 h) jest rośliną bardzo bujną, rozwijającą corocznie po kilkanaście pędów kwiatowych, z pokroju podobna jest ona do mieszańców diploidalnych, przewyższa je jednak nieznacznie wysokością. Występujące różnice dotyczą głównie barw i kształtów kwiatów. Podobnie jak u mieszańców diploidalnych, działki zewnętrzne i ostrogi triploida posiadają antocjan lawendowo-niebieski, który rozwija się wskutek współdziałania trzech czynników genetycznych, wprowadzonych w stanie latencji przez gatunki krzyżowane. Prócz antocjanu jednak widoczny

jest w tych częściach kwiatów również ksantofil, dostrzegalny wyraźnie, pomimo obecności antocjanu. Zabarwienie lamina jest jaskrawo-żółte, jak u *A. chrysantha*, a więc wyraźnie intensywniejsze, niż u diploidalnych roślin siostrzanych.

Również kształtem ostróg zbliża się triploid więcej do gatunku *A. chrysantha*, gdyż posiada ostrogi dłuższe, cieńsze i słabiej zagięte, niż mieszańce diploidalne (Fig. 12a). Roślina triploidalna (Nr. katalogowy 1/14) wyróżniała się nadto zpośród jednolitego pierwszego pokolenia mieszańców również porą zakwitania, późniejszą o tydzień, niż u organizmów siostrzanych, w czem również wykazuje podobieństwo do późno kwitnącej *A. chrysantha*. Płodność triploida w porównaniu z diploidami uległa wydatnemu obniżeniu: w pierwszym roku kwitnienia (1931) roślina ta wykształciła zaledwie jedno nasienie z otwartego zapylenia. W roku następnym płodność nieco się zwiększyła. Badanie cytologiczne wykazało w tkankach somatycznych tej rośliny liczbę chromozomów = 21.

Wyraźna przewaga cech rośliny macierzystej w porównaniu z diploidalnemi roślinami siostrzanemi dowodzi, że z trzech genomów, które zawiera organizm triploidalny, dwa należą do gatunku *A. chrysantha*, a trzeci do *A. flabellata nana*. Mieszaniec triploidalny zatem rozwinął się przypuszczalnie z niezredukowanej diploidalnej komórki jajowej *A. chrysantha*, zapłodnionej przez normalną haploidalną gametę męską *A. flabellata*.

Charakter płodności mieszańca triploidalnego zasługuje na specjalną uwagę. Ogromna większość opisanych dotąd organizmów triploidalnych posiada słabą płodność, zarówno zalążków, jak i pyłku. Nieparzysta liczba genomów wpływa na zakłócenie przebiegu mejozy, co prowadzi następnie do degeneracji znacznego procentu wytworzonych mikro i makrospor. Zwłaszcza pyłek wykazuje silny stopień bezpłodności. Natomiast triploid *Aquilegia* wykazuje pod tym względem zachowanie poniekąd odmienne: badany pod mikroskopem dojrzały pyłek zawiera wysoki procent płodnych ziarn, zdolnych do funkcjonowania, jak dowiodły krzyżowania z typami diploidalnemi i tetraploidalnemi. Zalążki rozwiniętych kwiatów posiadają mniej więcej w 30% normalne woreczki zarodkowe. Pomimo to ta roślina użyta jako macierzysta wydaje zawsze znikomą ilość nasion, zarówno po samozapyleniu, jak i po krzyżowaniu. (Por. Tab. IV i V).

MEJOZA U MIESZAŃCA TRIPLOIDALNEGO.

Młode pączki kwiatowe utrwalone były do badań cytologicznych komórek macierzystych pyłku w płynie Navashina; skrawki grubości 5 μ barwione były fioletem gencjanowym według Newtona. Badania cytologiczne były przedsięwzięte dla poznania, w jaki sposób następuje u triploida rozdział 21 chromozomów na komórki potomne, prowadzący do powstawania zdolnych do rozwoju mikrospor. Najważniejszemi stadjami są tu meta- ana- i telofaza heterotypowa, to też te stadja zostały przestudjowane szczegółowo na obszernym materjale.

Obecność triwalentów została zaobserwowana w djakinezie; w metafazie, badanej na znacznej liczbie komórek, stwierdzone zostało, że występują one prawie we wszystkich komórkach (Fig. 8a) liczba ich jednak ulega znacznym wahaniom. Konfiguracja chromozomów w metafazie 120 komórek macierzystych pyłku zestawiona jest na tabeli I. Jak wynika z zestawienia tego, w większości komórek występują jednocześnie triwalenty, biwalenty i uniwalenty, przyczem liczba triwalentów waha się od 0 — 7. Najczęściej spotykamy od 3 — 5 triwalentów, wyjątkowo zaś tylko znaleźć można chromozomy, zgrupowane z 7 par i 7 uniwalentów. Odpowiada to konfiguracji chromozomów, której teoretycznie możnaby oczekiwać u mieszańców triploidalnych, posiadając dwa genomy identyczne, a trzeci różny od nich (według Darlingtona (5) (t. zw. typ *AAB*). Pomimo, że triploid *Aquilegia* odnośnie składu genomatycznego wyraźnie należy do tego właśnie typu, na co wskazuje jego geneza, zdolność konjugowania chromozomów obu gatunków rodzicielskich umożliwia formowanie triwalentów, charakterystycznych raczej dla autopoliploidów (*Datura*, Blakeslee i Belling (3), *Zea Mays*, Mc. Clintock (15), *Solanum lycopersicum*, Mann-Lesley (13)). Konfigurację $n_{II} + n_{I}$ spotyka się również u pewnych mieszańców triploidalnych, pochodzących ze skrzyżowania gatunków tetraploidalnych z diploidami; (t. zw. typ *ABC* —Darlington). (Przykład tego typu konfiguracji opisany był poraz pierwszy przez Rosenberga (24, 25) u mieszańca *Drosera rotundifolia* × *D. longifolia* i stąd typ $n_{II} + n_{I}$ nazywany jest najogólniej typem Drosera. Powiązanie chromozomów triwalentu może być luźniejsze, lub ściślejsze, nawet w obrębie

jednej komórki. Należy zaznaczyć, że jako triwalenty notowane były tylko te grupy, w których dały się rozróżnić materjalne powiązania pomiędzy trzema chromozomami, widoczne po dobrem utrwaleniu w postaci delikatnych niteczek.

Tworzenie triwalentów warunkuje bardziej prawidłowy rozdział na bieguny chromozomów nadliczbowych. W anafazie dają się często zauważyć w pobliżu biegunów pary, pochodzące z podziału triwalentów (Fig. 8b). Co się zaś tyczy uniwalentów, to przypuszczalnie i niektóre z nich mogą być pociągnięte ku biegunom w anafazie, jeśli leżą pomiędzy nićmi wrzeciona. Być może, że i chromozomy, znajdujące się w plazmie poza obrębem wrzeciona w pobliżu biegunów, mogą być niekiedy włączone w jądra potomne w telofazie.

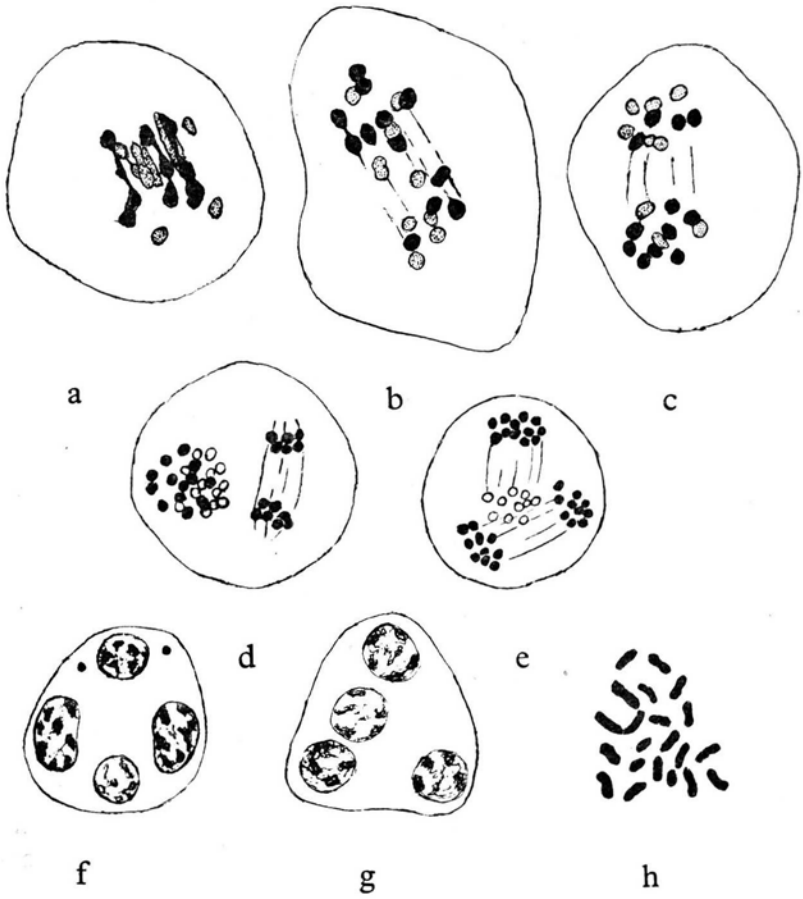

Fig. 8.

Przemawia za tem szczegół, że liczba chromozomów pozostałych w plazmie w telofazie jest niższa, niż liczba uniwalentów, w metafazie. W metafazie bowiem przeciętna liczba uniwalentów przypadająca na jedną komórkę, wynosi 2,96, natomiast w telofazie liczba chromozomów pozostałych w plazmie wynosi przeciętnie tylko 1.

W telofazie I (Fig. 8c) liczby chromozomów były ustalone w 85 komórkach, czyli na 170 biegunach. Dane te zestawione są na tabeli 2 wraz z wyliczonemi procentami, oraz oczekiwanemi liczbami teoretycznemi. Poniżej zestawiona jest frekwencja wyrzuconych chromozomów w tych samych 85 komórkach. Liczby chromozomów na biegunach tworzą szereg ciągły od 7 do 14, przyczem liczby aneuploidalne 10 i 11 reprezentowane tu są najczęściej. Porównanie z liczbami teoretycznemi pozwala wnosić, że chromozomy rozdzielane są na bieguny grą przypadku. Odchylenia od liczb teoretycznych są konsekwencją eliminacji części uniwalentów, dzięki czemu powstaje deficyt w klasach o liczbach chromozomów 11 — 13 na korzyść klas o liczbach niższych. Nadwyżka dotyczy zwłaszcza klas o 7 i 8 chromozomach. Naogół najrzadziej reprezentowane są liczby chromozomów euploidalne 14 i 7 oraz zbliżone do nich. Odchylenie od liczb teoretycznych u triploida *Aquilegia* są stosunkowo nieznaczne w porównaniu z temi, jakie notowane były przez niektórych badaczów. Skovsted (31) znajduje u triploidalnego mieszańca *Gossypium* w II metafazie znaczny deficyt w trzech klasach środkowych, a lekką nadwyżkę w klasach pozostałych, co prowadzi do pewnego rozpłaszczenia wykresu. King (11) przeciwnie stwierdził u triploidalnej *Tradescantia* w komórkach, które nie posiadały wyrzuconych chromozomów, wyraźny deficyt na krańcach skali wahań, a wydatny nadmiar w klasie środkowej.

Po krótkotrwałej interkinezie następuje podział homeotypowy, który ma naogół przebieg prawidłowy, W większości przypadków w anatelofazie homeotypowej w obrębie komórki macierzystej widoczne są cztery płytki o liczbach chromozomów w przybliżeniu jednakowych, a więc, dwie po 10 i dwie po 11 chromozomów (Fig. 8e), lub po 11 i 9 przy jednym chromozomie wyrzuconym podczas podziału redukcyjnego, i t. d. Prowadzi to do uformowania tetrad o wyglądzie mniej więcej normalnym t. j. złożonych z czterech komórek o roz-

TAB. I.

Konfiguracja chromozomów w metafazie heterotypowej.

Configuration des chromosomes à la métaphase hetérotypique.

Liczba elementów. Nombre total d'éléments:	14	13	12	11	10	9	8	7	
Sposób powiązania. Arrangement des chromosomes:	$^{7}_{II}+^{7}_{I}$	$^{1}_{III}+^{6}_{II}+^{6}_{I}$	$^{2}_{III}+^{5}_{II}+^{5}_{I}$	$^{3}_{III}+^{4}_{II}+^{4}_{I}$	$^{4}_{III}+^{3}_{II}+^{3}_{I}$	$^{5}_{III}+^{2}_{II}+^{2}_{I}$	$^{6}_{III}+^{1}_{II}+^{1}_{I}$	$^{7}_{III}$	Razem komórek. Nombre total des celules
Liczba komórek. Nombre des cellules:	1	3	16	19	41	23	12	5	120

miarach jąder mniej więcej jednakowych. (Fig. 8 g). Znaczniejsze różnice, mające źródło w liczbie chromozomów, dają się obserwować rzadziej. Na fig. 8 d. przedstawiona jest druga anatelofaza, w której jedno z wrzecion posiada 7 a drugie 13 chromozomów. Z takiej komórki powstałaby zatem tetrada, podobna do przedstawionej na fig 8 f, gdzie dwa większe jądra są wspólnego pochodzenia i posiadają większą liczbę chromozomów, niż oba mniejsze.

TAB. II.

Telofaza heterotypowa. Télophase hétérotypique.

	Liczby chromozomów na biegunach. Nombre des chromosomes aux pôles.								
	7	8	9	10	11	12	13	14	Razem Total
Frekwencja Fréquence	10	20	28	47	43	13	7	2	170 85 kom. 85 cel.
Procent Pourcentage	5,9	11,8	16,4	27,7	25,3	7,6	4,1	1,17	
Teoretycznie Théoriquement	0,78	5.47	16,41	27,34	27,34	16,41	5,47	0,78	
	Liczby chromozomów w cytoplazmie. Nombre des chromosomes dans le cytoplasme.								
	0	1	2	3	4	5	6	7	Razem Total
Liczba komórek Nombre des cellules	37	24	15	7	1	—	1	—	85 kom. 85 cel,

WYNIKI SAMOZAPYLENIA I KRZYŻOWANIA.

Dojrzały pyłek zawiera około 75% ziarn płodnych, które wykazują znaczne wahania wielkości. Skala wahań ich wynosi od 21 μ — do 42 μ; wymiary mniejszych ziarn odpowiadają haploidalnym ziarnom *A. flabellata* (Tabela III) większe zaś dorównywują wielkością diploidalnym ziarnom siostrzanej rośliny tetraploidalnej. Ponieważ u triploida Nr. 1/14 wymiary ziarn pyłku przedstawiają szereg ciągły z najwyższą frekwencją w klasach środkowych (od 27 — 33 μ), wydaje się mało prawdopodobne, aby pyłek ten przedstawiał wyłącznie mieszaninę ziarn haplo-

TAB. III.

	Wymiary ziarn pyłku w μ. Dimensions en μ des grains de pollen.						
	21 — 24	— 27	— 30	— 33	— 36	— 39	—42
Aquilegia flabellata	12	9	3	—	—	—	—
Triploid 1/14	3	21	24	22	16	12	3
Tetraploid 1/5	—	—	—	1	12	9	7

idalnych i diploidalnych, w takim przypadku bowiem dawałby on wykres dwuszczytowy. Należy raczej przypuszczać, że wahania wielkości tu obserwowane są równoległe z wahaniami liczby chromozomów w telofazie; licznie reprezentowane wielkości pośrednie odpowiadają zapewne ziarnom o aneuploidalnych liczbach chromozomów.

Orjentacyjne badanie zalążków rozwiniętych kwiatów triploida wykazało, że mniej więcej w 35% zalążków rozwijają się normalne woreczki zarodkowe, około 45% zalążków ma woreczki wykształcone anormalnie, pozostałe 20% zaś nie posiada wogóle woreczka zarodkowego, zapewne wskutek wczesnej degeneracji makrospory. Liczba zalążków w jednym

TAB. IV.

Pochodzenie nasion Origine des semences	Liczba zapylen. Nombre de pollinisations.	Liczba nasion. Nombre des semences.	Liczba nasion w owocu. Nombre de semences par follicule.	Przeciętnie. Moyenne.
Triploid samozapylony Autopollinisation	11	13	0 — 3	1,18
Triploid z zapylenia otwartego Pollinisation ouverte	16	14	0 — 4	0,875
Triploid x A. flabellata	5	2	0 — 2	0,4
Triploid x A. chrysantha	2	1	0 — 1	0,5
Triploid x Tetraploid	1	2	2	2

mieszku u *Aquilegia* wynosi 32 — 35; normalny owoc, złożony z pięciu mieszków wydaje przy pełnej płodności ok. 170 nasion, u triploida zatem, przy płodności 35% zalążków, teoretycznie oczekiwać można 59,5 nasion z owocu, jeśli wszystkie normalne zalążki są istotnie zdolne do rozwoju.

Powyższa tabela IV wykazuje, że produkcja nasion rośliny 1/14 zupełnie nie odpowiada tym oczekiwaniom, bez względu

TAB. V.

Rok Année	Nr. Krzyż. N. du croisement	Rośl. macierz. Plante maternelle	Rośl. ojcowska Plante paternelle	Liczba nasion Nombre de semences	Ogólem Owoców Totalement Follicules	Nasion Semences
1932	20	Diploid F_1 Nr. 1/20	Tripl. Nr. 1/14	27		
	21	„	„	3		
	22	„	„	10		
	23	„	„	12	4	52
1932	42	*Aquilegia flabellata*	„	15		
	43	„	„	27	2	42
1932	69	Tetraploid F_1 Nr. 1/5	„	9		
	70	„	„	9		
	71	„	„	5		
	72	„	„	2	4	25
1933	165	Tetraploidy potomne *) tétraploides (descendance) Nr. N/1	„	31		
	166	„ Nr. N/11	„	4		
	167	„ Nr. N/16	„	20		
	168	„ Nr. 4/4	„	18		
	169	„ Nr. 6/5	„	15		
	170	„ Nr. 6/7	„	6		
	171	„ Nr. 7/3	„	22		
	172	„ Nr, 7/3	„	24	8	140

*) Znaczne różnice w rezultatach krzyżowania z rozmaitemi roślinami potomnemi tetraploida stoją w związku ze słabą płodnością niektórych roślin (N/11, oraz 6/7).

na to, czy nasiona pochodzą z samozapylenia izolowanych kwiatów, z otwartego zapylenia, czy też z krzyżowań z roślinami o płodnym pyłku (diploidami i tetraploidami). Dane zestawione na tej tabeli obejmują pełną produkcję nasion triploida w r. 1932., roku w którym roślina ta wydała poraz pierwszy nieco większą liczbę nasion.

Niezmiernie niska produkcja nasion nie może tu być zadowalająco wyjaśniona słabą płodnością zalążków, a pomimo to nawet przez krzyżowanie z roślinami o całkowicie płodnym zalążku nie udaje się osiągnąć liczby nasion choćby nawet zbliżonej do przewidywanej. Nielicznie rozwijającym się nasionom normalnym i zdolnym do kiełkowania niemal w 100%, towarzyszą stale nasiona zdegenerowane w różnych stadjach rozwojowych, co wskazuje na to, że tylko nieliczne z pośród powstających kombinacyj są zdolne do przeżywania, ogromna większość ich zaś ulega eliminacji.

O tem że pyłek triploida zdolny jest do funkcjonowania, świadczą krzyżowania z diploidami i tetraploidami, jako roślinami macierzystemi. Krzyżowania te dają rezultaty bez porównania lepsze, niż odnośne krzyżowania przeciwne. Unaocznia to zestawienie na tabeli V.

ANALIZA KARJOLOGICZNA POTOMSTWA.

Opierając się na wynikach badania pyłku rośliny triploidalnej, możnaby teoretycznie przewidywać zjawienie się w potomstwie typów karjologicznych, dających szereg ciągły od diploidów poprzez liczne typy aneuploidalne aż do tetraploidów. Już obserwacje innych autorów (17) jednak wykazały wyraźną rozbieżność pomiędzy przewidywaniami teoretycznemi, opartemi na liczbie chromozomów komórek rozrodczych, a otrzymanemi rezultatami. W większości opisanych przypadków potomstwo triploidów wykazuje zbliżenie do liczb diploidalnych. Rozbieżność pomiędzy teoretycznemi przewidywaniami, a wynikami występuje i w potomstwie triploida 1/14, i nawet w formie bardzo jaskrawej, jednak w porównaniu z większością opisanych przypadków dają się skonstatować wyraźne różnice. Zamiast spodziewanego szeregu ciagłego z najwyższą frekwencją w klasach środkowych, a najniższą na krańcach skali wahań, lub — obserwowanego gdzieindziej — nawrotu ku typowi diploidalnemu, znajdujemy zgrupowanie ty-

pów karjologicznych niemal wyłącznie w klasach na obu krańcach. Potomstwo pochodzące z samozapylenia rozbite jest na dwie odrębne grupy: pierwsza, mniej liczna, złożona jest z organizmów, posiadających od 14 do 17 ($2n + 3$) chromozomów; druga, liczniejsza składa się wyłącznie z roślin tetraploidalnych. Natomiast klasy, odpowiadające zygotom od 18 do 27 chromozomów, nie posiadają wogóle frekwentów. (Tabela VI). Wysuwa się zagadnienie, jak dają się interpretować

TAB. VI.

Typy karjologiczne potomstwa triploida
(Types caryologiques de la descendance de la plante triploide).

	Liczby chromozomów (Nombres de chromosomes)															Ogółem roślin (Nombre de plantes)
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
Triploid samozapylony (Autopollinisation)	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	12
Zapylenie otwarte (Pollinisation ouverte)	6	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	14
Triploid x Aquilegia flabellata	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Triploid x Aquilegia chrysantha	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Triploid x Tetraploid	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2

otrzymane wyniki, mianowicie jaka jest przyczyna niewystępowania owych typów karjologicznych o pośrednich liczbach chromozomów. Na zasadzie analizy karjologicznej potomstwa daje się ustalić, że w wytworzeniu typów znalezionych brały udział tylko gamety o następujących liczbach chromozomów: n (= 7), $n + 1$ (= 8) i $n + 2$ (= 9), ewentualnie i $n + 3$ (= 10), oraz $2n$ (= 14). Zachodzi tu zatem przypuszczalnie eliminacja pewnych typów gamet. Zpośród ziarn pyłku o różnych liczbach chromozomów niewątpliwie ziarna o liczbach euploidalnych 7 i 14 oraz słabo się od nich odchylające obdarzone są największą energją kiełkowania. Prowadzi to do selekcji gamet męskich, najbardziej zdolnych do funkcjonowania. Być może że

analogicznie również w zalążkach odbywa się częściowa eliminacja typów aneuploidalnych podczas rozwoju gametofitu.

Odpowiedź na pytanie, które gamety żeńskie okazują się zdolne do funkcjonowania, daje nietylko wynik samozapylenia, ale również krzyżowania z diploidami (*A. flabellata* i *A. chrysantha*), oraz z tetraploidem siostrzanym. Przy krzyżowaniu z typami diploidalnemi rozwijają się organizmy o 14, względnie o 15 chromozomach, co pozwala stwierdzić, że w tym przypadku funkcjonowały tylko siedmio i ośmio-chromozomowe komórki jajowe. Natomiast krzyżowanie z tetraploidem prowadzi do rozwoju wyłącznie organizmów tetraploidalnych, w powstawaniu ich zatem brały udział tylko gamety żeńskie $2n$. Brak zygot o liczbach pośrednich, które z tych samych funkcjonujących gamet mogłyby zostać wytworzone, nie daje się wyjaśnić eliminacją gamet. Zdolne do funkcjonowania komórki rozrodcze męskie i żeńskie o liczbach chromozomów n, $n+1$, $n+2$, $n+3$, oraz $2n$, mogłyby wytworzyć nietylko otrzymane faktycznie kombinacje chromozomów $2n$, $2n+1$, $2n+2$, $2n+3$, oraz $4n$, ale również i inne, które tu się nie pojawiają. Tak np. nieobecny jest w potomstwie triploida typ $3n$ który mógłby powstać naskutek połączenia gamet o liczbie chromozomów $2n$ i n; ten typ jest, jak stwierdziłam poprzednio, zdolny do przeżywania tylko w rzadkich przypadkach (30).

Analizując szczegółowo dane zestawione na tabeli VI można stwierdzić, że wszystkie organizmy, które posiadają zdolność rozwoju, (nie wyłączając drugiego szeregu poziomego, gdzie przy zapyleniu otwartem nieznana jest roślina ojcowska, biorąca udział w wytworzeniu danych zygot), powstały z połączenia gamet o mniej więcej jednakowej liczbie chromozomów. Najjaskrawiej występuje to zjawisko po krzyżowaniu triploida z diploidami i tetraploidem. Jak zaznaczyłam wyżej, w pierwszym przypadku okazują się zdolne do normalnego rozwoju gamety żeńskie haploidalne, ewentualnie z jednym nadliczbowym chromozomem, w drugim zaś — wyłącznie gamety diploidalne. Rezultaty otrzymane dowodzą, że niektóre zpośród wytworzonych kombinacyj okazują się niezdolne do rozwoju; zamierają one w różnych stadjach, dając zdegenerowane nasiona. Odbywa się tu zatem eliminacja zygot, i w konsekwencji następuje selektywny rozwój tylko niektórych powstałych kombinacyj. W związku z otrzymanemi rezultatami na-

leży zaznaczyć, że analogiczne zjawiska przeżywania typów, które powstały z połączenia gamet o mniej więcej jednakowych liczbach chromozomów, obserwowane już były kilkakrotnie; Kihara, Wakakuwa i Yamamoto (10), Newton i Pellew (20), van Overeem (21); dotyczą one jednak wyników krzyżowań, a nie samozapylenia. Rezultaty otrzymane w potomstwie triploidalnej *Aquilegia*, przemawiają zatem na korzyść poglądu, że niska płodność tej rośliny uwarunkowana jest nietylko eliminacją pewnych typów gamet, ale i selekcją zdolnych do przeżywania zygot. Na selekcję zygotyczną kładzie nacisk Müntzing (19), opierając się na wynikach doświadczeń szeregu autorów, dotyczących krzyżowań roślin o różnych liczbach chromozomów. Müntzing podnosi fakt, że rozwój nasienia ulega często zakłóceniu, jeśli dana zygota powstała z połączenia gamet, różniących się znacznie liczbą chromozomów (str. 42), najżywotniejsze zygoty zaś są wytwarzane przez gamety, posiadające tę samą liczbę chromozomów. Na przykładzie triploida *Aquilegia* pogląd Müntzinga zostaje potwierdzony nietylko na drodze krzyżowań z innemi typami, ale samozapylenia — łączenia różnych typów gamet, wytworzonych przez jedną i tę samą roślinę i rozwoju zygot na podłożu tej samej rośliny macierzystej.

Z kolei należy poświęcić nieco uwagi rezultatom krzyżowań, w których triploid $^1/_{14}$ użyty był jako roślina ojcowska, roślinami macierzystemi zaś były diploidy, oraz tetraploid siostrzany. W krzyżowaniach pierwszego typu liczby chromozomów wszystkich zbadanych dotąd roślin zbliżały się do diploidalnych. Natomiast w rezultacie krzyżowań z tetraploidem otrzymane wyłącznie tetraploidalne potomstwo.

Rezultaty powyższe dają się wyjaśnić w podobny sposób, jak w serji doświadczeń omówionych poprzednio, mianowicie eliminacją pewnych typów gamet i zygot. Przy krzyżowaniach typu Diploid $\times$ Triploid, z różnych ziarn, zawartych w pyłku triploida, kiełkują najlepiej na tkance słupka diploidalnych roślin macierzystych ziarna o liczbie chromozomów 7 lub słabo się od niej odchylającej. Natomiast ziarna diploidalne kiełkują słabiej i powolniej na tym nieodpowiednim dla siebie podłożu, gdyż stosunek liczby chromozomów łagiewki i tkanki słupka, wynoszący normalnie 1:2, zmieniony jest tu na 1:1. Zatem zapylenie nadmiarem pyłku i przewaga funkcjo-

nalna łagiewek *n*, lub posiadających niewielką ilość dodatkowych chromozomów, zwiększa szanse występowania zygot diploidalnych i hyperdiploidalnych w potomstwie, jednak ten mechanizm eliminacji gamet nie wyklucza całkowicie możliwści powstawania niezdolnych do przeżywania kombinacyj; część zygot ulega tu eliminacji we wczesnych stadjach rozwoju.

Przy krzyżowaniach typu Tetraploid × Triploid również selekcja gamet i zygot wpływa na budowę karjologiczną zdolnego do przeżywania potomstwa. Eliminacji ulegają tu przypuszczalnie gamety męskie aneuploidalne. Najlepsze warunki rozwoju posiadają w tym przypadku zawarte w pyłku triploida ziarna diploidalne, i te przedewszystkiem zdolne są do funkcjonowania, dzięki czemu, po zapłodnieniu powstają zdolne do normalnego rozwoju zygoty $4n$. Ziarna pyłku haploidalne wprawdzie również posiadają możność kiełkowania na znamieniu tetraploidów, a nawet jak to wykazałam poprzednio (30) mogą dokonać zapłodnienia, jednakże wytworzone przy ich współudziale zygoty $3n$ w większości przypadków okazują się niezdolne do przeżywania, i wcześnie zamierając, dają zdegenerowane nasiona.

Z czterech krzyżowań, uskutecznionych w r. 1932, otrzymano w sumie 25 nasion, z których tylko 12 wykiełkowało. Zachodzi tu więc eliminacja zygot i w późniejszych nieco stadjach. Wszystkie otrzymane z tych krzyżowań rośliny zostały zbadane cytologicznie; okazały się one bez wyjątku wszystkie tetraploidami. O tem, że istotnie pochodziły z krzyżowań a nie z przypadkowego samozapylenia, świadczą długie cienkie ostrogi ich kwiatów — cecha charakterystyczna triploida (Por. fig. 5*a* i *c*).

Krzyżowania tetraploidów z triploidem $^1/_{14}$ były powtórzone na szerszą skalę w r. 1933, przyczem roślinami macierzystemi było siedem potomnych roślin tetraploida $^1/_5$. Część otrzymanych nasion została wysiana wiosną w r. 1934. Rośliny są obecnie w stadjum rozety liściowej, zakwitną zaś poraz pierwszy w r. 1935. Badanie cytologiczne ich nie zostało jeszcze uskutecznione.

W literaturze dane dotyczące potomstwa triploidów z samozapylenia są naogół dość skąpe. Stoi to w związku z fak-

tem, że w wielu przypadkach organizmy triploidalne okazywały sie całkowicie bezpłodne (*Drosera rotundifolia* × × *D. longifolia* (24, 25), triploidalne mieszańce pszenic (9), *Nicotiana tabacum* × *N. glutinosa* (4). *Gossypium* (31), *Solanum lycopersicum* (13) *Zea Mays* (15) i in. Niekiedy triploidy posiadają pewien stopień płodności i wówczas w potomstwie dają przewagę osobników o liczbach chromozomów zbliżonych do diploidalnych. Pojawianie się organizmów tetraploidalnych w potomstwie triploidów jest zjawiskiem rzadkiem. Z nowszych prac, dotyczących potomstwa triploidów z samozapylenia, a opartych na obszerniejszym cytologicznie opracowanym materjale, należy wymienić pracę Hollingshaed (7) nad potomstwem triploida *Crepis capillaris* ($n = 3$) × *C. tectorum* ($n = 4$). Triploid posiada 10 chromozomów. Potomstwo jego pochodzące z samozapylenia obejmuje 101 roślin, z których aż 59 posiada diploidalną liczbę chromozomów *C. capillaris*, pozostałe zaś tworzą szereg ciągły typów od 7 do 14 chromozomów, przyczem liczba 10, odpowiadająca triploidalnej, reprezentowana jest dość licznie (12 roślin), natomiast liczba tetraploidalna 14 — tylko przez jedną roślinę. Pomimo wyraźnej przewagi typu diploidalnego, wywołanej niewątpliwie procesem eliminacji, typy z wszystkiemi liczbami chromozomów od $2n$ do $4n$ okazują się tu zdolne do przeżywania. O pojawieniu się tetraploida w potomstwie triploidalnego mieszańca *Crepis* mówi Darlington (1932, str. 175): „The reason why a tetraploid has arisen in this way in Crepis and not elsewhere[1]) is that only where the chromosome number is small will the triploid produce a moderate proportion of gametes having all the extra chromosomes, owing to their being distributed at random at meiosis“. Rozumowanie to, choć w zasadzie słuszne, nie uwzględnia roli selekcji określonych typów gamet i zygot, dzięki której szanse pojawienia się w potomstwie pewnych typów karjologicznych mogą zostać wydatnie zwiększone.

Drugim przykładem z najnowszej literatury, dotyczącym wystąpienia tetraploidów w potomstwie triploida, jest opisane przez Davisa (6) potomstwo triploidalnej *Oenothera franciscana* (1933). Potomstwo pochodzące z samozapylenia składało się z 42 typowych roślin *Oe. franciscana*, 44 różnych roślin

---

[1]) Podkreślenie moje.

karłowatych o mniej lub więcej zakłóconym rozwoju, oraz trzech tetraploidów. Nadto liczne rośliny zginęły we wczesnych stadjach rozwoju. Podobnie jak w potomstwie triploida *Crepis*, i tutaj najliczniej występują typy diploidalne. Niestety autor nie podaje liczb chromozomów roślin karłowatych, wysuwając tylko przypuszczenie, że przedstawiają one typy aneuploidalne (str. 304). Jeśli przypuszczenie to jest słuszne, potomstwo triploida *Oenothera franciscana* wykazuje pewne podobieństwo do omawianego potomstwa triploida *Aquilegia* (Por. rozdział „Morfologja potomstwa triploida"). Zasługują tu jednak na podkreślenie znaczne różnice. W opisanym przezemnie przypadku płodność jest znacznie niższa i tem samem eliminacja różnych typów wyraźniej zaznaczona. U *Aquilegia* ujawnia się nadto wmożona żywotność gamet diploidalnych zarówno męskich jak i żeńskich zdolnych do funkcjonowania. Te dwa czynniki współdziałają przy pojawieniu się w potomstwie tetraploidów w dużej ilości — stosunkowo znacznie większej, niż w obu przypadkach omawianych (*Crepis:* 1 tetraploid na 101 roślin potomnych; *Oenothera:* 3 tetraploidy na 89 roślin potomnych; *Aquilegia:* 8 tetraploidów na 12 roślin potomnych). Porównanie tych liczb wykazuje, że pojawienie się tetraploidów w potomstwie triploida jest możliwe wbrew twierdzeniu Darlingtona również u roślin o nieco wyższej liczbie chromozomów, jeśli zachodzi eliminacja gamet i zygot i w jej konsekwencji następuje selektywny rozwój zdolny do przeżywania typów.

O żywotności diploidalnych ziarn pyłku triploida *Aquilegia* świadczy nietylko szczegół, że posiadają one zdolność kiełkowania w tkance słupka o 21 chromozomach, ale również, że są zdolne do funkcjonowania w krzyżowaniach typu tetraploid x triploid. Jak wiemy z literatury, krzyżowania tego typu niezawsze się udają. Tak np. Karpechenko (8) podaje, że krzyżowania triploidów z tetraploidami *Raphanobrassica* nigdy nie doprowadziły w jego doświadczeniach do zawiązania nasion, bez względu na kierunek krzyżowania.

MORFOLOGJA POTOMSTWA TRIPLOIDA

Poniżej podaję opis bardziej charakterystycznych roślin które wystąpiły w potomstwie triploida. Należy zaznaczyć, że kiełkowanie ich odbywało się na bibule filtrowej, po wykieł-

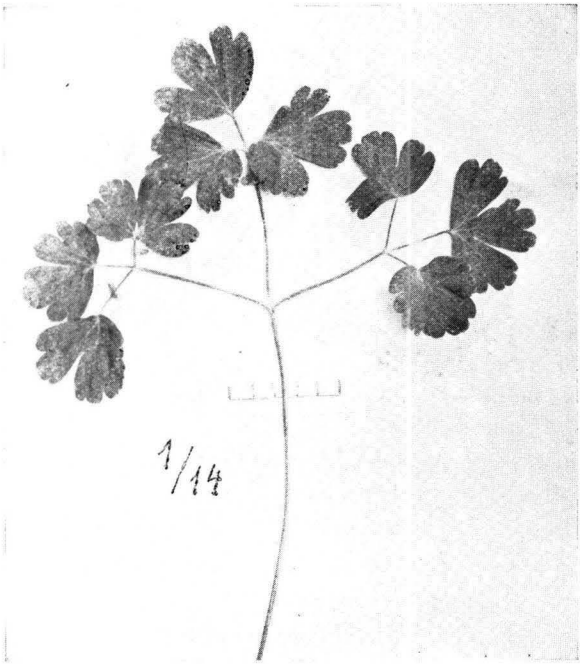

Fig. 9.

kowaniu każda roślina była pikowana do oddzielnej doniczki z indywidualnym numerem, co umożliwiało prowadzenie dokładnych obserwacyj każdego osobnika. Już we wczesnych stadjach rozwojowych zaznaczyły się wyraźne różnice pomiędzy roślinami pochodzącemi z samozapylenia. Tworzyły one jakby dwie odrębne grupy, z których pierwsza obejmowała rośliny szybko i bujnie rosnące, druga zaś — rośliny drobniejsze, mniej lub więcej opóźniające się w rozwoju, niekiedy anormalne. Niektóre z tych roślin zostały utrzymane przy życiu jedynie dzięki specjalnej pieczy, jaką były otaczane; były to przeważnie typy aneuploidalne, podczas gdy rośliny należące do grupy pierwszej były wyłącznie tetraploidami.

Roślin z samozapylenia otrzymano ogółem 13 z 13 nasion. Dwanaście roślin okazało się zdolnych do przeżycia, jedna zaś zdegenerowała.

Rośliny tetraploidalne odnośnie do cech morfologicznych nie stanowiły jednolitej grupy, lecz, jak można było przewidywać, przedstawiały różne — jakościowo i ilościowo — kombinacje genów obu gatunków krzyżowanych. Jednakże udział

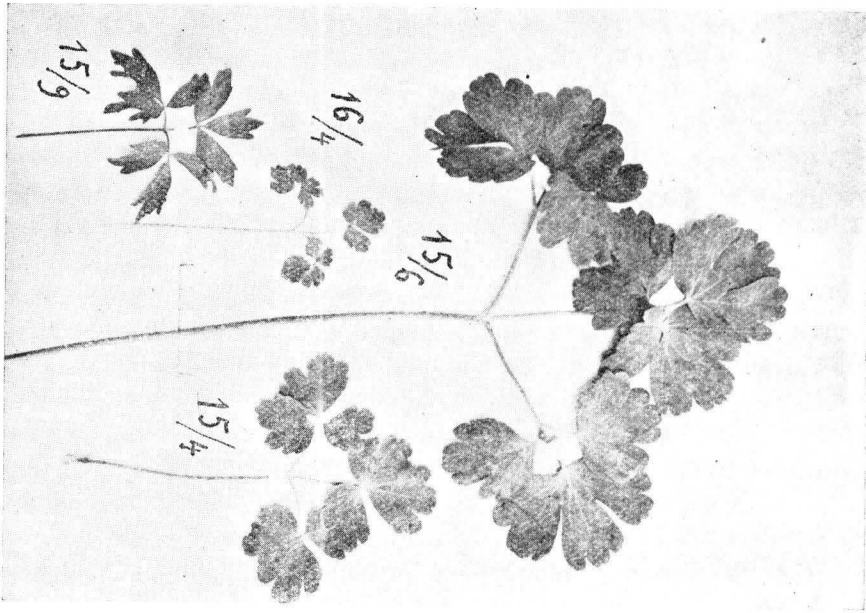

Fig. 10.

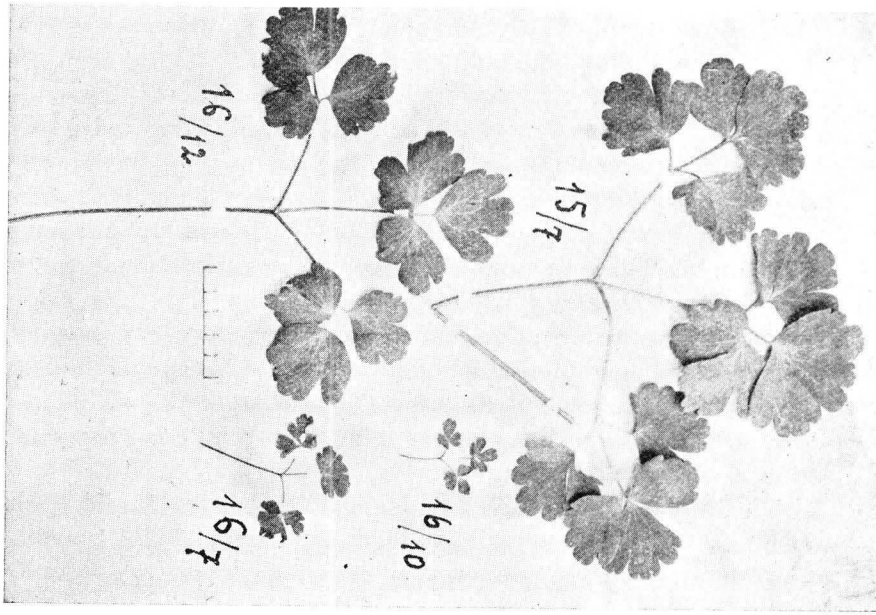

Fig. 11.

Aquilegia chrysantha jest w tych roślinach silnie zaznaczony, co jest zrozumiałe wobec struktury cytologicznej triploida.

Roślina 15/1. Średnio bujna o pokroju wysmukłym; wysokość pędu kwitnącego wynosi 70 cm. Antocjan obecny w częściach wegetatywnych i w kwiatach. Kwiaty duże (ok. 7 cm. średnicy), o ostrogach średniej długości, zagiętych. Działki i ostrogi zawierają antocjan barwy blado różowej, oraz żółte chromoplasty, lamina jaskrawo żółte. Jest to typ barwny, który nie został skonstruowany w rozszczepieniu potomstwa tetraploidalnej rośliny siostrzanej 1/5, wszystkie bowiem rośliny, zawierające antocjan, posiadały barwę kwiatów niebieską. Pyłek płodny tylko w 30% z wahaniami wielkości ziarn z treścią żywą od 34—40μ. Płodność nasion średnia. 28 chromozomów.

Roślina 15/6. Najbujniejsza ze wszystkich roślin tetraploidalnych, o wielkiej rozecie liściowej (por. liść — fig. 10), i licznych pędach kwiatowych; niższa od poprzedniej, posiada 65 cm. wysokości. Zawiera antocjan w częściach wegetatywnych i w kwiatach. Kwiaty duże, średnicy ok. 7 cm., o cienkich ostrogach średniej długości, zagiętych na końcach; działki i ostrogi barwy ciemno-fioletowej, lamina żółte (Fig. 13 c). Pyłek płodny conajmniej w 75% z wahaniami ziarn normalnych od 32 — 40μ. Płodność nasion wysoka; owoce otrzymane z samozapylenia, oraz z krzyżowań z tetraploidami potomstwa rośliny 1/5, były wielkie, dobrze rozwinięte i zawierały liczne nasiona (Fig. 14, rząd dolny, pierwszy mieszek). Natomiast krzyżowanie z diploidami (*A. chrysantha* oraz mieszańcami diploidalnemi F_2), dawało wyniki ujemne. 28 chromozomów.

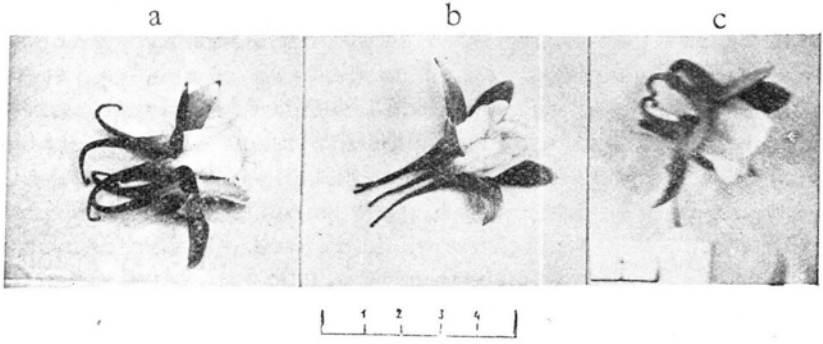

Fig. 12.

Roślina 15/7. Bujna, bardzo wysoka (90 cm.) o pokroju wysmukłym. (Liść — fig. 11). Zawiera antocjan w częściach wegetatywnych i w kwiatach. Kwiaty duże (ok. 6 cm. średnicy) o długich, cienkich, zazwyczaj prostych ostrogach (Fig. 13a). Barwa ostróg i działek blado-lawendowo-niebieska z jaskrawo żółtemi lamina, podobnie jak u triploidalnej rośliny macierzystej. Pyłek płodny mniej więcej w 80% z wahaniami wielkości ziarn normalnych od 34 — 40μ. Płodność nasion wysoka, mieszki z samozapylenia i z krzyżowania z tetraploidami potomnemi rośliny 1/5, wielkie, dobrze rozwinięte z licznemi nasionami (Fig. 14, rząd dolny, czwarty mieszek). Natomiast krzyżowanie z *Aquilegia flabellata* dało wynik ujemny. 28 chromozomów.

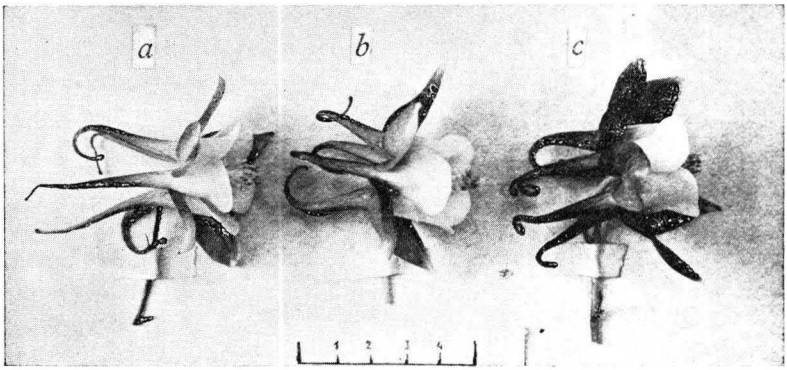

Fig. 13.

Roślina 15/4. Od pierwszych stadjów rozwojowych wykazywała pewne opóźnienie rozwoju. Rozeta liściowa mała, liść — Fig. 10), pędy kwiatowe niskie (25 cm.). Posiada antocjan w częściach wegetatywnych i w kwiatach. Kwiaty mniejsze (ok. 4,5 cm.) o wąskich działkach i cienkich prostych ostrogach (Fig. 12b), barwy blado-lawendowo-niebieskiej z kremowo-żółtemi lamina. Pyłek płodny tylko o 20% z bardzo znacznemi wahaniami wielkości (od 26,6 — 40μ), co pozwala przypuszczać, że w mejozach zachodzą nieprawidłowości, prowadzące do powstania ziarn diploidalnych. Płodność nasion bardzo niska. Owoce małe (Fig. 14, rząd dolny, drugi mieszek). Liczba chromozomów wynosi ok. 17.

Roślina 15/10. Po wykiełkowaniu wykształciła tylko

jeden maleńki (1 cm.) blado-zielony listek nietypowego kształtu, poczem uległa zahamowaniu w dalszym rozwoju; w osiągniętem stadjum przetrwała ona przez miesiąc, a następnie rozpoczął się proces jej stopniowego zamierania. Liczby jej chromozomów nie dało się ustalić.

Roślina 15/9 posiada anormalny rozwój i wzrost silnie zahamowany. Kształt liści jest nietypowy (Fig 10.). Roślina ta nie zakwitła w drugim roku wegetacji. Została ona utrzymana przy życiu tylko dzięki specjalnej pieczy. Posiada 15 tek chromozomów.

Zpośród aberantów chromozomowych, powstałych naskutek otwartego zapylenia, zasługują na uwagę:

Roślina 16/4, o małej rozecie liściowej (Fig. 10), niska (25 cm.). Antocjanu brak w częściach wegetatywnych i w kwiatach. Kwiaty drobne, białe. Pyłek płodny zaledwie w 25% z wahaniami ziarn normalnych od 24 — 37μ. Prawie całkowicie bezpłodna, o drobnych owockach (Fig. 14. Rz. dolny, trzeci mieszek) 15 chromozomów.

Roślina 16/7. Rozeta liściowa bardzo mała (ok. 8 cm. średnicy), o drobnych listeczkach, głęboko wycinanych (Fig. 11). Zawiera antocjan tylko w częściach wegetatywnych. Roślina ta wykształciła tylko jeden słabo rozgałęziony pęd kwiatowy, wysokości 25 cm. Kwiaty żółte, drobne. Bezpłodna. 15 chromozomów.

Roślina 16/10, podobna do poprzedniej, lecz jeszcze drobniejsza (Fig. 11). Wysokość pędu kwiatowego — 20 cm. Kwiaty żółte drobne. Bezpłodna. 15 chromozomów.

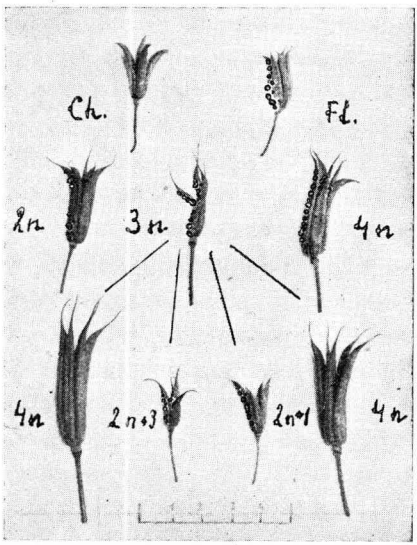

Fig. 14.

Wszystkie te trzy rośliny zostały z wielkim trudem utrzymane przy życiu, gdyż w pierwszych stadjach rozwojowych wykazywały wzrost wyraźnie opóźniony. Dające się obserwować zakłócenia rozwoju dowodzą, że proces elimi-

nacji pewnych zygot może rozciągać się również na późniejsze stadja ontogenezy.

ZNACZENIE POWSTAŁYCH TYPÓW POLIPLOIDALNYCH DLA EWOLUCJI.

Powstawanie tetraploidów przez podwojenie liczby chromozomów mieszańców było w ciągu ubiegłego dziesięciolecia obserwowane wielokrotnie w doświadczeniach (por. zestawienie u Winge'go (33), Poole (22, 23), Darlingtona (5). *Aquilegia* przedstawia przypadek stosunkowo rzadki, w którym tetraploidy powstały z typu diploidalnego w dwóch etapach, z których pierwszym było osiągnięcie triploidalnej liczby chromozomów.

Sposób ich powstania pozwala przypuszczać u tych organizmów wysoki stopień heterozygotyczności, w przeciwieństwie do „amphidiploidów", posiadających podwojone kompleksy chromozomów obu typów rodzicielskich. Powstałe z triploida organizmy tetraploidalne wykazują, pomimo różnic w poszczególnych cechach, znaczny stopień podobieństwa morfologicznego, różnią się natomiast wybitnie od potomstwa tetraploida, powstałego przez somatyczne podwojenie chromozomów w F_1. (Fig. 5-c). Należy jednak zaznaczyć, że te wyraźne różnice pomiędzy obiema grupami tetraploidów różnego pochodzenia, genetycznie dają się zdefinjować, jako różne ugrupowanie genów tych samych dwóch gatunków wyjściowych.

Haploidalna liczba chromozomów wszystkich badanych dotąd gatunków rodzaju *Aquilegia* wynosi 7 (2, 12, 28, 32). Rodzaj ten zatem nie wykazuje zróżnicowania cytologicznego; w związku z tem poszczególne gatunki, nawet należące do różnych sekcyj w obrębie rodzaju, łatwo krzyżują się ze sobą (1, 27, 30). Pojawienie się dwiema różnemi drogami tetraploidów, które z uwagi na znaczne różnice morfologiczne niewątpliwie mogą być traktowane jako dwie odrębne grupy gatunkowe, zmienia charakter rodzaju; niweczy jego jednolitość cytologiczną, a jednocześnie pociąga za sobą niemal całkowitą izolację seksualną nowopowstałych typów karjologicznych (30) nawet w stosunku do gatunków rodzicielskich. Należy jednak zaznaczyć, że

krzyżowania pomiędzy przedstawicielami obu grup tetraploidalnych udają się bez trudności, pomimo wyraźnych różnic morfologicznych. O zdolności krzyżowania zatem nie decyduje tu ani pokrewieństwo, ani podobieństwo morfologiczne, lecz struktura cytologiczna.

Rezultaty niniejsze stoją w związku z wynikami badań Müntzinga nad syntetycznym *Galeopsis Tetrahit* (17, 18). Roślina ta powstała z triploida, który wystąpił w potomstwie mieszańców dwóch gatunków diploidalnych, *G. pubescens* i *G. speciosa*. Triploid, całkowicie bezpłodny po samozapyleniu, rozwinął po skrzyżowaniu z *G. pubescens* — z niezredukowanej komórki jajowej jedyną roślinę potomną — tetraploida identycznego z gatunkiem *Galeopsis Tetrahit*. Doniosłość teoretyczna tego faktu polega na tem, że drogą krzyżowania dwóch gatunków diploidalnych odtworzony został gatunek tetraploidalny już istniejący. Badania Müntzinga zatem rzucają światło na genezę gatunków poliploidalnych. Niezdolność ich krzyżowania z gatunkami diploidalnemi nie może dowodzić braku pokrewieństwa.

W przeciwieństwie jednak do zróżnicowanego cytologicznie rodzaju *Galeopsis*, *Aquilegia* jest rodzajem odnośnie liczby chromozomów jednolitym. Powstałe tetraploidy wychodzą swą budową karjologiczną poza ramy wszystkich znanych gatunków. Zjawienie się ich może więc być traktowane jako etap ewolucyjny rodzaju. Badania niniejsze wykazują więc, jak jednolity cytologicznie rodzaj może osiągnąć pierwsze etapy zróżnicowania poliploidalnego i w konsekwencji zatracić zdolność krzyżowań międzygatunkowych.

LITERATURA.

1) Anderson E. 1931 Amer. Nat., **65** p. 144.
2) Anderson E. and Schafer B. 1931 Annals of Botany, **45** p. 639.
3) Belling J. and Blakeslee A. F. 1923. Proc. Nat. Acad. Sc. **9**, p. 106.
4) Clausen R. E. and Goodspeed T. H. 1925. Genetics, **10**, p. 279.
5) Darlington C. D. London, 1932.
6) Davis B. M. 1933. Genetics, **18**, p. 293.
7) Hollingshead L. 1930. Univ. of Calif. Publ. in Agr. Sc. **6**, p. 55.

8) Karpechenko G. D. 1927. Trudy po prikladnoj botanike, genetike i selekcii. **17**, p. 306.
9) Kihara H., I. H. Kihara und I. Nishiyama. 1930. Cytologia, **1**, p. 263.
10) Kihara, Wakakuwa, Yamamoto. 1933. Japan. Journ. of Bot. **6**, p. 411.
11) King E. 1933. Journ. of Heredity, **24**, p. 253.
12) Langlet O. 1927. Svensk. Bot. Tidskr. **21**, p. 1.
13) Lesley J. W. 1928. Genetics, **13**, p. 1.
14) Mann-Lesley M. 1926. Genetics, **11**, p. 267.
15) McClintock B. 1929. Genetics, **14**, p. 180.
16) Müntzing A. 1930. Hereditas, **13**, p. 185.
17) — 1930. Hereditas, **14**, p. 153.
18) — 1932. Hereditas, **16**, p. 105.
19) — 1933. Hereditas, **18**, p. 33.
20) Newton W. C. F. and Pellew C. 1929. Journ. of Genetics, **20**, p. 405.
21) Overeem C. van. 1921. Beihefte Bot. Centr. **38**, p. 73.
22) Poole C. F. 1932. Univ. of Calif. Publ. of Agr. Sc. **6**, p. 231.
23) — 1933. Amer. Nat. **47**, p. 1.
24) Rosenberg O. 1903. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. **21**, p. 110.
25) — 1904. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. **22**, p. 47.
26) Skalińska M. 1928. Acta Soc. Bot. Pol. **5**, p. 141.
27) — 1929. Acta Soc. Bot. Pol. **6**, p. 138.
28) — 1931. Report of proceedings. Fifth Int. Bot. Congr. Cambridge, p. 250.
29) — 1932. Proc. of the Sixth Int. Congr. of Genetics, **2** p. 185.
30) — 1933. C. R. de la Soc. de Biol., **115**, p. 651.
31) Skovsted A. 1933. Annals of Botany. **47**, p. 227.
32) Winge Ö. 1924. La Cellule. **35**, p. 306.
33) — 1932. Svensk. Bot. Tidskr., **26**, p. 107.

RÉSUMÉ.

Parmi les individus de la première génération d'hybrides entre deux espèces diploïdes: *Aquilegia chrysantha* ($n = 7$) et *A. flabellata nana* ($n = 7$) apparut, à côté d'un tétraploïde que j'ai déja décrit (29) une plante triploïde à nombre somatique de chromosomes = 21. (Fig. 1 h). Cette plante parait spécialement intéressante à cause d'un haut degré de fertilité mâle qui n'est point typique pour un triploïde, unie d'une façon singulière à une production de semences excessivement restreinte. Elle diffère des plantes de la première génération, parfaitement uniforme, par une ressemblance plus accentuée à l'espèce maternelle *A. chrysantha*. Dans les sépales et les éperons des fleurs des hybrides, on trouve une anthocyane

bleu lavande qui se développe par coopération de trois facteurs génétiques, qu'introduisent à l'état latent les formes parentes à fleurs jaunes (*A. chrysantha*) et à fleurs blanches (*A. flabellata nana*) (27). Outre ce pigment on ne trouve que des traces de pigment jaune dans les lames des pétales. Dans les fleurs de la plante triploïde cependant, la coloration jaune des lames des pétales est intense, le pigment jaune se trouve aussi, outre l'anthocyane, dans les éperons et les sépales. Quant à la forme des fleurs, on remarque chez les hybrides diploïdes la prévalence des caractères d'*A. flabellata* (éperons courts et recourbés) sur ceux d'*A. chrysantha* (éperons longs et droits), tandis que les éperons de l'individu triploïde ont une forme et une longueur intermédiaire entre celles des hybrides diploïdes et l'espèce maternelle *A. chrysantha* (Fig. 5 a). Cette prévalence des caractères maternels nous amène à conclure que la plante triploïde est constituée de deux garnitures chromosomiques d'*A. chrysantha* et d'une garniture d'*A. flabellata nana*, donc elle s'est développée évidemment à partir d'une cellule-oeuf diploïde qui fut formée accidentellement par l'espèce *A. chrysantha*.

Les divisions de maturation dans les cellules-mères du pollen présentent certaines particularités, dues au nombre triploïde des chromosomes. Elles amènent cependant à la formation de grains de pollen fertiles pour la plupart. Au stade de la diacinèse tardive on constate fréquemment la présence simultanée de bivalents, d'univalents et de trivalents. Ces derniers sont particulièrement distincts à la métaphase (Tableau I du texte polonais). La métaphase présente, vue de profil, un aspect caractéristique: les trivalents, fortement allongés, ainsi que les bivalents, sont groupés le long de l'axe du fuseau, quelques univalents restent entre eux, ou bien ils sont rejetés vers les pôles (Fig. 1 a). La formation des trivalent est un detail qui conditionne une distribution plus régulière des chromosomes surnuméraires qui en consequence de la conjugaison, passent aux pôles. Il semble cependant que les élements non appariés demeurés dans le fuseau peuvent aussi être parfois entrainés vers les pôles et être inclus dans les noyaux à la télophase hétérotypique, car le nombre des chromosomes restés dans le cytoplasme est inférieur à celui des univalents à la métaphase. Le compte des chromosomes à la télophase (Fig. 1 c) permet d'établir

qu'ils sont distribués au hasard, leurs nombres varient entre 7 et 14, les nombres aneuploïdes 10 et 11 étant les plus fréquents, tandis que les nombres euploïdes 7 ($= n$) et 14 ($= 2n$) ainsi que ceux qui s'en rapprochent, sont rares (Tabl. II). La division homéotypique (Fig. 1 d, e) a une marche régulière, et il n'y a qu'un nombre restreint de grains de pollen qui avortent. La plupart des grains de pollen sont viables, bien qu'ils possèdent des nombres aneuploides de chromosomes; ils varient considérablement quant à leurs dimensions qui donnent toute une série de formes de passage entre les petits grains haploïdes et les grains „géants" (diploïdes) produits par l'individu tétraploïde (Tableau III). Ce pollen se révèle apte à féconder les fleurs des plantes diploïdes et tétraploïdes (Tableau V), alors qu'en conséquence de l'autopollinisation de la plante triploïde, ou bien d'une pollinisation exécutée avec le pollen fertile des espèces parentes et des individus tétraploïdes, on obtient dans les follicules un nombre restreint de semences normales et de plus un nombre considérable de semences avortées (Tableau IV). On observe donc une différence distincte entre la fertilité mâle et femelle de l'hybride triploïde, bien qu'environ 35 p. c. des ovules ont des sacs embryonnaires normaux. La question se pose donc quels sont les types viables dans la descendance de cette plante et quels sont les types de gamètes qui contribuent à les former. Les résultats de l'analyse caryologique de la descendance de la plante triploïde sont groupés (Tableau VI). En nous basant sur le nombre des chromosomes des grains de pollen, nous pourrions en conclure l'apparition d'une série continue des types caryologiques dans la descendance. Cependant les résultats obtenus ont démontré que les individus viables de la descendance se trouvent groupés exclusivement aux extrèmes de l'échelle de variabilité des zygotes, tandis que les types possédant de 18 — 27 chromosomes ne se développent pas en général. Donc, les types viables sont constitués uniquement par les gamètes n, $n + 1$ et $n + 2$ peut-être $n + 3$, ainsi que $2n$. Le fait que ce sont les seuls types de gamètes qui se révèlent aptes à donner des zygotes viables, parle en faveur de la supposition que les gamètes dont le nombre des chromosomes s'éloigne considérablement des nombres euploïdes, se trouvent éliminées pendant la germination du pollen. Cependant les résultats

d'autopollinisation, ainsi que des croisements avec différents types chromosomiques, ont prouvé que de toutes les combinaisons possibles qui peuvent être formées par ces gamètes, il n'y a que quelques-unes qui atteignent la maturité; p. ex. le nombre triploïde est absent, bien qu'il puisse être formé par suite de l'union d'une gamète $2n$ avec une gamète n. On observe aussi le fait intéressant que la plante triploïde croisée avec des espèces diploïdes ne donne que des individus à 14 ou 15 chromosomes, tandis que la même plante croisée avec des individus tétraploïdes produit uniquement des plantes tétraploïdes. Des phénomènes analogues ont été observés par van Overeem (21), Newton et Pellew (20), Kihara, Wakakuwa et Yamamoto (10). Ils parlent en faveur de l'opinion de Müntzing (19) que les plus grandes chances de développement sont données aux zygotes formés à la suite de l'union de deux gamètes à nombre égal de chromosomes. Par contre, le developpement des zygotes provenants de l'union de gamètes qui diffèrent considérablement quant au nombre de chromosomes, se trouve interrompu dans la plupart des cas. Les grandes difficultés d'obtenir des plantes triploïdes artificielles provenant des croisements des individus tétraploïdes et diploïdes d'*Aquilegia* viennent probablement de la même cause (30). Donc une sélection zygotique contribue à éliminer certains types au cours de leur ontogenèse et amène un développement sélectif des types viables. Le cas d'*Aquilegia* démontre très nettement que la même sélection zygotique a lieu après l'autopollinisation en conséquence de l'union de différent types de gamètes produits par la même plante et du développement des zygotes sur la même plante maternelle.

La plupart des types viables, obtenus par autopollinisation, sont des plantes tétraploïdes à très grandes fleurs, vigoureuses et fertiles (v. Fig. 3, 15/6, Fig. 4, 15/7, Fig. 6 et 7). Au contraire les types aneuploïdes sont des plantules faibles à fleurs moindres (Fig. 5 b), à petites feuilles (v. Fig. 3, 15/4, 15/9, 16/4 et Fig. 4, 16/10 et 16/6). La vie de certaines d'entre elles n'a été conservée que grâce à des soins tout particuliers;

pourtant une plante a péri durant les premiers stades de développement. Ainsi donc ceci est une preuve que l'élimination des zygotes peut se produire également aux stades plus tardifs de l'ontogenèse.

La plupart des plantes triploïdes décrites par de nombreux auteurs (p. ex. *Nicotiana tabacum* x *N. glutinosa* (4) *Solanum* (13) *Gossypium* (31) *Zea Mays* (15), se révèlent complètement stériles après l'autopollinisation. Cependant parfois on constate chez les triploïdes un certain degré de fertilité, et dans ces cas pour la plupart on a observé dans la réapparition du type diploïde, ainsi que la présence des zygotes $2n + 1$, $2n + 2$ etc., tandis que la production du type tétraploïde est un phénomène extrêmement rare. Ce type est formé en nombre resteint chez *Oenothera* (Davis) à côté de nombreuses plantes diploïdes, ainsi que chez *Crepis* (Hollingshead), où une seule plante étraploïde a apparu dans la descendance, présentant une série continue de types chromosomiques de $2n$ à $4n$, avec une prépondérance des plantes diploïdes. Dans le cas d'*Aquilegia*, par contre, la prépondérance du type tétraploïde est frappante; cela prouve que c'est précisément ce type, parmi toutes les combinaisons formées qui a le plus de chances de survivre.

Le nombre des chromosomes $4n$ de ces plantes tétraploïdes qui proviennent d'un croisement de deux espèces diploïdes, a été atteint en deux étapes. Cette différenciation caryologique du genre *Aquilegia* — parfaitement uniforme quant au nombre de chromosomes (2, 12, 28, 32) semble en quelque sorte analogue au phénomène de l'apparition de la plante tétraploïde *Galeopsis Tetrahit* dans la descendance d'un hybride triploïde stérile (Müntzing, 1930, 1932). *Galeopsis* est un genre qui a des espèces naturelles polyploïdes; *Galeopsis Tetrahit* synthétique représente la reconstruction exacte d'une espèce naturelle tétraploïde, un fait de grande importance théorique. Au contraire les plantes tétraploïdes d'*Aquilegia* diffèrent par leur nombre de chromosomes de toutes les espèces naturelles dont le nombre de chromosomes est toujours sept. Il faut remarquer que ces plantes diffèrent au point de vue morphologique des autres plantes tétraploïdes, obtenues pré-

cédemment (1932) dans le même croisement par la duplication somatique du nombre des chromosomes (v. fig. 5 c). Cependant elles s'en rapprochent non seulement par leur nombre tétraploïde de chromosomes, mais aussi par la capacité d'entrecroisement. L'apparition de deux groupes tétraploïdes d'origine différente, démontre comment un genre parfaitement uniforme au point de vue caryologique peut atteindre les premiers degrés de différentiation polyploïde.

Laboratoire de Botanique de l'Université Libre de Pologne à Varsovie.

OBJAŚNIENIE RYCIN.

Fig. 8 *a* — *g* — mejoza triploida: *a* — metafaza heterotypowa; cztery trivalenty, trzy biwalenty, trzy uniwalenty. *b* — anatelofaza heterotypowa; rozdział chromozomów: 9 i 12; w pobliżu bieguna górnego widoczne pary z podziału triwalentów. *c* — telofaza heterotypowa; rozdział chromozomów: 10 i 11. *d*, *e* — anatelofazy homeotypowe. *d* — oba wrzeciona znacznie różnią się liczbą chromozomów (7 i 13); *e* — oba wrzeciona o mniej więcej jednakowych liczbach (10 i 11). *f* — stadjum następne, odpowiadające komórce *d*; znaczne różnice wielkości jąder potomnych. *g* — stadjum następne odpowiadające komórce *e*; cztery jądra mniej więcej jednakowej wielkości. *h* — płytka somatyczna triploida. Rysunki zostały wykonane przy pomocy aparatu rysunkowego Zeissa przy użyciu objektywu apochromatycznego 1.5 mm. Zeissa w połączeniu z okularem kompensacyjnym Zeissa K 20 x (*a*, *b*, *c* i *h*) i K 15 x (*d*, *e*, *f*, *g*).

Fig. 9—11 — fotografje liści triploida 1/14 i niektórych roślin potomnych (zmniejszone do 0,3 wielk. nat.).

Fig. 9 — triploid 1/14.

Fig. 10 — Tetraploid 15/6, oraz aneuploidy: 15/4 (ok. 17 chromozomów), 15/9 (15 chromozomów), 16/4 (15 chromozomów).

Fig. 11 — Tetraploid 15/7, diploid 16/12, oraz aneuploidy 16/10 (15 chromozomów) i 16/7 (15 chromozomów).

Fig. 12 — Fotografje kwiatów: *a* — triploida (zmniejszony do 0,45 wielk. nat.), *b* — potomnej rośliny aneuploidalnej 15/4, *c* — tetraploida z potomstwa rośliny siostrzanej 1/5. Kwiaty tych tetraploidów są mniejsze i mają znacznie krótsze, zagięte ostrogi. (*b* i *c* zmniejszone do 0,5 wielk. nat.).

Fig. 13 — Fotografje kwiatów trzech tetraploidów z potomstwa triploida *a* — 15/7, *b* — 15/8, *c* — 15/6 (zmniejszone do 0,45 wielk. nat.).

Fig. 14 — Fotografje owoców (zmniejszone do 0,4 wielk. nat.). Rząd górny: *Aquilegia chrysantha* (Ch) i *A. flabellata* (Fl). Rząd środkowy: rośliny F_1, diploid i tetraploid siostrzany 1/5 mają mieszki płodne, natomiast triploid ma mieszki bez nasion, charakterystycznie skręcone. Rząd dolny: potomstwo triploida; mieszek pierwszy i czwarty tetraploidów 15/6 i 15/7 o wysokiej płodności, są większe od mieszków tetraploida 1/5. Mieszki słabo płodnych roślin aneuploidalnych 15/4 i 16/4 są mniejsze, niż diploidalnych gatunkôw rodzicielskich.

EXPLICATION DES FIGURES.

Fig. 8 *a* — *g* méiose de la plante triploïde. *a* — métaphase hétérotypique avec 4 trivalents, 3 bivalents et 3 univalents. *b* — anatélophase hétérotypique, avec 9 et 12 chromosomes aux pôles. Près du pôle à 12 chromosomes on voit des paires, provenant de la division des trivalents. *c* — télophase hétérotypique avec 11 et 10 chromosomes aux pôles. *d, e* — anatélophases homéotypiques; *d* — les deux fuseaux diffèrent distinctement quant aux nombres de chromosomes (7 et 13) *e* — fuseaux à nombres à peu pres égaux (10 et 11). *f* — stade plus avancé correspondant à *d* — différences considérables des dimensions des noyaux formés. *g* — stade plus avancé correspondant à *e* — quatre noyaux de grandeur à peu près égale. *h* — plaque sematique de la plante triploïde. Tous les dessins ont été exécutés à l'aide de la camera lucida de Zeiss avec l'obj. apochr. 1.5 mm. de Zeiss et l'oc. comp. de Zeiss K 20 x (pour *a, b, c, h*) et K 15 x (pour *g, e, f, g*),

Fig. 9—11 — Photographies des feuilles de la plante triploïde et de certains individus de sa descendance (0,3 de la grandeur naturelle).

Fig. 9 — Plante triploïde 1/14.

Fig. 10 — Plante tétraploïde 15/6, et plantes aneuploïdes 15/4 (ca 17 chromosomes), 15/9 (15 chromosomes).

Fig. 11 — Plante tétraploïde 15/7, plante diploïde 16/12 et plantes aneuploïdes 16/10 et 16/7 à 15 chromosomes.

Fig. 12 — Photographies des fleurs *a* — de la plante triploïde (x 0,45), *b* — de la plante aneuploïde 15/4 de sa descendance (x 0,5), *c* — fleur typique de la descendance de la plante tétraploïde 1/5 (x 0,5). Les fleurs de cette plante, ainsi que de toutes les plantes de la descendance de 1/5 sont plus petites, à éperons courts et fortement recourbés.

Fig. 13 — Photographies des fleurs de trois individus tétraploïdes de la descendance de la plante triploïde (x 0,45). A comparer avec 5 *c*; *a* — 15/7, *b* — 15/8, *c* — 15/6.

Fig. 14 — Photographies des follicules (x 0,4) 1. *Aquilegia chrysantha* (Ch.), *A. flabellata* (Fl.) 2. Hybrides F_1: diploïde (fertile), triploïde (sterile, follicules tordus sans semences), tétraploïde 1/5 (fertile). 3. Descendance de l'individu triploïde. Follicules très grands des plantes fertiles tétraploïdes 15/6 et 15/7. Petits follicules des plantes aneuploïdes 15/4 et 16/4, partiellement stériles.