O INWERSJI W STANIE HETEROZYGOTYCZNYM U *PAEONIA*.
INVERSION HETEROZYGOZITY IN PAEONIA

W. GAJEWSKI.

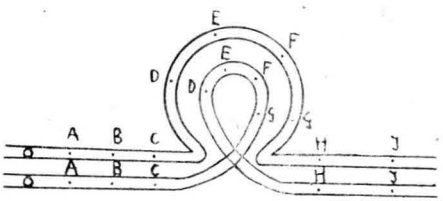
I. Wstęp.

W ostatnich latach przed wojną cytologowie zwłaszcza szkoły Darlingtona opisali u całego szeregu gatunków roślin występowanie w mejozie t. zw. „mostków chromozomalnych" i „acentrycznych fragmentów chromozomalnych" będących wynikiem zachodzenia chiazmy między dwoma chromozomami z których jeden posiada odcinek odwrócony w stosunku do drugiego. Zjawisko to dokładnie było opracowane przez Richardson (1936) u *Lilium*, Frankel (1937) u *Fritillaria*, Upcott (1937), u *Tulipa* i u całego szeregu roślin przez innych autorów. Podobne obrazy u zwierząt opisał Darlington (1936) u owadów prostoskrzydłych *Chorthippus* i *Staurodierus* a także opisywane były i u *Drosophila* przez wielu autorów. Dane te wskazują, iż zjawisko inwersji wcale nie jest w przyrodzie rzadkością.

U niektórych owadów dzięki analizie cytologicznej chromozomów gruczołów ślinowych mamy metodę nadzwyczaj prostą i precyzyjną pozwalającą opisywać i lokalizować wszelkiego typu mutacje strukturalne zachodzące w chromozomach. Badania przeprowadzone przez Dobzhanskiego i Sturtevanta i ich uczniów na licznych gatunkach amerykańskich *Drosophila* wykazały, iż liczne pokrewne gatunki *Drosophila* często różnią się większą lub mniejszą ilością inwersyj. Także i w obrębie jednego gatunku stwierdzono, iż osobniki należące do odrębnych ras lub pochodzące z różnych punktów zasięgu różnią się między sobą licznymi często inwersjami. Niektóre typy chromosomów zmodyfikowane przez inwersje w stosunku do rasy

wzorcowej posiadają odrębny zasięg w obrębie całej populacji gatunkowej. Badania te wykazały, iż u *Drosophila* inwersje odgrywały rolę przy różnicowaniu zarówno śródgatunkowym jak i nawet międzygatunkowym.

Powstaje pytanie w jakim stopniu podobne zjawiska odgrywają rolę i u innych organizmów a między innymi u roślin. Jak dotąd jedyną metodą stwierdzania występowania u roślin inwersji jest badanie bądź koniugacji chromozomów w pachytenie mejozy, gdzie na skutek inwersji w stanie heterozygotycznym występują charakterystyczne, pętle inwersyjne, bądź też anafazowego rozchodzenia się chromozomów, gdzie w wypadku zajścia chiazmy w inwersji następują charakterystyczne zaburzenia w rozchodzeniu się chromozomów. Pierwsza metoda pozwalająca wykrywać inwersje bez względu na chiazmy jest niestety ze względu na ogólne trudności analizowania jąder pachytenowych ograniczona w swych możliwościach. Do badania większego



Ryc. 1.

Ryc. 1. Pętla inwersyjna powstająca na skutek koniugacji 2 chromozomów, z których jeden posiada odcinek D. E. F. G. odwrócony. Kółka oznaczają tu i w następnych rysunkach centromerę.
Fig. 1. A diagram of inversion loop.

materiału który dałby dane liczbowe pozwalające porównać ilościowo badane osobniki, pozostaje tylko druga metoda analizy obrazów anafazowych. Poważnym minusem tej metody jest, iż u organizmów o niskiej ilości chiazm w biwalentach, a zwłaszcza o chiazmach zlokalizowanych nie jesteśmy w stanie wykryć wszystkich typów inwersji ani też nigdy określić długości odwróconego odcinka.

Nim przejdę do opisu własnych obserwacyj u *Paeonia* podam pokrótce teoretyczne podstawy zjawiska opisywanego, zwłaszcza, iż w literaturze polskiej nie było ono bliżej opisane.

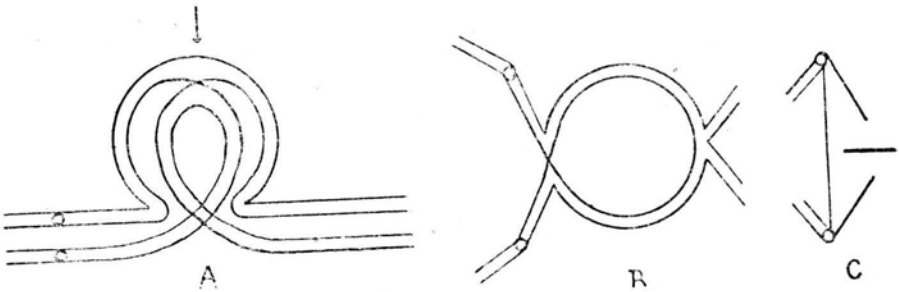
Inwersją nazywamy odwrócenie odcinka chromozomalnego o 180° na skutek czego układ kolejny genów (czy też prążków w chr. gr. ślin.) zostaje odwrócony. Oznaczmy układ wyjściowy genów (przed inwersją) ABCDEFGHI. Jeśli inwersja zajdzie na odcinku od C do G, to

układ genów w chromozomie po inwersji będzie ABGFEDCHI. W profazie mejozy na skutek koniugowania homologicznych genów między sobą u organizmu heterozygotycznego w stosunku do inwersji, a więc posiadającego jeden chr. niezmieniony, a drugi o odcinku odwróconym, powstaje charakterystyczna pętla (ryc. 1). W pętli tej odcinek odwrócony koniuguje z chr. normalnym w ten sposób, iż homologiczne loci znajdują się naprzeciw siebie. W zależności od długości odcinka odwróconego pętla będzie różnych wymiarów, zaś w zależści od położenia odcinka odwróconego pętla będzie położona bądź blisko centromery (proximalnie), bądź też blisko końca ramienia (terminalnie) lub w położeniach pośrednich. Analiza koniugujących chromozomów może więc dokładnie ustalić zarówno wielkość jak i położenie poszczególnych inwersji w stanie heterozygotycznym. Inwersja w stanie homozygotycznym oczywiście jest tą metodą nie do wykrycia.

Inwersje nie obejmujące centromery i powodujące tylko zmianę układu genów w jednym ramieniu chromozomu nazywamy paracentrycznymi, zaś inwersje obejmujące także i centromerę i powodujące przeniesienie genów z jednego ramienia do drugiego nazywamy pericentrycznymi. Inwersje pericentryczne mogą spowodować zmianę stosunku długości ramion chromozomu i spowodować heteromorficzność homologicznych chromozomów.

O ile w pętli inwersyjnej nie zajdzie żadna chiazma to rozchodzenie się chromozomów będzie normalne i ani w metafazie ani w anafazie istnienie inwersji nie zostane uwidocznione. Jeśli jednak w pętli inwersyjnej zajdzie chiazma to powstaną w anafazie charakterystyczne nienormalności przy rozchodzeniu się obu koniugujących chromozomów. Najpierw rozpatrzymy wynik chiazmy w inwersji paracentrycznej. Rozpoczniemy od najprostszego wypadku jednej chiazmy w inwersji. Jak z ryc. 2, widać, na skutek chiazmy w inwersji otrzymujemy jedną chromatydę dicentryczną połączoną z dwoma centromerami dwóch chromozomów koniugujących oraz jeden fragment acentryczny nie posiadający żadnej centromery. Zjawisko to w metafazie zwykle niewidoczne w anafazie odrazu rzuca się w oczy. W miarę oddalania się dwóch centromer rozchodzących się chromozomów łącząca je chromatyda rozciąga się w postaci długiej nici, tworząc tak zwany mostek chromatynowy, zaś acentryczny fragment chromozomalny pozostaje na wrzecionie i wreszcie zostaje zepchnięty na krawędź figury achromatynowej. W wypadku chromozomu dwuramiennego o centromerze medialnej (jakie często spotykają się u *Paeonia)*, każdy z roz-

chodzących się chromozomów posiada 3 jednakowej długości chromatydy, czwarta zaś wyciągnięta w długą nić łączy oba rozchodzące się chromozomy. Jeśli chromozomy koniugujące posiadały różnej długości ramiona, to w zależności od tego czy inwersja i chiazma leżały w długim czy krótkim ramieniu, rozchodzące się chromozomy będą posiadać bądź po dwie długie i jednej krótkiej chromatydzie lub też dwie krótkie i jedną długą. W ten sposób możemy ustalić w jakim typie chromozomu zaszła chiazma w inwersji. Długość acentrycznego fragmentu wskazuje zaś na położenie chiazmy, która zaszła w inwersji. Im chiaz-



Ryc. 2.

Ryc. 2. Wynik powstania chiazmy w pętli inwersyjnej. Strzałka tu i w następnych rysunkach oznacza miejsce powstania chiazmy. W wyniku chiazmy powstaje dicentryczna chromatyda i acentryczny fragment. Litery A, B i C tu i w następnych rysunkach oznaczają profazę, metafazę i anafazę.

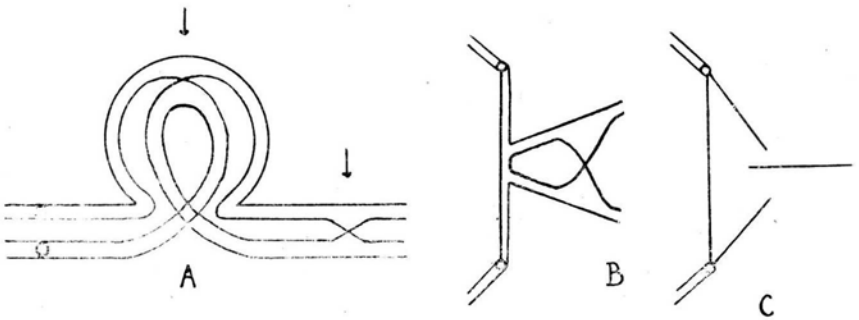
Fig. 2. Chromatid bridge and acentric fragment resulting from single chiasma in the inversion.

ma znajduje się bliżej centromery, tym fragment będzie dłuższy, im zaś bliżej końca ramienia, tym fragment będzie krótszy.

Niestety długość fragmentu nie mówi nam nic o długości samej inwersji, gdyż, jak z ryc. 2 łatwo się przekonać, długość fragmentu równa się długości inwersji plus oba odcinki distalne, leżące między inwersją a końcem ramienia. Toteż długość fragmentu przy inwersji i chiazmie leżących obok centromery może maksymalnie wynosić podwójną długość całego ramienia chromozomalnego. Ponieważ pętla inwersyjna wraz z chiazmą w inwersji nie może być przesuwana wzdłuż chromozomu w związku z ruchem terminalizacyjnym chiazm, gdyż jest ściśle zlokalizowana miejscem danej inwersji, przewaga więc fragmentów, powiedzmy bardzo długich, będzie wskazywać na obecność inwersji proksymalnej, a bardzo krótkich na przewagę inwersji terminalnej.

O ile u danego gatunku rozłożenie chiazm wzdłuż ramion w biwalencie jest całkowicie przypadkowe, to możemy założyć, iż ilość chiazm wypadających w inwersji lub poza nią są proporcjonalne do długości odcinków odwróconych i o układzie genów normalnym w obu koniugujących chromozomach. Częstość występowania mostków i związanych z nimi fragmentów będzie więc miarą stopnia heterozygotyczności inwersyjnej. Nie da się jednak bezpośrednio przy pomocy tej metody ustalić, czy np. dany osobnik posiada jedną dużą inwersję, czy kilka drobnych.

Dalszą komplikacją będzie, kiedy w jednym ramieniu biwalentu zachodzi jednocześnie kilka chiazm. Rozpatrzymy tu tylko wypadek, kiedy zachodzą dwie chiazmy jednocześnie, gdyż w badanym materiale



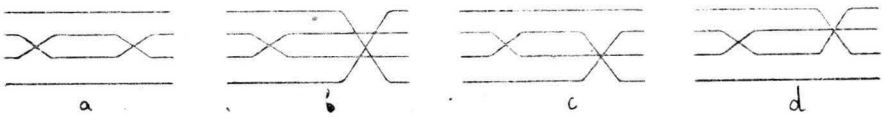
Ryc. 3.

Ryc. 3. Wynik 2 chiazm, z których jedna mieści się w inwersji, a druga na odcinku zewnętrznym (distalnym) między inwersją i końcami chromatyd. Powstaje 1 mostek i 1 fragment jak przy jednej chiazmie w inwersji.

Fig. 3. The results of two chiasmata; first in the inverted region and the second distal to the inversion.

Paeonia, wyższa ilość chiazm praktycznie nigdy nie występuje. Przy dwóch chiazmach, z których jedna znajduje się w inwersji, druga może wypaść albo na odcinku terminalnym poza inwersją, albo na odcinku proksymalnym między inwersją a centromerą, albo też wreszcie jeśli inwersja jest dostatecznie długa, druga chiazma może wypaść również w inwersji. Poza tym druga chiazma może zajść w drugim ramieniu chromozomu. Chiazma distalna lub w drugim ramieniu nie wpłynie zupełnie na charakter powstającego mostku inwersyjnego (ryc. 3). Inaczej się przedstawia sprawa, jeśli druga chiazma jest proksymalna w stosunku do chiazmy w inwersji. Zachodzą wtedy dwie możliwości w zależności od tego, między którymi chromatydami zaszła wymiana

w pierwszej i drugiej chiazmie. Jeśli między czterema chromatydami biwalentu zachodzą dwie kolejne chiazmy, to w zależności od tego, które kolejno chromatydy są objęte dwoma chiazmami, możemy wyróżnić następujące 4 typy układów: a) albo dwie chromatydy, które brały udział wpierwszej chiaźmie biorą także i w drugiej (układ wzajemny), b) albo też żadna z chromatyd, która brała udział w pierwszej chiaźmie nie bierze udziału w drugiej (układ uzupełniający), albo też c, d) istnieją dwa wypadki, kiedy jedna chromatyda tylko bierze udział w obu chiazmach, podczas gdy jedna z dwóch różnych chromatyd bierze udział tylko w jednej chiaźmie: taki układ nazywamy poprzecznym (Ryc. 4). Chiazmy wzajemne i uzupełniające nazywamy kompensacyjnymi lub symetrycznymi (w lit. ang. często znane comparate ch.), zaś chiazmy poprzeczne — niekompensacyjnymi, asymetrycznymi (w lit.



Ryc. 4.

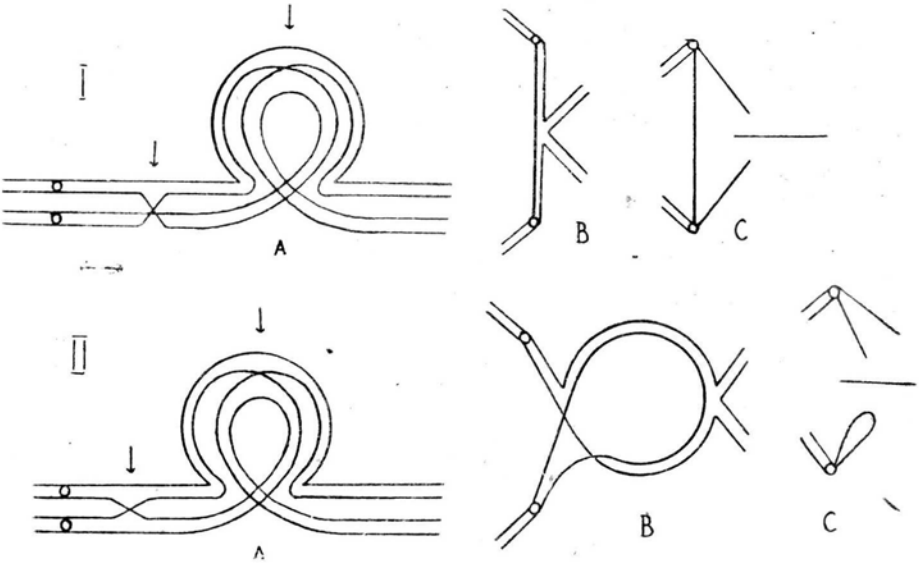
Ryc. 4. Cztery możliwe układy 2 kolejnych chiazm między czterema chromatydami. a — układ wzajemny, b — układ uzupełniający, c, d — układy poprzeczne.

Fig. 4. The four possible configurations of two succesive chiasmata. a — reciprocal, b — complementary, c, d — diagonal.

ang. zwane disparate ch.), przy czym oba typy chiazm poprzecznych stanowią jedynie odbicia lustrzane jeden drugiego.

Jeśli chiazma proksymalna w stosunku do chiazmy w inwersji będzie kompensacyjną, to powstanie obraz taki, jakby wcale jej nie było, a więc zwykły mostek dicentryczny i acentryczny fragment, jeśli jednak chiazma proksymalna będzie typu poprzecznego niekompensacyjnego, to otrzymamy całkiem inny obraz, ryc. 5. Jeden z rozchodzących się chromozomów będzie posiadał wszystkie 4 wolne chromatydy, drugi chromozom będzie posiadał dwie chromatydy połączone razem końcami w jedną monocentryczną pętlę, zaś na wrzecionie pozostanie acentryczny fragment. W tym wypadku w anafazie pierwszego podziału mostek chromatynowy nie powstanie, dopiero przy rozchodzeniu się chromozomu o dwóch chromatydach, połączonych w pętle w anafazie drugiego podziału powstanie motek chromozomalny na skutek rozciągania pętli przez dwie pochodne rozchodzące się centromery. Ponieważ przy dwóch chiazmach, prawdopodobieństwo, czy stanowić one będą układ kompesacyjny, czy nie, jest jednakowe, więc przy drugiej chiazmie pro-

ksymalnej w stosunku do chiazmy w inwersji w połowie wypadków będziemy mieli obraz nieodróżnialny od jednej chiazmy, a w drugiej połowie wypadków powstanie obraz samego tylko fragmentu w AI, a mostku chromozomalnego w AII. Gdyby zawsze między chiazmą w inwersji a centromerą zachodziła druga chiazma, to ilość mostków w anafazie drugiego podziału maksymalnie winna wynosić połowę ilości



Ryc. 5.

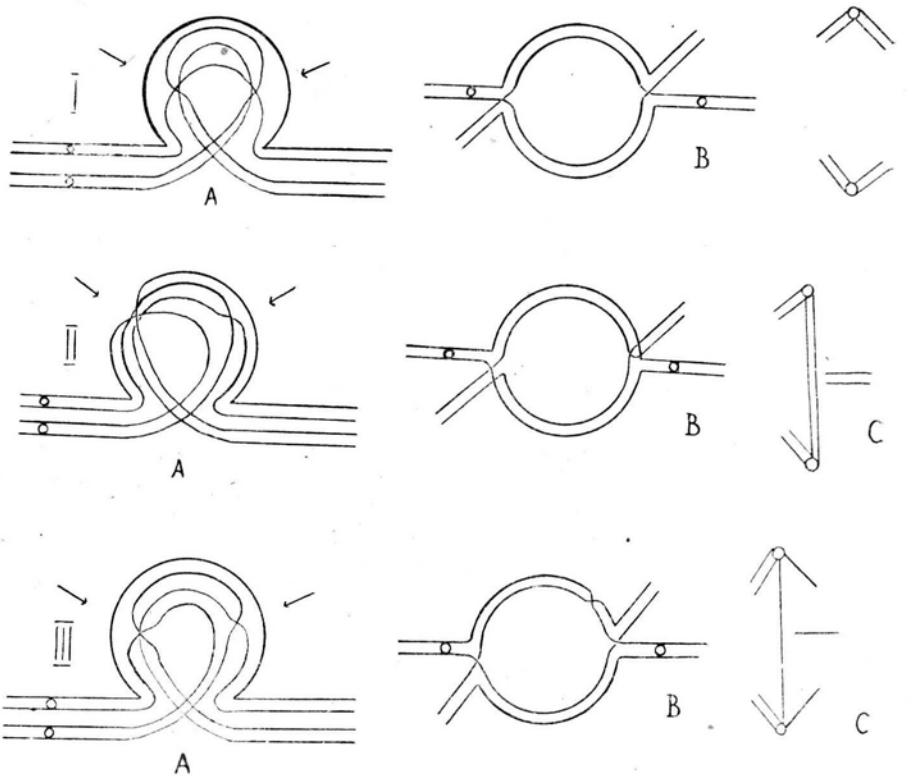
Ryc. 5. Wynik 2 chiazm, z których jedna mieści się w inwersji, a druga na odcinku wewnętrznym (proximalnym) między inwersją a centromerą.
I. układ kompensacyjny (wzajemny lub uzupełniający),
II. Układ niekompensacyjny (poprzeczny).
W wypadku I powstaje w AI 1 mostek i 1 fragment, w wypadku II powstaje w AI tylko fragment i jeden chromozom z pętlowatą chromatydą, która daje mostek w AII.

Fig. 5. The results of two chiasmata: first in the inverted region and the second proximal to the inversion.
I. The chiasmata are comparate. II. The chiasmata are disparate.

mostków w pierwszym podziale. Przy niskiej ilości chiazm w biwalencie ilość mostków w AII będzie znacznie niższa.

Musimy jeszcze omówić trzeci wypadek, kiedy w inwersji zachodzą jednocześnie dwie chiazmy. Tu również wynik będzie różny w zależności od tego, jaki będzie wzajemny układ dwóch chiazm. Jeśli układ będzie wzajemny, to powstaną dwa chromozomy o wszystkich

4 wolnych chromatydach tak, jakby wcale żadna chiazma nie zaszła. O ile układ będzie uzupełniający, to powstaną dwie dicentryczne chromatydy i dwa równej długości acentryczne fragmenty, pochodzą-



Ryc. 6.

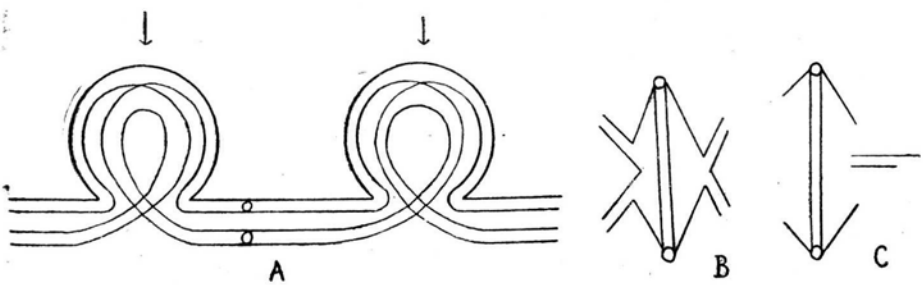
Ryc. 6. Wynik 2 chiazm mieszczących się w jednej inwersji
I. Układ wzajemny. II. Układ uzupełniający. III. Układ poprzeczny. W wypadku I powstają 2 chromozomy o wolnych chromatydach. W wypadku II powstają 1 mostek podwójny i 2 równej długości acentryczne fragmenty. W wypadku III powstają 1 mostek pojedyńczy i 1 acentryczny fragment.

Fig. 6. The results of two chiasmata in one inversion.
I — The chiasmata are reciprocal. II — complementary. III — diagonal.

ce z tego samego ramienia chromozomu, zaś wolne pozostaną tylko dwie chromatydy drugiego ramienia, które będą jednakowej długości przy obu centromerach. Jeśli zaś układ wzajemny obu chaizm w inwersji będzie poprzeczny, powstanie pojedyńczy mostek z jednym fragmentem, jak przy jednej chiazmie. Schematycznie jest to przedsta-

wione na ryc. 6. Jednym słowem, przy długich inwersjach, w których mogą wystąpić dwie chiazmy jednocześnie tylko w ¼ wypadków przy układzie uzupełniającym, będziemy to mogli naocznie stwierdzić.

Podwójny mostek o dwóch dicentrycznych chromatydach i dwóch acentrycznych fragmentach może powstać również wtedy, kiedy zajdą jednocześnie dwie chiazmy w dwóch inwersjach, leżących w przeciwległych ramionach tego samego chromozomu, wtedy jednak zwykle fragmenty są różnej długości, a także i wolne ramiona przy tej samej centromerze nie będą jednakowej długości jak przy podwójnym mostku, powstałym z dwóch chiazm w jednej inwersji. (Ryc. 7).



Ryc. 7.

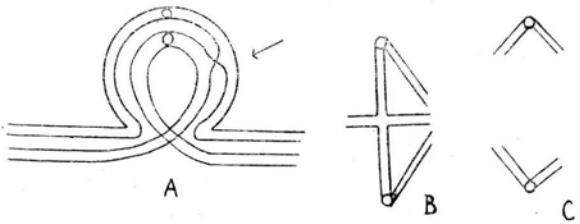
Ryc. 7. Wynik 2 chiazm w 2 inwersjach leżących w dwóch ramionach tego samego chromozomu. Powstaje w AI mostek podwójny i 2 acentryczne fragmenty, przy czym długość wolnych ramion i fragmentów jest zwykle nie jednakowa.

Fig. 7. The results of two chiasmata in two inversions located in opposite arms of one chromosome.

Pozostają jeszcze do omówienia inwersje pericentryczne, tzn. obejmujące inwersją centromerę. Inwersje te nie prowadzą do powstawania mostków chromozomalnych w wypadku powstania w nich chiazmy. Metodą analizy anafazowego rozchodzenia się chromozomów istnienia ich wykryć nie możemy. Na skutek przesunięcia położenia centromery w jednym z chromozomów w metafazie, można czasem obserwować niesymetryczne biwalenty. Na ryc. 8 jest przedstawiony schematycznie sposób koniugowania i rozchodzenia się chromozomów w wypadku chiazmy w inwersji pericentrycznej.

Jak z powyższego przeglądu widzimy, im silniejszy będzie stopień heterozygotyczności inwersyjnej, tym częściej chiazmy będą wypadać w inwersji i powodować w anafazie powstawanie mostków inwersyjnych. Dodawszy do siebie obliczone liczby ilości mostków w AI

i AII wypadające średnio na 1 K.M.P. i podzieliwszy tę liczbę przez średnią chiazm wypadającą na 1 K.M.P., otrzymamy tak zwany przez Upcott współczynnik inwersyjnej heterozygotyczności, który podaje jaki ułamek ogólnej ilości chiazm w 1 K.M.P. wypada na chiazmy w inwersji. Współczynnik ten w pewnym sensie będzie jednocześnie oznaczał jaki ułamek ogólnej długości wszystkich chromozomów wypada na inwersje w stanie heterozygotycznym. Poza tym na podstawie analizy poszczególnych biwalentów możemy ustalić, w których biwalentach znajdują się inwersje, zaś z długości fragmentów możemy wyciągnąć pewne wnioski co do umieszczenia proksymalnego wzgl. terminalnego inwersji. Przy chiazmie w inwersji proksymalnej powstaje długi frag-



Ryc. 8.

Ryc. 8. Wynik chiazmy w inwersji pericentrycznej obejmującej centromerę. Powstają chromozomy o wolnych chromatydach.

Fig. 8. The results of chiasma formation in pericentric inversion.

ment, zaś chromatyda dicentryczna jest złożona z b. krótkich odcinków i w anafazie zostaje szybko rozciągnięta w bardzo cienką nić, wkrótce pękającą. Przy chiaźmie w inwersji terminalnej, fragment jest b. mały, zaś dicentryczna chromatyda złożona jest z długich odcinków i przy rozciąganiu jest znacznie grubsza i często aż do telofazy, a nawet aż do drugiego podziału, nie ulega rozerwaniu. Toteż wśród mostków spotykanych w AII część ich może pochodzić z AI; wyróżnić je łatwo po tym, iż łączą jądra pochodne z pierwszego a nie z drugiego podziału.

Podaliśmy niektóre prostsze konsekwencje cytologiczne chiazm zachodzących w inwersjach w stanie heterozygotycznym. Pozostaje pytanie, jakie są konsekwencje genetyczne tych zjawisk?

Fenotypowo inwersje, jak wszelkie mutacje strukturalne, mogą czasem posiadać efekt fenotypowy, zbliżony do mutacji punktowych, będący wynikiem tzw. efektu pozycji. W zależności od tego, jak w wy-

padku każdej mutacji, czy efekt ten będzie selektywnie dodatni czy ujemny, dana inwersja będzie przez selekcję bądź faworyzowana bądź też eliminowana, i bądź zniknie z populacji, bądź bardziej się rozpowszechni. Ponieważ prawdopodobieństwo powstania dwóch mutacji inwersyjnych całkowicie jednakowych jest praktycznie żadne, proces ustalania się w stanie homozygotycznym inwersji będzie znacznie wolniejszy, niż mutacji genowych, gdyż każda mutacja strukturalna jest właściwie w swym typie jedyna. Ponieważ każdy crossing-over w inwersji daje w rezultacie chromatydy genetycznie niezrównoważone, więc inwersje w stanie heterozygotycznym prowadzą do praktycznie całkowitego zniesienia crossing-over na odcinku odwróconym. Powoduje to, iż efekt samej inwersji będzie na stale sprzężony z genami danego odcinka. Liczne inwersje w stanie heterozygotycznym, znosząc skutki crossing-over, powodują brak wymiany genów między odcinkami homologicznych chromozomów. Na skutek procesu mutacji genowych, przy braku wymiany, w odcinkach tych po dostatecznie długim czasie nastąpi odrębne zróżnicowanie genetyczne obu chromozomów homologicznych. Dzięki temu heterozygoty inwersyjne osiągać będą stan znacznej heterozygotyczności genowej, co może powodować dodatni efekt heterozyjnej bujności. Z drugiej strony, inwersyjna heterozygotyczność na skutek chiazm zachodzących w inwersjach, powodować będzie obniżenie płodności heterozygoty; każda bowiem chiazma w inwersji daje chromosomy niezdolne do życia na skutek deficjencji lub duplikacji całych odcinków chromozomalnych. Obniżenie płodności winno w rezultacie prowadzić do eliminacji heterozygot w naturze. Liczne występowanie inwersji u *Drosophila* w populacjach naturalnych, gdzie odgrywają dużą rolę w ewolucji ras i gatunków, wskazuje, iż inwersje nie są tu z natury rzeczy eliminowane.

Zjawisko to Sturtevant i Beadle (1936) tłomaczą w ten sposób, iż efekt obniżenia płodności przez paracentryczne inwersje u *Drosophila* (gdzie są one tak liczne), jest zniesiony na skutek mechanicznej eliminacji dicentrycznych i acentrycznych chromatyd z jądra komórki jajowej. Hipoteza ich opiera się na fakcie, iż obie osie podziałów redukcyjnych leżą w prostej linii, oraz na założeniu, iż dicentryczne chromatydy, tworzące mostki, zajmują po pierwszym podziale położenie środkowe, zaś normalne chromatydy leżą na zewnątrz od nich. Po drugim podziale tylko środkowe komórki będą posiadały chromatydy, pochodzące z mostków, zaś zewnętrzne komórki najdolniejsza i górna będą posiadać zawsze chromatydy normalne. Ponieważ tylko jedna ze skrajnych komórek rozwija się w komórkę jajową, będzie ona

posiadała zawsze tylko normalne chromatydy. W ten sposób efekt chiazmy w inwersji nie spowoduje obniżenia płodności. Sturtevant i Beadle przypuszczali, iż zjawisko to może być powszechne przy oogenezie u zwierząt i megasporogenezie u roślin wyższych. Hipoteza ta została potwierdzona dla roślin wyższych przez Darlingtona i La Cour (1941), którzy opisali zjawisko to przy powstawaniu woreczków zalążkowych u *Lilium testaceum* i u mieszańca 2 odmian *Tulipa Gessneriana*, zaś dla zwierząt Garson (1946), stwierdził to samo zjawisko przy oogenezie u *Sciara impatiens*.

Inwersje pericentryczne obejmujące centromerę, dają przy crossing-over zawsze obniżenie płodności na skutek powstawania genetycznie niezrównoważonych chromatyd o duplikacjach i deficjencjach całych odcinków, toteż większej roli ewolucyjnej u *Drosophila*, a prawdopobnie i gdzie indziej, nie odgrywają. Jedynie u niektórych owadów prostoskrzydłych, gdzie chiazmy są ściśle zterminalizowane, zachodzi możliwość istnienia inwersji pericentrycznych, gdyż crossing-over wypada zawsze poza zasięgiem tych inwersji. Powoduje to u tych organizmów częstą heteromorficzność chromozomów. U organizmów o niezlokalizowanych chiazmach, jak *Drosophila*, inwersje te szybko ulegną eliminacji.

Danych co do występowania inwersji w stanie homozygotycznym u roślin i roli tego czynnika przy różnicowaniu wewnątrzgatunkowym czy też międzygatunkowym, narazie brak prawie zupełnie. Dane liczbowe co do stopnia heterozygotyczności inwersyjnej najkompletniejsze są, jak dotąd, dla różnych gatunków *Tulipa* badanych przez Upcott. Omówię je po podaniu wyników otrzymanych dla *Paeonia*.

W każdym razie dotychczasowe badania wykazują, iż jedne gatunki mogą posiadać wysoki stopień heterozygotyczności inwersyjnej, podczas gdy inne pokrewne bardzo niski. Jakie mogą być skutki heterozygotyczności inwersyjnej dla danego organizmu? Dzięki temu, iż rekombinacji podlegają tu całe większe lub mniejsze grupy genów w zależności od długości odwróconych odcinków, chromozomy homologiczne dzięki brakowi crossing-over stają się różne od siebie. Dzięki zniesieniu częściowemu crossing-over zmniejsza się ilość możliwych rekombinacji genów, co może spowodować i zmniejszenie ilości selektywnie ujemnych rekombinacji i może częściowo rekompensować zmniejszoną płodność heterozygoty.

Gatunki o silnej heterozygotyczności inwersyjnej wytwarzają wewnętrzne zróżnicowanie w postaci bloków genów zawsze przekazywanych razem, co może wywołać rozbicie gatunku na szereg form

różnym składzie genetycznym, nie mogących już dalej ze sobą wy-ieniać genów. Gatunki takie, zbliżają się do typu roślin takich, jak *enothera*, stanowiących typ permanentnej heterozygoty. Powstaje ięc zróżnicowanie genetyczne nie między osobnikami, lecz między ıromozomami jednego osobnika.

Inwersja, która dzięki przypadkowi, po pewnym czasie dzięki ıutacji będzie posiadać specjalnie korzystny zespół genów, może rów-ież po przejściu w stan homozygotyczny stać się czynnikiem różni-ıjącym rasy, a nawet gatunki, jak to obserwujemy u *Drosophila*. eśli w inwersji znajdą się geny warunkujące nowe odrębne wymaga-ia co do temperatury lub innego czynnika biotycznego, to nowa ra-ı może posiadać inne wymagania ekologiczne i w związku z tym in-y zasięg geograficzny. Tak więc, jak geograficzna czy ekologiczna :olacja może wywołać zróżnicowanie genetyczne, tak i na odwrót różnicowanie chromozomalno-genetyczne może w konsekwencji do-rowadzić do zróżnicowania geograficzno-ekologicznego.

I. Badania własne.

Przeglądając preparaty z mejozy w K.M.P. u różnych gatunków *'aeonia*, natrafiłem na liczne obrazy wskazujące na zachodzenie hiazmy w inwersji. Ponieważ Ogród Botaniczny U. W. posiada znacz-ą kolekcję dzikich gatunków *Paeonia*, zbieraną przez wiele lat przez ırof. dr. R. Kobendzę, uważałem, iż porównanie kilku gatunków ·od względem stopnia heterozygotyczności inwersyjnej może dać in-eresujące wyniki. Peonie wyjątkowo nadają się do tego rodzaju ıadań, gdyż ilość chromosomów u gatunków diploidalnych jest sto-unkowo niska n = 5, a chromozomy są wyjątkowo dużych wymia-ów co umożliwia dokładną ich analizę.

Literatura, dotycząca stosunków cytologicznych u *Paeonia* jest sto-unkowo obszerna (Sax 1932, 1937, Sinnoto 1938, Dark 1936, Stebbins 1938, Hicks a. Stebbins 1934, Stebbins ı. Ellerton 1939). Poszczególni autorzy, jak Sax, Dark, Stebbins i Hicks a. Stebbins opisywali już mostki i frag-nenty chromosomalne u różnych gatunków *Paeonia*. Ze względu na ›bfity materiał różnych gatunków *Paeonia* uważałem, iż zestawienie lościowe tego zjawiska może posiadać pewną wartość.

A) Materiał i metody. Kolekcja peonji, wyhodowana ›rzez prof. Kobendzę pochodziła przede wszystkim z nasion ›trzymanych z różnych Ogrodów Botanicznych. Niestety przez okres ‹ojny etykiety wskazujące pochodzenie poszczególnych roślin zginęły.

Oprócz różnych gatunków peonji często występujących w licznych odmianach, otrzymał również prof. Kobendza mieszańce między niektóremi gatunkami, z mieszańców tych został tu uwzględniony jedynie mieszaniec *Paeonia Delavayi typica* x *P. Delavayi lutea* innych z braku zapisów i etykiet nie dało się zidentyfikować. W sumie zostało zbadanych 18 roślin, należących do 7 odrębnych gatunków i 2 osobniki wyżej wspomnianego mieszańca. W stosunku do całej kolekcji jest to ± ¼ część, która została wybrana na skutek tego, iż z tych roślin zostały pączki kwiatowe utrwalone w odpowiednim okresie, z pozostałych roślin zostały utrwalone bądź zapóźno, bądź zawcześnie. Mam wrażenie, iż ta przypadkowo wybrana grupa roślin charakteryzuje dostatecznie różnorodność występowania zjawiska inwersyjnej heterozygotyczności w obrębie i między gatunkami rodzaju *Paeonia*. Pączki kwiatowe były utrwalane w płynie 3 cz. alk. abs. i 1 cz. kw. octowego lod. Zawartość pylników wyciskana na szkiełko, barwiona była aceto-karminem na gorąco wg. metody Bellinga, co dawało całkiem zadawalające wyniki.

Utrwalone pączki z odpowiednimi stadiami mejozy w K.M.P. posiadałem z następujących roślin: (każdy numer odnosi się do rośliny z innego poletka, a więc prawdopodobnie i innego pochodzenia):

1. *Paeonia Delavayi* Franch. *typica* o kwiatach ciemno-purpurowych, krzew do 1,5 m wysoki, 2 rośliny nr 1 i 27.

2. *Paeonia Delavayi* Franch, *var lutea* Finet. et Gagnep. o kwiatach żółtych. Rośliny te oprócz barwy kwiatów różnią się także ogólnym pokrojem i kształtem liści od typowej *P. Delavayi*, tak, iż często *var. lutea* wyróżniana jest jako odrębny gatunek, jednak zgodnie z Saundersem (1938), ze względu na całkowitą płodność ich mieszkańców oraz wielką zbieżność morfologiczną zaliczać należy ją jako odmianę *Delavayi*. Zbadano 2 rośliny nr 32 i 34. Wszystkie 4 wyżej wymienione rośliny posiadały płodność pyłku i nasion normalną w granicach od 92 do 96%.

3. F_1 *Paeonia Delavayi typica x var. lutea* lub być może odwrotna krzyżówka. Mieszańce te wyhodowane przez prof. Kobendzę posiadały kwiaty o barwie pośredniej między formami rodzicielskimi o płodności płyku całkiem normalnej wahającej się w granicach od 85 do 98%. Zbadano 2 rośliny nr 5 i 8.

4. *Paeonia tenuifolia L.* wszystkie rośliny w obrębie kolekcji wykazywały wielką jednolitość morfologiczną, została zbadana jedna roślina nr 45.

5. *Paeonia albiflora* Pall. Gatunek ten powszechnie hodowany występował w kolekcji w formach pojedyńczej i pełno-kwiatowej o różnych barwach kwiatów. Zbadane zostały 2 rośliny o kwiatach pojedyńczych nr 9 (biało kwitnące) i nr 41 (o kwiatach czerwonych). Płodność obu tych roślin, jak i gatunku poprzedniego była normalna.

6. *Paeonia anomala* L. Gatunek ten był wyjątkowo licznie reprezentowany w badanej kolekcji. Rośliny z poszczególnych poletek różniły się całym szeregiem cech, jak barwa i wielkoś kwiatów, wzrost rośliny, okres kwitnienia, kształt liści etc. Zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe jest tu silnie zaznaczone, poszczególne formy wyróżniane były w systematyce nawet jako odrębne gatunki pod specjalnymi nazwami. Zbadano ogółem 5 roślin nr 3, 17, 26, 30 i 40 różniących się znacznie między sobą całym szeregiem cech. Płodność pyłku w obrębie tego gatunku jest wyraźnie obniżona i wahała się w r. 1946 i 47 od 85 do 89% u różnych roślin badanych.

7. *Paeonia peregrina* L. gatunek ten wykazuje równie wielką zmienność, jak poprzedni, zwłaszcza w stosunku do stopnia owłosienia pędów i liści, a w mniejszym stopniu także w stosunku do wielkości i barwy płatków. Większoś roślin wykazuje znaczne obniżenie płodności. Zbadane były 4 rośliny nr 12 (płodn. pyłku 63%), nr 19 (płodność pyłku 85%) nr 22 (płodn. płyku 54%) oraz nr 4, ta ostatnia roślina była prawie kompletnie sterylna i nie jest wykluczone, iż przedstawiała jakiś typ mieszańcowy choć morfologicznie nie dało się tego stwierdzić.

8. *Paeonia officinalis* L. Gatunek ten często przenoszony jest jako var. do gatunku poprzedniego. Zbadano 2 rośliny nr 6 i 14 o normalnej płodności.

B. Wyniki badań. Zgodnie z wynikami badań cytologicznych poprzednich badaczy pierwsze 5 wyliczonych gatunków są to diploidy o n = 5, a 2 ostatnie gatunki są tetraploidami o n = 10. Dokładnej analizy garnituru somatycznego badanych gatunków nie przeprowadzałem. Jak zgodnie wszyscy badacze cytologii *Paeonia* stwierdzają gatunki diploidalne posiadają jeden podstawowy typ kariotypu wspólny dla wszystkich gatunków: 3 pary chromozomów oznaczone A, B i C posiadają centromerę medialną lub submedialną i stosunek długości ramion ca. 1:1, para oznaczona D ma stosunek dł. ramion 1:4 i wreszcie ostatnia para E posiada subterminalną cetromerę i jedno ramię b. krótkie a drugie długie, jak ramiona chromozomów A i B. Wg. Sinnoto chromozomy A, B, D i E posiadają satelity, które u chromozomów D i E są umieszczone na krótszych ramionach. Metafaza

somatyczna z tkanki zalążni *P. Delavayi* nr 3 jest przedstawiona na ryc. 9. Poszczególne typy chromozomów izo- i heterobranchialnych są tu widoczne; satelity przy tej technice cytologicznej nie są widoczne. U gatunków tetraploidalnych wydaje się, iż również występuje te same 5 typów chromozomów w liczbie poczwórnej. Bardziej systematycznych badań nad analizą chromozomów somatycznych nie przeprowadzałem.

Badania nad mejozą w K.M.P. dotyczyły przede wszystkim anafaz Igo i IIgo podziału w celu uchwycenia liczbowego mostków i fragmentów acentrycznych. Pozatem w metafazie Igo podziału przeprowadziłem analizę występowania chiazm w biwalentach. Badania profazy w pachytenie ze względu na niezbyt subtelną metodę utrwalania były bardzo utrudnione. Chodziło tu przede wszystkim o znalezienie u koniugujących biwalentów charakterystycznych pętli inwersyjnych. Niestety przeważna większość K.M.P. w stanie pachytenu wykazywała w większym lub mniejszym stopniu skórcz nici, a tylko w bardzo nielicznych wypadkach można było obserwować koniugację nici w pojedyńczych biwalentach. Po przejrzeniu większej ilości K.M.P. w pachytenie (ponad 500), w jednej tylko komórce znalazłem biwalent posiadający charakterystyczną pętlę inwersyjną (ryc. 10). Wynik ten ze względu na złe utrwalenie materiału do tego rodzaju badań wcale nie przesądza o ogólnej rzadkości tego zjawiska.

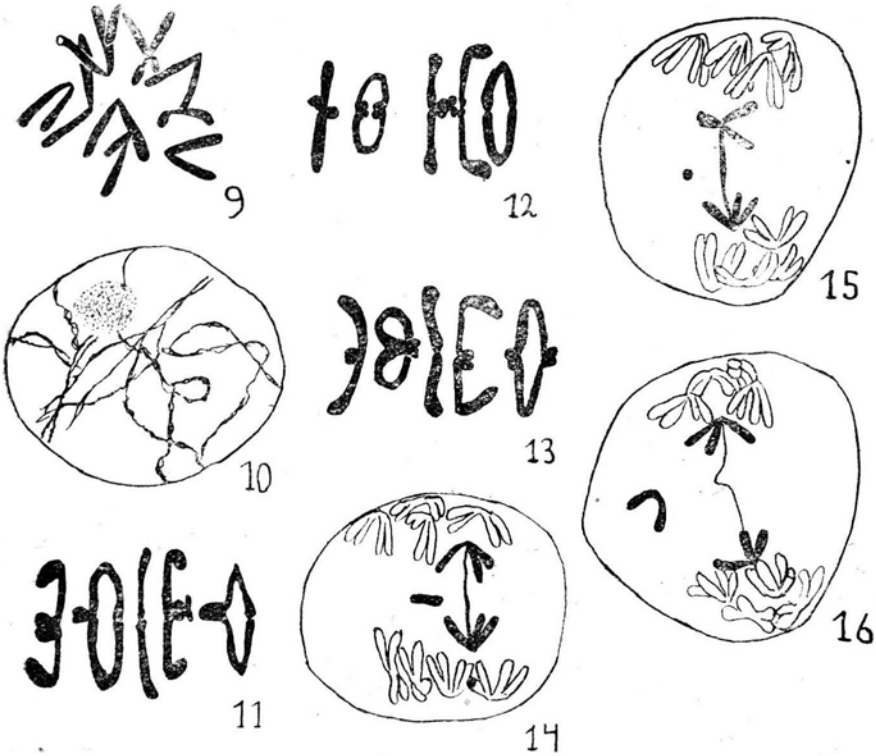
W metafazie przeprowadziłem u wszystkich badanych gatunków i mieszańców obliczenie średniej ilości chiazm wypadających na 1 komórkę i biwalent. U gatunków dipolidalnych jest stosunkowo łatwo za-

Tabl. nr 1. Ilość chiazm u gatunków *Paeonia*.
Chiasmata numbers in *Paeonia* species.

Gatunek Species	II. XX Nm. of XX w (in) 50_{II}	II. XX term. Nm. term. XX w (in) 50_{II}	II. XX Nm. of XX per. biv.	Wspł. term. Term. coef.
P. Delavayi	85	42	1,70	0,49
P. Delavayi v. lutea	91	40	1,82	0,43
F_1 Del. x v. lutea	80	40	1,60	0,50
P. tenuifolia	80	39	1,60	0,43
P. albiflora	75	40	1,50	0,53
P. anomala	81	37	1,62	0,45
P. peregrina	84	43	1,68	0,51
P. officinalis	83	38	1,66	0,45

nalizować wszystkie 5 biwalentów. Do obliczania średniej ilości chiazm brałem 10 komórek, zawierających same tylko biwalenty bez uniwalentów. U gatunków tetraploidalnych analiza wszystkich 10 biwalen-

tów w 1 komórce jest nie do wykonania, poza tym w każdej prawie komórce spotyka się uniwalenty lub też tri — albo tetrawalenty. Ilość chiazm w biwalentach została obliczona również na podstawie 50 biwalentów wziętych z większej niż 5 ilości komórek.



Ryc. 9 — 16. 9 — Metafaza somatyczna ze ścianki zalążni. 10 — Pachyten z pętlą inwersyjną w jednym z biwalentów. 11 — 13 Metafaza I. 14 — 16 Mostki pojedyńcze w chromozomach izobranchialnych o różnej długości fragmentów.
Fig. 9 — 16. 9 — Somatic metaphase from ovary wall. 10 — Pachytene nucleus: one bivalent with inversion loop. 11 — 13 Metaphase I. 14 — 16 — Single bridges in isobranchial chromosomes with fragments of different length.

Ryc. (fig.) 9, 10, 11, 14 z (from) — **P. Delavayi typica**, 12 — **P. anomala**, 13, 15 — **P. Delavayi typica x lutea**, 16 — **P. Delavayi lutea.**

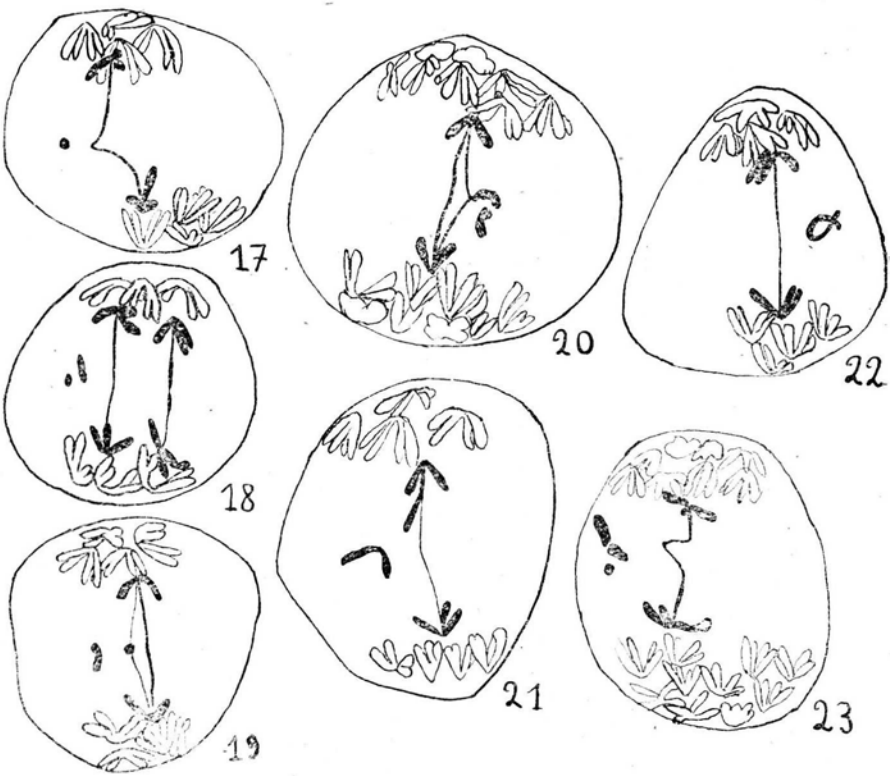
Wygląd biwalentów u gatunków diplo- i tetraploidalnych jest b. zbliżony; biwalenty posiadają od 1 do 4 chiazm, z czego mniej więcej połowa wypada na chiazmy terminalne. Ilość chiazm u poszczególnych gatunków jest przedstawiona na tabl. nr 1.

Tabl. 2.

Występowanie mostków u *Paeonia*
Inversion bridges in *Paeonia*

Gatunek i nr. Species and plant nmb.	Stadium Stage	Ilość K.M.P. Number of P. M. C.	MOSTKI BRIDGES Pojed. simple	MOSTKI BRIDGES Podw. Double	Fragmenty bez mostków. Fragments without bridges	Współcz. inwers. heterozygot. Coefficient of invers. hybridity
P. Delavayi nr 1	A I	242	16=6,6%	1=0,4%	3	0,012
	T I	120	8		18	
	A II	148	4=6,7%			
P. Delavayi nr 27	A I	244	18=7,4%		5	0,011
	T I	92	3		15	
	A II	98	2=2%			
P. Del. v. lutea 32	A I	267	20=7,5%	1=1,3%	6	0,000
	T I	190	8		10	
	A II	155	4=2,5%			
P. Del. v. lutea 34	A I	286	28=9,6%		4	0,014
	T I	170	4		18	
	A II	185	6=4,2%			
P. Delavayi x P. Del. var lutea nr 5	A I	156	8=4,9%		7	0,007
	T I		1			
	A II	248	2=0,8%			
P. Delavayi x P. Del. var lutea nr 8	A I	390	18=4,6%		5	0,0069
	A II	112	1=0,9%			
P. tenuifolia 45	A I	211	1=0,4%		1	0,00058
	T I	200	1		4	
	A II	180				
P. albiflora 39	A I	448	2=0,4%		4	0,0016
	T I	228	1			
	A II	247	2=0,8%			
P. albiflora 42	A I	191	1=0,5%		3	0,0607
	T I	96				
	A II	121				
P. anomala 3	A I	141	8=5,6%		4	0,0089
	T I	149	3		10	
	A II	150	2=1,9%			
P. anomala 17	A I	150	6=4%		7	0,0066
	T I	120	2		15	
	A II	215	3=1,9%			
P. anomala 26	A I	189	10=5,3%		6	0,0075
	T I	208	3		14	
	A II	116	1=0,8%			
P. anomala 30	A I	196	12=6,1%		3	0,0098
	T I	108	2		5	
	A II	153	3=1,0%			
P. anomala 40	A I	176	4=2,8%		1	0,0037
	T I	150			8	
	A II	232	2=0,8%			
P. peregrina 4	A I	185	84=45,4%	3=1,2%	43	0,036
	A II	188	26=13,8%			
P. peregrina 12	A I	200	4=2,0%	1=0,5%	1	0,0021
	T I	189	2		5	
	A II	140	1=0,5%			
P. peregrina 19	A I	196	5=2,5%		1	0,0015
	T I	115			6	
	A II	184				
P. peregrina 22	A I	146	4=2,7%		2	0,0028
	T I	111	5		12	
	A II	96	2=2%			
P. officinalis 6	A I	181	2=1,1%			0,0006
	T I	126	1		3	
	A II	118				
P. officinalis 14	A I	113	10=8,8%		14	0,0076
	T I	128	6		15	
	A III	140	5=3,5%			

Jak widać średnia ilość chiazm w biwalencie, jak i współczynnik terminalizacji są u wszystkich badanych roślin bardzo do siebie zbliżo-



Ryc. 17 — 23. 17 — Mostek pojed. w chr. heterobranchialnym, 18 — Dwa mostki pojed. w jednej K. M. P., 19 — Mostek podwójny powstały prawdopodobnie z dwóch inwersji w dwóch ramionach, 20 — Mostek podwójny powstały prawdopodobnie z 2 chiazm w 1 inwersji, 21 — Mostek o rozsuniętych chromatydach na skutek rozciągania dicentrycznej chromatydy, 22 — Mostek z fragmentem zwiniętym w pętlę zapewne na skutek drugiej chiazmy distalnej, 23 — Mostek pojedyńczy z 3 fragmentami.

Fig. 17 — 23. 17 — Single bridge in heterobranchial chromosome, 18 — Two single bridges in I P. M. C. 19 — Double bridge probably from two inversions in two arms of one chromosome, 20 — Double bridge probably from 2 chiasmata in single inversion, 21 — Bridge with free chromatids pushed away, caused by the tension on bridge chromatids, 22 — Bdridge with loop fragment resulting probably from the second distal chiasma, 23 — Single bridge with 3 fragments.

Ryc. (Fig.) 17, 22 z (from) **P. Delavayi typica**, 18, 19 — **P. Delafayi lutea**, 20 — **P. officinalis**, 21 — **F1 P. Delavayi typica x lutea**, 23 — **P. peregrina.**

ne. Rozkład chiazm w biwalentach jest pokazany przykładowo na rysunkach nr 11, 12 i 13. Jak widać, mieszaniec posiada koniugację chromozomów równie normalną pod względem ilości chiazm, jak i pozostałe gatunki *Paeonia*, także i pod względem ilości komórek z uniwalentami (ca. 20%) mieszaniec niczym nie różni się od form rodzicielskich.

Analiza mostków i fragmentów acentrycznych wykazała, iż mostki występują zarówno w anafazie Igo, jak i znacznie rzadziej IIgo podziału. Stosunki ilościowe występowania mostków i fragmentów acentrycznych u badanych roślin są przedstawione na tabl. nr 2.

Jak widzimy, badany materiał wykazywał wielkie różnice w stopniu inwersyjnej heterozygotyczności. U gatunków diploidalnych wszystkie badane rośliny *P. Delavayi* odmiany *typica* i *lutea* wykazują znaczny stopień heterozygotyczności. W mniejszym stopniu obserwujemy również to samo zjawisko u wszystkich badanych roślin *P. anomala*. W przeciwieństwie do tych dwóch gatunków, *P. tenuifolia* i *P. albiflora* wykazują znikomy stopień inwersyjnej heterozygotyczności. Gatunki tetraploidalne wykazują zaś w obrębie gatunku duże zróżnicowanie stopnia inwersyjnej heterozygotyczności: u *P. peregrina* roślina nr 4 wykazuje najwyższy stopień heterozygotyczności w całym badanym materiale podczas, gdy pozostałe trzy zbadane rośliny wykazują niski współczynnik heterozygotyczności, podobnie i u *P. officinalis* roślina nr 14 posiada współczynnik heterozygotyczności zgórą 10-krotnie wyższy od drugiej rośliny badanej z tego samego gatunku.

Ciekawy i niespodziewany był wynik u mieszańca *P. Delavayi var. typica* x *lutea*. Przypuszczałem, iż u mieszańca tego stopień inwersyjnej heterozygotyczności będzie wyższy niż u obu form rodzicielskich. Tymczasem wynik jest przeciwny! Jak widać z tabl. nr 1 ilość chiazm w biwalencie u tego mieszańca jest trochę niższa niż u form rodzicielskich co musi spowodować oczywiście zmniejszenie ilości chiazm w inwersjach być może w większym stopniu niż na odcinkach chromozomów o układzie genów homologicznym u obu partnerów. Samo jednak nieznaczne obniżenie ilości chiazm u mieszańca nie tłomaczy wystarczająco obniżenia współczynnika inwersyjnej heterozygotyczności mieszańca w stosunku do form rodzicielskich. Widocznie jednak sam stopień heterozygotyczności musi być u niego niższy, albo też rozkład chiazm i wielkość oraz rozkład inwersji u mieszańca są takie, iż powodują powstawanie większej ilości chiazm poza inwersjami niż u form rodzicielskch. Bliższego wytłomaczenia obecnie dać nie umiem.

Badany materiał roślinny różnił się nie tylko ilościowym stosunkiem występowania chiazm w inwersjach, ale także i rozmieszczeniem

inwersji w poszczególnych typach chromozomów oraz długości fragmentów acentrycznych, co wskazuje na różnicę w rozmieszczeniu inwersyj wzdłuż chromozomów. Dokładnej analizy pod tym względem u wszystkich badanych roślin nie przeprowadziłem, a jedynie u niektórych roślin o dużej liczbie mostków inwersyjnych, z których otrzymałem odpowiednio dobre preparaty.

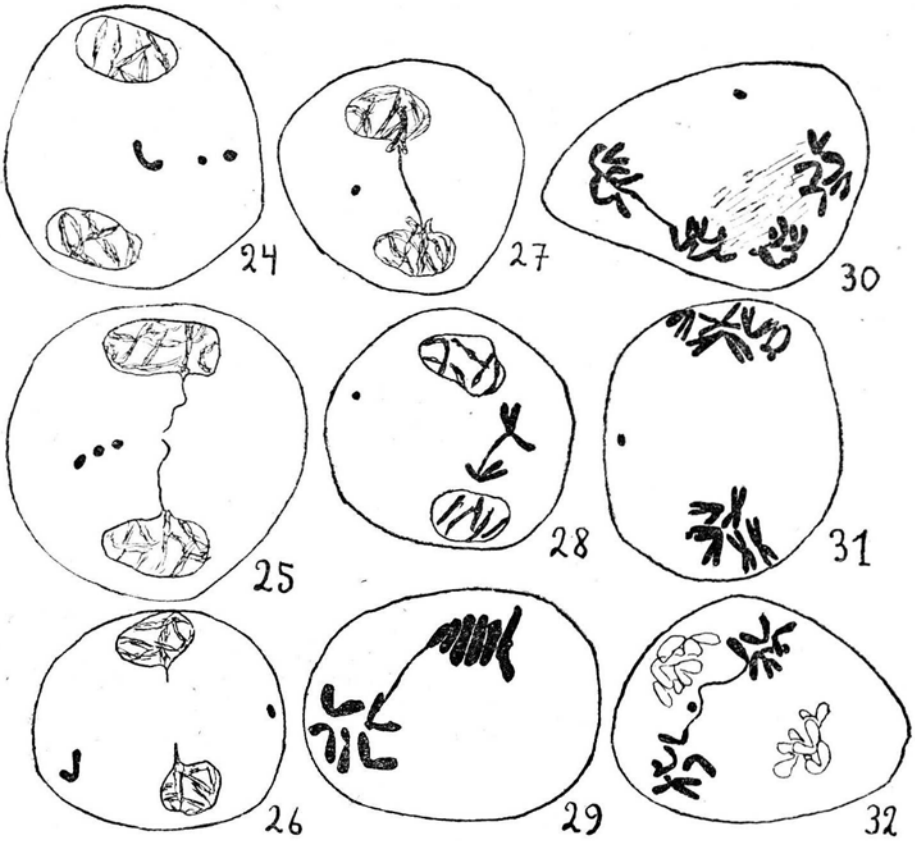
U *P. Delavayi* w odmianie typowej i *lutea* mostki najczęściej występowały w chromozomach isobranchialnych typu A, B i C co widać z równej długości wolnych ramion przy obu centromerach (rys. 14, 15, 16). Znacznie rzadziej występowały mostki w chromozomach heterobranchialnych typu D, bądź E, przy czym chiazma w inwersji zachodziła zwykle w dułgim ramieniu (rys. 17). Ponieważ nie we wszystkich mostkach da się przeprowadzić dokładną analizę długości wolnych ramion trudno jest ująć liczbowo stosunek liczbowy występowania inwersyj w różnych typach chromozomów. W każdym razie niewątpliwie formy silnie heterozygotyczne posiadają raczej kilka niewielkich inwersyj w różnych chromozomach, niż jedną długą. W kilku wypadkach stwierdziłem występowanie w jednej komórce dwóch mostków jednocześnie (rys. 18), co wskazuje również, iż inwersje znajdują się prawdopodobnie w kilku chromozomach jednocześnie. Inwersje te są raczej drobne, gdyż w całym badanym materiale znalazłem tylko jeden mostek podwójny (u *P. officinalis.* nr 14), który mógł by być uważany z pewnym prawdopodobieństwem, za wynik dwóch chiazm uzupełniających w tej samej inwersji, gdyż oba fragmenty i wolne ramiona były mniej więcej jednakowej długości (rys. 20). Pozostałe 5 mostków podwójnych (jeden u *P. Delavayi* nr 1 i u *P. Delavayi v. lutea* nr 32 oraz 3 u *P. peregrina nr 4)* (rys. nr 19), posiadały różnej długości acen-

Tabl. 3. Długość fragmentów.

Length of fragments.

Dł. fragm. w μ	1	1–2	2–3	3–4	4–5	5–6	6–7	7–8	8–9	9–10	n
P. officinalis	27	9	10	4	4	1	2	1	1	2	61
P. suffruticosa Sax 1938	11	10	10	8	9	7	4	4	4	1	68

tryczne fragmenty co wskazuje, iż powstały one zapewne w wyniku dwóch chiazm w dwóch inwersjach leżących w odrębnych ramionach. Wskazuje to, iż jeden chromozom może zawierać więcej niż jedną inwersję. Co się tyczy długości fragmentów acentrycznych to wykazują one zmienność w szerokich granicach od bardzo drobnych o długości mniejszej od jednego mikrona aż do blisko 10 mikronów długich. Dłu-



Ryc. 24 — 32. Ryc. 24 — 26. Telofaza I z licznymi fragmentami, 27 — Telofaza I z mostkiem pozostałym z anafazy, 28 — Telofaza I z mostkiem nie włączonym do jąder, 29 — Metafaza II z przetrwałym mostkiem, z poprzedniego podziału, 30 — Anafaza II z mostkiem z poprzedniego podziału, 31 — Anafaza I, gdzie 1 chromozom w górnym jądrze posiada 2 chromatydy połączone w pętle, 32 — Mostek w AII.

Fig. 24 — 32. 24—26 — Telophase I with many fragments, 27 — Telophase I with persisting bridge, 28 — Telophase I with a bridge not included to the daughter nuclei, 29 — Metaphase II with a bridge persisting from the preceding division, 30 — Anaphase II with a bridge from preceding anaphase, 31 — Anaphase I with one chromosome (in the upper nucleus) with two chromatids united in a loop, 32 — A bridge in AII.

Ryc. (Fig.)	24, 22	z (from)		*P. officinalis*
„ „	26, 29	„ „		*P. Delavayi typica*
„ „	27, 28	„ „		F_1 *Delevayi typica x lutea*
„ „	29, 31	„ „		*P. anomala*
„ „	30, 32	„ „		*P. Delevayi lutea*

gość maksimalna fragmentów zgodnie z teorią wynosi blisko dwukrotną długość długiego ramienia chromozomów typu A, B i C, co wskazuje, iż chiazma w inwersji zaszła blisko samej centromery. Pod względem liczebności poszczególnych klas długości fragmentów rozkład jest bardzo nierównomierny i najliczniejsze są zawsze fragmenty drobne. Dotyczy to zarówno *P. Delavayi*, jak i *P. lutea* oraz *P. officinalis* nr 14, gdzie zbadałem i pomierzyłem większą ilość fragmentów. Dla przykładu podaje poniżej długości 61 fragmentów u *P. officinalis* nr 14, oraz dla porównania pomiary Saxa dla *P. suffruticosa:*

Jak widzimy, roślina badana przez Saxa posiadała dość odrębny rozkład chiazm w inersjach, niż badana przez nas *P. officinalis*. Różnej długości fragmenty związane z różną grubością nici dicentrycznej są przedstawione na ryc. 14 — 16. Jak widać z długości fragmentów inwersje proximalne są raczej rzadkie co powoduje, iż długie fragmenty o długości równej podwójnej długości ramion są znacznie rzadsze od fragmentów krótkich powstałych na skutek chiazm w inwersjach distalnych. Przy chiazmie i inwersji proximalnej dicentryczna chromatydy składa się z bardzo krótkich odcinków i w czasie anafazowego rozchodzenia się zostaje silnie bardzo rozciągnięta w bardzo cieniutką nić. Na skutek dużej siły rozciągającej w pobliżu centromery, często i wolne ramiona zostają od siebie rozciągnięte, jak to widzimy na ryc. 21. Czasem takie długie fragmenty są zwinięte w pętle (ryc. 22), co jest być może wynikiem drugiej chiazmy distalnej w stosunku do chiazmy w inwersji. W anafazie, a zwłaszcza telofazie pierwszego podziału często występują fragmenty chromozomalne bez jednoczesnej obecności mostków chromozomalnych, czasem występują w ten sposób 2 lub 3 fragmenty. Fragmenty te powstawać mogą na skutek zajścia chiazmy proximalnej w stosunku do chiazmy w inwersji. Wtedy, jak wiemy w 50% wypadków, kiedy układ obu chiazm będzie niekompensacyjny, powstanie fragment acentryczny bez jednoczesnego powstania mostku w anafazie. W wypadku tym mostek powstanie dopiero w anafazie drugiego podziału (ryc. 5). Rzeczywiście w badanym przez nas materiale stwierdzono występowanie w AII tego typu mostków, co wskazuje, iż przynajmniej część z zaobserwowanych fragmentów bez mostków w AI jest tego właśnie pochodzenia. Ponieważ jednak częstość występowania fragmentów bez mostków w AI jest znacznie wyższa, niż częstość występowania mostków w AII, oraz fakt, iż nieraz w jednej komórce występuje po kilka naraz acentrycznych fragmentów, ryc. 23, 24, 25, wskazuje to, iż u *Paeonia* proces powstawania fragmentów ma oprócz chiazmy w inwersjach jeszcze jakieś inne źródło bliżej nie znane. Ten

sam fakt również podkreśla i Stebbins (1938) podając nawet obrazy fragmentacji uniwalentów. Bliżej przyczyny fragmentacji chromozomów u *Paeonia* nie udało się wyjaśnić.

Mostki zwykle pod koniec anafazy ulegają rozerwaniu tak, iż w telofazie mamy już dwa niepołączone jądra i leżący w plaźmie acentryczny fragment (rys. 26). Czasem jednak przy chiaźmie w inwersji distalnej, kiedy dicentryczna chromatyda składa się z dwóch długich odcinków, mimo znacznego rozciągnięcia nie zostaje ona rozerwana i mostek po przetrwaniu anafazy występuje i w telofazie w postaci nici chromatynowej łączącej oba jądra pochodne (ryc. 27). W nielicznych wypadkach może się zdarzyć, iż na skutek zahamowania rozchodzenia się chromozomów przez dicentryczną chromatydę oba chromozomy zostają poza jądrami telofazowymi (ryc. 28). Czasem mostki, które nie zostały rozerwane w pierwszym podziale, mogą przetrwać aż do drugiego podziału. W stadium MII można spotkać dwie płytki połączone nicią chromatynową, a nawet w AII spotyka się nici chromatynowe łączące dwa jądra, pochodzące nie z tego samego podziału co wskazuje, iż mamy do czynienia nie z właściwym dla AII mostkiem powstałym na skutek chiazmy proximalnej, lecz z mostkiem, który od AI, przetrwał aż do MII i AII. (ryc. 29 i 30).

Właściwe mostki w AII powstające z chromatydy w kształcie pętli (ryc. 31), która powstała na skutek niekompensacyjnej chiazmy proximalnej w stosunku do chiazmy w inwersji stwierdziłem u wszystkich prawie badanych roślin (tab. 2). W AII występują one zawsze tylko między dwoma jądrami pochodnymi i od mostków w AI odróżniają się tym, iż przy każdej centromerze posiadają tylko jedno wolne ramię. (ryc. 31, 33). Mostki te są znacznie mniej liczne od mostków w AI i przeciętnie stanowią od $1/4$ do $1/8$ ich ilości. Ponieważ ilość chiazm w biwalencie wynosi średnio u badanych gatunków od 1,5 do 1,8 ilość ta i tak jest nadspodziewanie duża, wskazując na częste występowanie w tym samym ramieniu chromozomu drugiej chiazmy proximalnej w stosunku do chiazmy w inwersji. Wskazywałoby to również, jak to wynika z wielkości fragmentów, iż większość inwersji występuje raczej distalnie bliżej końców ramion, przy czym raczej inwersje te muszą być niewielkich rozmiarów co zwiększa szanse powstawania drugiej chiazmy proximalnej poza inwersją.

Wyniki tych badań wskazują, iż *Paeonia Delavayi* wraz z odmianą *lutea*, *P. peregrina* nr 6, a w mniejszym stopniu i *P. anomala* są heterozygotyczne w stosunku conajmniej kilku drobnych inwersyj, umieszczonych w różnych chromozomach, przy czym zdaje się, iż większość

inwersji leży bliżej końców ramion, a inwersje proximalne są rzadsze.

Na zakończenie, chciałbym wspomnieć o innego typu nienormalnościach w mejozie u badanych roślin, które nie są związane z inwersją bezpośrednio. U wszystkich badanych gatunków *Paeonia* występują w MI oprócz biwalentów także i uniwalenty, oraz u niektórych poliwalenty. Dotyczy to przede wszystkim roślin tetrapolidalnych, gdzie w przeważającej ilości K.M.P. oprócz biwalentów spotyka się tri- lub

Ryc. 33 — 36. 33 — 2 mostki w AII w jednym jądrze, 34 — MI z 2 uniwalentami, 35 — MI z 1 triwalentem i 1 uniwalentem, 36 — MI z jednym z biwalentów poza płytką metafazową.

Fig. 33 — 36. 33 — two bridges in anaphase II in one nucleus. 34 — Metaphase I with 2 univalents, 35 — MI with one trivalent and one univalent, 36 — MI with 1 bivalent outside the metaphasal plate.

Ryc. (Fig.) 33, 35 z (from) **P. Delavayi;** 34, 36 — **P. tennifolia.**

tetrawalenty oraz 2 do 6 uniwalentów. Także i u gatunków diploidalnych często występują uniwalenty, najczęściej spotykałem je u *P. Delavayi* i *P. lutea* i ich mieszańca, u których blisko w 20% K.M.P. mamy 4 biwalenty i jedną parę uniwalentów, u pozostałych gatunków diploidalnych, komórki z uniwalentami stanowią od 3 do 10%. Uniwalenty leżą zwykle poza płytką złożoną z biwalentów, często symetrycznie ułożone po obu jej stronach (rys. 34). Podobnie jak to opisuje Stebbins (1938) nie widać wyraźnej korelacji między stopniem inwersyjnej heterozygotyczności, a występowaniem uniwalentów. Przyczyna powstawania uniwalentów wydaje się leżeć nie w obniżeniu ilości chiazm na skutek obecności inwersyj.

Poliwalenty występują u gatunków diploidalnych nadzwyczaj rzadko. Stwierdziłem dwukrotnie obecność triwalentów jedynie u *P. Delavayi* (rys. 35). Ciekawe, iż u tego również gatunku opisywali poliwalenty Dark (1936) i Stebbins (1938) przy czym Dark przypisuje ich powstanie obecności drobnych reduplikowanych odcinków chromozomalnych w niehomologicznych chromozomach, co powoduje charakterystyczne dla poliwalentów tego gatunku powstawanie wielokrotnych chiazm. Wskazywało by to na obecność u *P. Delavayi* drugiego typu mutacji strukturalnych w obrębie chromozomów.

Poza tym często można u *Paeonia* spotkać w MI biwalenty, leżące poza płytką i niezorientowane w stosunku do biegunów podziału (rys. 36). Biwalenty takie zwykle rozchodzą się z opóźnieniem w stosunku do reszty biwalentów, co może wywołać zaburzenia w przebiegu anafazowego rozchodzenia się chromozomów. Prawdopodobnie zjawisko to jest wynikiem wielkich rozmiarów chromozomów, co utrudnia im dokładne ułożenie się w płytkę. Bliżej tym zagadnieniem nie zajmowałem się.

III. Dyskusja.

Inwersje w stanie heterozygotycznym, jak widać z poprzednich badań cytologicznych Hicksa i Stebbinsa (1934), Darka (1936), Saxa (1937) i Stebbinsa (1938) występują u całego szeregu gatunków *Paeonia*.

Badania te wykazały,iż różne rośliny, należące do tego samego gatunku, badane przez różnych autorów, mogą wykazywać bardzo różny stopień inwersyjnej heterozygotyczności, jak np. *P. suffruticosa* z Arnold Arboretum badana przez Saxa (1937) posiadała ca. 12% K.M.P. z mostkami, podczas gdy rośliny z tego samego gatunku badane przez Stebbinsa (1938), a pochodzące z ogrodu Saundersa posiadały niski stopień inwersyjnej heterozygotyczności. To samo wykazują nasze badania w stosunku do *P. officinalis* i *P. peregrina*, gdzie jedna roślina posiada niski, a druga wysoki współczynnik inwersyjnej heterozygotyczności.

Toteż ciekawym jest, iż istnieją gatunki Paeonii, u których stale znajduje się pewien stopień inwersyjnej heterozygotyczności. Do takich gatunków należy w pierwszym rzędzie *P. Delavayi* wraz ze swoją odmianą *lutea* często uważaną za odrębny gatunek, a także, choć słabiej heterozygotyczna, *P. anomala*, w obrębie której również wyodrębnia się cały szereg odmian często uważanych za odrębne gatunki Wszystkie badane tu rośliny należące do tych dwóch gatunków, choć

były różnego pochodzenia, wykazały z niewielkimi odchyleniami pewien charakterystyczny dla danego gatunku stopień heterozygotyczności w stosunku prawdopodobnie do kilku stosunkowo niewielkich inwersyj. Co ciekawsze wynik ten pokrywa się również z badaniami Stebbinsa (1938), który oba te gatunki zalicza do grupy o wysokim stopniu inwersyjnej heterozygotyczności. To, iż te same gatunki hodowane przez Saundersa w Ameryce posiadają podobny stopień inwersyjnej heterozygotyczności, jak badane przez mnie w Warszawie wskazuje, iż może to być cecha charakterystyczna dla tych gatunków. Z drugiej strony zbieżność ta jest również wynikiem tego, iż takie gatunki jak *P. Delavayi* zostały w 19-ym wieku sprowadzone z Chin do Europy w nielicznych egzemplarzach, i najczęściej były rozmnażane wegetatywnie tak, iż wszystkie egzemplarze europejskie i amerykańskie przedstawiają właściwie tylko kilka klonów blisko z sobą spokrewnionych. *P. tenuifolia* i *albiflora* posiadają najniższy stopień inwersyjnej heterozygotyczności wśród badanych przez nas roślin, co również pokrywa się całkowicie z wynikami badań Stebbinsa. *P. albiflora* jest gatunkiem od dawna dla celów dekoracyjnych hodowanym i przez hodowców została otrzymana w całym szeregu odmian różniących się zwłaszcza barwą czy pełnością kwiatów. Zmienność ta ma zapewne charakter genowy i nie stoi w żadnym związku z mutacjami strukturalnymi w chromozomach.

Nie jest wykluczonym, iż zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe, jakie obserwujemy w obrębie gatunków *P. Delavayi* i *P. anomala*, jest być może w związku z większym stopniem inwersyjnej heterozygotyczności stwierdzonym dla tych gatunków. Potwierdzenie tej hipotezy wymagałoby specjalnie zaplanowanych doświadczeń genetycznych, co przy długim okresie wzrostu peonij jest sprawą trudną do przeprowadzenia. Fakt, iż mieszaniec dwóch odmian *P. Delavayi* (często uważanych za dwa odrębne gatunki) jest równie płodny, jak formy rodzicielskie, a przebieg mejozy jest bardziej normalny nawet niż u samych odmian rodzicielskich, wskazuje, iż zróżnicowanie strukturalne chromozomów wewnątrz gatunku nie stanowi w tym wypadku drogi do powstawania intersterylności w obrębie gatunku i nie może stanowić drogi do wyróżnicowywania się odrębnych gatunków, może zato jednak być przyczyną różnicowania morfologicznego wewnątrzgatunkowego na drodze zniesienia crossing-over pomiędzy różnymi segmentami homologicznych chromozomów.

Ciekawym faktem jest, iż w obu sekcjach *Paeon* i *Moutan* pochodzących ze Starego Świata, nie stwierdzono ani razu istnienia więk-

szych pierścieni chromozomalnych w mejozie, podczas gdy u *P. californica* i *Browni*, stanowiących odrębną sekcję *Onaepia* występującą w Ameryce pn., Stebbins (1939) stwierdził występowanie w mejozie pierścieni czasem złożonych z wszystkich 10 chromozomów, co wskazuje na liczne wzajemne translokacje między niehomologicznymi chromozomami. Wskazuje to, iż w tej izolowanej grupie inny typu mutacji strukturalnych odegrał rolę ewolucyjną.

Odrębne zagadnienia stanowi kompleks form tetraploidalnych nazwanych w tej pracy jako *P. officinalis* i *P. peregrina*. Gatunki te wykazują wielką zmienność cech morfologicznych tak, iż nie zawsze łatwo jest je odróżnić, i być może, w ogóle nie stanowią odrębnych gatunków. Ponieważ gatunki te od dość dawna były hodowane i mogły ulegać licznym krzyżowaniom, stanowią one bardzo trudny materiał. Także i pod względem stosunków cytologicznych stanowią bardzo niejednolity materiał; poszczególne rośliwy wykazują duże różnice w występowaniu poli- i uniwalentów, a także, jak widzieliśmy i w występowaniu mostków inwersyjnych. Gatunki te robią wrażenie amfipoliploidów między gatunkami o częściowo homologicznych chromozomach. Określenie genezy tych tetraploidów wybiega poza zagadnienie tu rozpatrywane.

Na zakończenie podam dla porównania współczynniki inwersyjnej heterozygotyczności znalezione przez Upcott (1937) dla różnych gatunków tulipanów.Podobnie jak u *Paeonia*, wśród gatunków diploidalnych, jedne posiadają wysoki stopień inwersyjnej heterozygotyczności, jak np. *Tulipa Hageri* 0,024 lub *T. orphanidea* — 0,031, inne gatunki diploidalne posiadają niski współczynnik inwersyjnej heterozygotyczności, jak np. *T. Gessneriana*, odmiana „Mrs. Moon" 0,0019 i odm. „Philippe de Commines" 0,0009. U tulipanów te gatunki, które wykazują wysoki stopień inwersyjnej heterozygotyczności (jak widzimy 2 — 3 krotnie większy niż u *P. Delavayi)* są zwykle bezpłodne i rozmnażane są jedynie wegetatywnie, podczas gdy gatunki o niskim stopniu inwersyjnej heterozygotyczności, są zazwyczaj płodne i rozmnażane mogą być z nasion. Gatunki triploidalne tulipanów posiadały jeszcze wyższe współczynniki inwersyjnej heterozygotycz- Gatunki tetra- i pentaploidalne, jak *T. Whittalii* — 0,0024, *T. silvestris* — 0,0032 i *T. Clusiana* — 0,0035, posiadały stosunkowo niskie współczynniki inwersyjnej heterozygotyczności. Ze względu na większą ilość chiazm w biwalencie u tulipanów niż u peonii ilość mostków w AII jest u tulipanów prawie równa ilości mostków w AI, podczas gdy u *Paeonia* są one znacznie rzadsze. Podobnie Frankel (1937) u różnych gatunków *Fritillaria* stwierdził, iż wśród 27 badanych przez

iego gatunków 5 tylko wykazywało znaczniejszy stopień inwersyjnej ieterozygotyczności. Cały szereg innych autorów, badających wystę-ɔowanie inwersyj w innych rodzajach, stwierdził również znaczne różnice pomiędzy gatunkami w stosunku do stopnia inwersyjnej hetero-:ygotyczności. Wszystkie te badania razem wskazują, iż podobnie, ak w obrębie *Drosophilidae*, tak i u roślin wyższych stopniowe różni-:owanie się form, a być może i gatunków odbywa się również na drolze sumowania się drobnych mutacji genowych, a także i strukturalıych, a między nimi inwersyj.

IV. STRESZCZENIE.

1. Metodą Upcott (1937) obliczono współczynniki inwersyjıej heterozygotyczności dla 30 roślin należących do 6 gatunków i jedıego mieszkańca *Paeonia* (patrz tabl. 2).

2. Gatunki doploidalne *P. Delavayi* i *P.. anomala* wykazują ı wszystkich osobników badanych pewien średni stan inwersyjnej he-:erozygotyczności, wyższy u *P. Delavayi*, niż u *P. anomala*.

3. Mieszaniec między *P. Delavayi typica* i *P. Delavayi lutea* wykazuje niższy stopień inwersyjnej heterozygotyczności, niż formy rodzicielskie.

4. Pozostałe gatunki diploidalne *P. tenuifolia* i *P. albiflora* wykazują niski stopień inwersyjnej heterozygotyczności.

5. Gatunki tetraploidalne *P. peregrina* i *P. officinalis* wykazują zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe na osobniki o dużej i małej inwersyjnej heterozygotyczności.

6. Inwersje zostały stwierdzone w różnych typach chromozomów tego samego osobnika o silnym stopniu inwersyjnej heterozygotyczności, przy czym inwersje te prawdopodobnie obejumją stosunkowo krótkie odcinki chromozomalne, umieszczone zazwyczaj terminalnie, na co wskazuje przewaga drobnych acentrycznych fragmentów.

7. Oprócz mostków chromozomalnych w AI, stwierdzono występowanie także i mostków w AII, co wskazuje na powstawanie w jednym ramieniu chiazmy proksymalnej w stosunku do chiazmy w inwersji. Ilość mostków w AII jest znacznie niższa niż w AI, co jest zgodne z ogólną niską ilością chiazm w biwalencie i co potwierdza przypuszczenie, iż większość inwersyj jest tu terminalna.

8. Oprócz opisanych mostków i fragmentów występują u badanych roślin i inne nienormalności w mejozie, nie związane z inwersjami, jak fragmentacja chromozomów, obecność uni- i poli-walentów oraz brak orientacji i zejścia się biwalentów w czasie metafazy.

TABL. 1.

1 — AI biwalent po prawej stronie z subterminalną chiazmą w inwersji.
2 — Mostek inwersyjny w chromozomie izobranchialnym.
3 — Mostek inwersyjny w chromozomie heterobranchialnym.
4 — Mostek podwójny.
5 — 2 Pojedyńcze mostki i 3 fragmenty.
6 — AI u góry po prawej stronie chromozom z 2 chromatydami połączonymi w pętle, które w AII dają mostek.
7 — MII z mostkiem z poprzedniego podziału.
8 — TII z mostkiem z drugiego podziału.
9 — TII z 2 mostkami, z których jeden pochodzi z AI, a drugi z AII.
Wszystkie fotografie z **Paeonia peregrina** Nr 4.

TABL. (PLATE) I

1. Beginning of AI with one bivalent (on the right) with subterminal chiasma in the inversion.
2. AI single bridge in isobranchial chromosome.
3. AI single bridge in heterobranchial chromosome.
4. Double bridge.
5. AI two single bridges and three fragments.
6. AI the chromosome „at 9 o'clock" with 2 chromatids united in a loop.
7. First division bridge surviving at second metaphase.
8. TII second division bridge.
9. TII two bridges: one from the second division and the other surviving from the first division.

All photographs from **Paeonia peregrina** Nr 4.

Summary.

1. The coefficients of inversions hybridity (tabl. 2) were calcuted for 20 plants belonging to 6 different species and one hybrid of *Paeonia.*

2. The diploid species *P. Delavayi* and *P. anomala* show a high degree of inversions hybridity, equal in all specimens of one species, higher in *P. Delavayi* than in *P. anomala.*

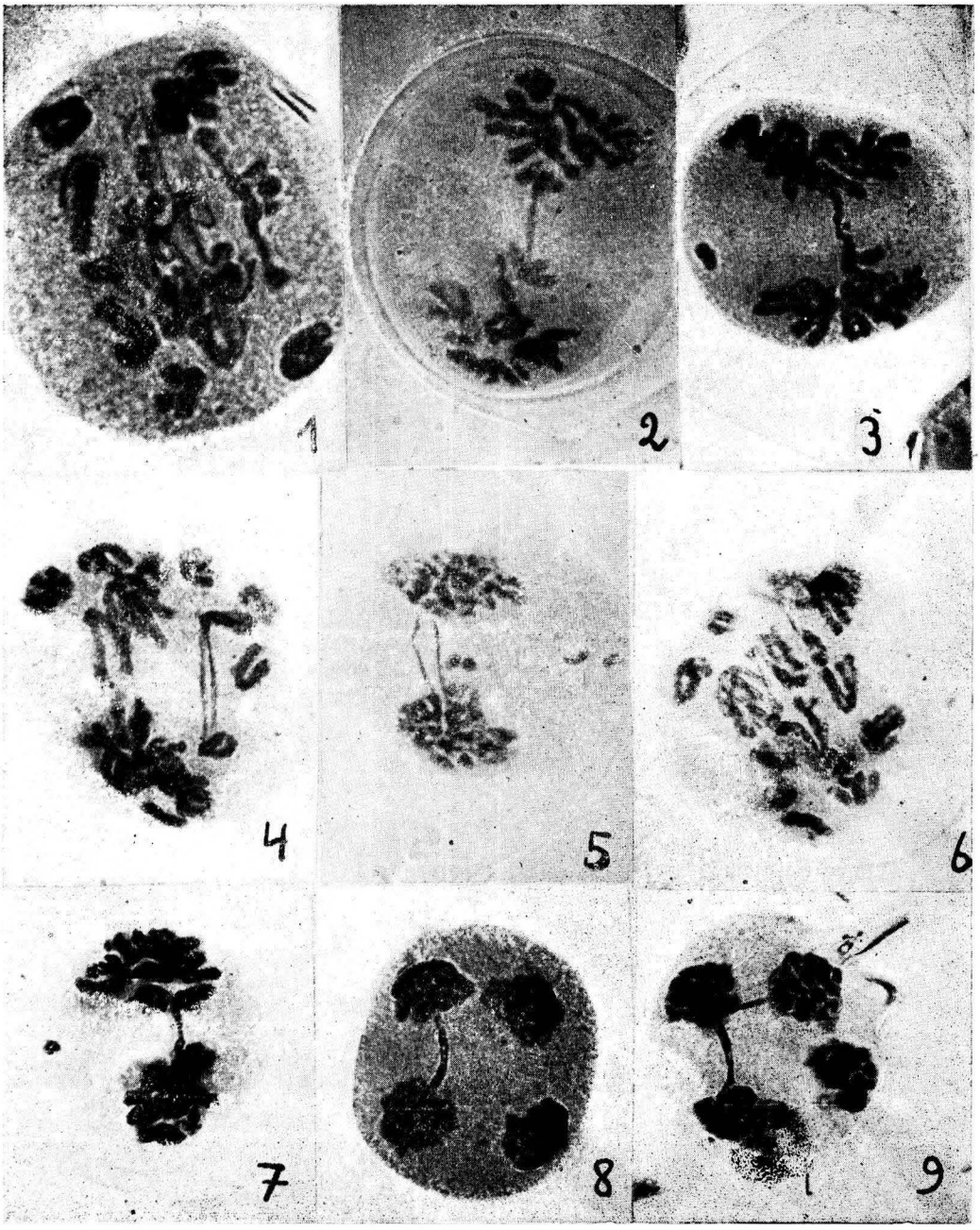
3. The hybrid between *P. Delavayi typica* and *P. Delavayi lutea* has a lower coefficient of inversions hybridity than the parental varieties.

4. The other two investigated diploid species, *P. tenuifolia* and *P. albiflora,* show a very low inversions hybridity.

5. The tetraploid species *P. peregrina* and *P. officinalis* show intraspecific differentiation as to the degree of inversions hybridity.

6. By highly heterozygous species the inverted regions are simultaneuosly present in different types of chromosomes. The inversions probably involve relatively short regions of chromosomes, which pro-

TABL. (PLATE) I



bably are located rather terminally as the prevalence of short acentric fragments seems to indicate (table 3).

7. By most of the investigated plants it was stated that beside inversions bridges in AI, also bridges at AII occur. These latter are much less numerous, which is relevant with rather low chiasmata number per bivalent in *Paeonia*. As it is inferred that most of the inversions are situated near the ends of the chromosome arms, this increases the possibility of the second chiasma to be situated proximally to the chiasma in inverted region.

8. Besides the meiotic irregularities due to chiasmata in inverted regions in all investigated plants occur also other irregularities in meiosis in P. M. C., not related to inversions, as chromosome fragmentations, the presence of uni- and polivalents and lack of orientation and congression of some bivalents at metaphase.

LITERATURA.

Carson, H. J. (1946) Genetics **31**: 95 — 113.
Dark, S. O. S. (1936) J. of. Genet. **32**: 253 — 272.
Darlington, C. D. (1936) J. of. Genet. **33**: 465 — 500.
Darlington, C. D. (1939) J. of. Genet. **37**: 341 — 564.
Darlington, C. D. a. La Cour, L. (1941) Ann. Bot. N. S. **5**: 547—562.
Frankel, O. H. (1937) J. of Genet. **34**: 447 — 462.
Hicks, C. C. a. Stebbins G. L. jr. (1934) Am. J. of. Bot. **21**: 228 — 241.
Richardson, M. M. (1936) J. of Genet. **32**: 411—450.
Saunders, A. P. a. Stebbins G. L. jr. (1939) Genetics **23**: 65—82.
Sax, K. (1932) J. Arnold Arb. **13**: 375—384.
Sax, K. (1938) Cytologia Fulji Jub. Vol. 108—114.
Sinnoto, Y. (1938) Cytologia **9**: 254—271.
Stebbins, G. L. jr. (1938) Genetics **23**: 83—110.
Stebbins, G. L. jr. a. Ellerton, G. (1939) J. of Genet. **38**: 1—13.
Sturtevant, A. A. a. Beadle, S. W. (1936) Genetics **21**: 554—604.
Upcott, M. (1937) J. of. Genet. **34**: 339—398.