Badania cyto-embriologiczne nad *Centaurea scabiosa* L.

*Cytological and embryological studies in *Centaurea scabiosa* L.*

ROMANA CZAPIK

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(Wpłynęło dn. 28.X.53 r.)

Dotychczasowe badania cytologiczne w obrębie rodzaju *Centaurea* ujawniły istnienie kilku liczb podstawowych: $x = 8, 9, 10, 11, 12$. Np. *C. solstitialis* L. posiada $2n = 16$ (cytowane wg. T i s c h l e r a 1950), *C. scabiosa* L. $2n = 20$ (P o d d u b n a j a - A r n o l d i 1931, R o y 1937, F r ö s t 1948), *C. phrygia* L. $2n = 22$ (P o d d u b n a j a - A r n o l d i 1931), *C. cyanus* L. $2n = 24$ (P o d d u b n a j a - A r n o l d i 1931). Dla gatunków pozaeuropejskich *C. macrocephala* Muss., *C. ossica*, *C. ovina* Pall. P o d d u b n a j a - A r n o l d i (1931) ustaliła liczbę $2n = 18$. W obrębie rodzaju występują także gatunki poliploidalne, których przedstawicielami są *C. Fischeri* $2n = 40$ P o d d u b n a j a - A r n o l d i 1931), *C. jacea* L. $2n = 44$, *C. collina* L. $2n = 60$ (cytowane wg Darlingtona i Janaki Ammal 1945).

Pewną różnorodność w obrębie gatunku wykazuje zgodnie z opublikowanymi wynikami badań cytologicznych *Centaurea scabiosa*. Oprócz charakterystycznej dla tego gatunku liczby $2n = 20$, ustalonej po raz pierwszy przez P o d d u b n a j a - A r n o l d i (1931) w materiale rosyjskim, a później potwierdzonej przez R o y'a (1937) dla Wysp Brytyjskich i F r ö s t a dla Skandynawii, notowano jeszcze inne liczby: F r i t s c h (1936) podaje $2n = 24$ i D a r k $2n = 14$ (cytowane wg Darlingtona i Janaki Ammal 1945). Nadto F r ö s t (1948) oprócz typowej liczby $2n = 20$ odkrył u kilku okazów skandynawskich pochodzących z wyspy Gotland i Smalandu chromosomy dodatkowe i pierścieniowe występujące w zmiennej ilości.

Wobec istniejących w literaturze cytologicznej rozbieżności, pierwszym zagadnieniem mojej pracy było ustalenie liczby chromosomów dla materiału polskiego *Centaurea scabiosa*. Drugie zagadnienie doty-

czyło szczegółów rozmnażania tego gatunku w związku z częstym występowaniem zjawiska apomiksji u przedstawicieli rodziny *Compositae*. W badaniach moich uwzględniłam obszerniej mejozę w komórkach macierzystych pyłku, budowę woreczka zalążkowego oraz pewne stadia rozwoju zarodka.

MATERIAŁ I TECHNIKA BADAŃ

Materiał użyty do badań pochodził wyłącznie ze stanowisk naturalnych. Najdalej na południe wysunięte było stanowisko w Kamionce koło Limanowej, najdalej na północ Reda na wybrzeżu Bałtyku. Pozostałe obejmowały okolice Krakowa, Tomaszowa Mazowieckiego i Tczewa. Ogółem mitozę zbadałam na roślinach z 12 stanowisk, mejozę z trzech (tabela I).

Stożki wzrostu korzeni utrwalalam płynem Navashina, pączki kwiatowe przed zanurzeniem w płynie Navashina były traktowane przez 1 min. alkoholem octowym. Stożki wzrostu krajałam na grubość $10\ \mu$ i barwiłam fioletem gencjanowym metodą Newtona zastępując olejek goździkowy roztworem fenolu w ksylolu (1 : 3).

Natomiast skrawki pączków grubości $10\text{--}12\ \mu$ barwiłam hematoksyliną żelazistą Heidenhaina, a starsze stadia woreczków zalążkowych hematoksyliną Mejera. Żywą zawartość ziarn pyłku badałam metodą acetokarminową. Rysunki wykonałam przy pomocy aparatu rysunkowego Leitz'a. Powiększenia podane są przy odnośnych figurach tekstu.

Fig. 1. *Centaurea scabiosa*. Płytki metafazowe stożków wzrostu korzeni: a — Si-kornik, b — Cieblówice ($\times 2600$).

Fig. 1. *Centaurea scabiosa*. Metaphases from root tips ($\times 2600$).

SOMATYCZNA LICZBA CHROMOSOMÓW

Somatyczną liczbę chromosomów u badanych okazów *C. scabiosa* ustaliłam na podstawie płytek metafazowych stożków wzrostu korzonków, otrzymanych z nasion kiełkowanych na płytkach Petri'ego na bibule filtracyjnej. Nasiona pochodziły z 12 stanowisk (tabela I).

Badania potwierdziły liczbę somatyczną $2n = 20$, ustaloną poprzednio przez W. P o d d u b n a j a - A r n o l d i. Chromosomy w stadium metafazy wykazują pewne zróżnicowanie dotyczące długości i morfologii (Fig. 1). Występuje wśród nich jedna para chromosomów z trabantami. Długość poszczególnych chromosomów wynosi w przybliżeniu od 2—4 μ .

ROZWÓJ ZIARN PYŁKU

Podziały mejotyczne w komórkach macierzystych pyłku zbadalam na roślinach pochodzących z trzech stanowisk: Miechów, Krzeszowice, Bielany koło Krakowa.

TABELA I

Nr stan.	Miejscowość	Stanowisko	Szer. geogr. pñ.	Mitozy 2 n	Mejozy n
3	Kamionka k. Limanowej	pastwisko	49°40'	20	—
7	Krzemionki Pdg. Kraków	wapienne skałki	50°03'	20	—
1	Sikornik Kraków	łąka	50°04'	20	—
5	Przegorzały k. Krakowa	zbocze lessowe	50°04'	20	—
8	Bielany k. Krakowa	wapienne skałki	50°04'	20	10
9	Krzeszowice	wapienne skałki	50°10'	20	10
6	Miechów	polna miedza	50°20'	—	10
10	Cieblówice k. Tom. Maz.	kartoflisko	50°31'	20	—
11	Tomaszów Mazowiecki	wapienne skałki	50°31'	20	—
14	Pelplin	przydroże	53°50'	20	—
15	Bielawki k. Tczewa	polna miedza	54°00'	20	—
13	Tczew	nasyp toru kolei	54°00'	20	—
16	Reda	droga przy torze kolejowym	54°42'	20	—

a) O g ó l n a t o p o g r a f i a p y l n i k a.

Na przekroju poprzecznym młodego pylnika widać zwykle po cztery komórki macierzyste pyłku, wypełniające ścielnie wnętrze każdej z komór pylnikowych. Od tkanki ścian zewnętrznych pylnika oddzielone są jednowarstwowym tapetum. W miarę wzrostu pylnika pomiędzy zaokrąglającymi się komórkami macierzystymi pyłku występują przestwory międzykomórkowe, a między komórkami tapetum pojawiają się szczeliny. Na obu końcach komór pylnikowych występują stale większe sku-

pienia komórek tapetum. Niektóre z komórek tapetum rozszerzają się buławkowato i wystają ponad sąsiednie do światła komór. Od stadium tetrad zaczyna się stopniowa degeneracja tapetum. W pylnikach, w których na pierwotnych ziarnach pyłku zaczyna wykształcać się egzyna, tapetum jest już wybitnie szczątkowe, poprzerywane długimi szczelinami. Miejscami nie można wyróżnić śladów błon oddzielających sąsiednie komórki.

b) T a p e t u m.

Tapetum u *Centaurea scabiosa* należy do typu ameboidalnego (S c h n a r f 1931) i nie tworzy peryplazmodium. W stadium profazy heterotypowej w komórkach macierzystych pyłku komórki jego są dwujądrowe. Jądra zajmują większą część światła wąskiej komórki. W niektórych komórkach oba jądra przylegają bezpośrednio do siebie lecz nie są zlane. W innych komórkach jądra są przypuszczalnie w podziałach: błony jądrowe są niedostrzegalne a natomiast występuje spleciona masa chromosomów ułożonych w jednej lub w dwóch płytkach metafazowych zajmujących całą szerokość komórki. Jak można sądzić z wyglądu tych płytek, liczba chromosomów w nich jest znacznie wyższa od somatycznej liczby 20. Pomiędzy dwoma płytkami stwierdziłam w paru tylko przypadkach istnienie nici wrzeciona. Zjawiska te można obserwować w tapetum w stadiach od wczesnej profazy do stadium tetrad w komórkach macierzystych pyłku. W późniejszych stadiach płytki metafazowe stają się rzadsze, jądra mniejsze w stosunku do komórki. Wewnątrz jądra występuje zmienna ilość (do siedmiu) drobnych, barwiących się jąderek. Komórki tapetum w tym stadium przeważnie są dwujądrowe, jednak spotyka się także komórki z jednym jądrem.

Obserwowane obrazy wskazują na to, że w komórkach tapetum u *C. scabiosa* zachodzi zwiększenie liczb chromosomów w jądrach bądź na drodze endomitozy, polegającej na podziale chromosomów bez podziału jądra i wytworzenia wrzeciona, bądź też na drodze zahamowania rozpoczętych podziałów mitotycznych (W i t k u s 1945, W c i ś l o 1952, M e c h e l k e 1952).

c) M e j o z a.

W różnych kwiatach jednego koszyczka znaleźć można było niekiedy wszystkie stadia mejozy od profazy do tworzenia tetrad. Natomiast w obrębie jednej komory pylnikowej komórki macierzyste pyłku znajdują się mniej więcej w tym samym stadium podziałowym.

Stadia profazy przebiegają prawidłowo. W pachytenie wyraźne są nici chromosomów i jedno lub niekiedy dwa jąderka. W miarę postępującej spiralizacji nici chromatynowe w stadium diplotenu stają się krót-

sze i w konsekwencji w stadium diakinezy wyróżnić można pary chromosomów. Znajdujemy tu stale pewne charakterystyczne konfiguracje. Trzy duże biwalenty posiadają po dwie chiazmy terminalne i występują w postaci zamkniętych pierścieni. Trzy dalsze mają po jednej chizmie terminalnej. Dwa najmniejsze z niemal kulistymi drobnymi chromosomami posiadają również po jednej chizmie terminalnej (Fig. 2).

Fig. 2—5. *Centaurea scabiosa*. Podział heterotypowy; 2 — diakineza; 3 — zgięte wrzeciono w I metafazie. Jeden z biwalentów podzielił się wcześniej od innych; 4 — wrzeciono rozdwojone; 5 — telofaza I, jeden z biegunów widziany z góry (2, 4, 5 — $\times 1300$; 3 — $\times 1730$).

Meiosis in P.M.C's of *Centaurea scabiosa*.

2 — Diakinesis; 3 — a bent I Metaphase spindle — precocious separation in one pair; 4 — a split I Metaphase spindle; 5 — one telophase plate (2, 4, 5 — $\times 1300$, 3 — $\times 1730$).

W metafazie I chromosomy zgrupowane są w 10 biwalentów, które różnią się między sobą wielkością. Zauważyć można, że jeden biwalent często dzieli się nieco wcześniej od innych (Fig. 3).

Począwszy od tego stadium dawały się obserwować pewne nieprawidłowości w przebiegu mejozy.

Ciekawe jest występowanie wrzecion zgiętych łukowato (Fig. 3), oraz robiących wrażenie jednobiegunowych. Płytki chromosomowa leży albo w środku komórki, albo zepchnięta jest ku obwodowi. Płytki metafazowe położone acentrycznie były szczególnie częste w pączkach roślin pochodzących ze stanowiska w Krzeszowicach. Jednakże w tym położeniu nie było widać jak przebiegają nici wrzeciona.

Daje się też obserwować jeszcze jeden anormalny obraz metafazy: chromosomy występują zgrupowane w dwa skupienia. Sprawiało to wrażenie wrzeciona rozdwojonego w okolicy płaszczyzny równikowej, o niciach zbiegających się koło biegunów (Fig. 4).

W stadium anafazy I obok wrzecion normalnych nadal częste były zgięte wrzeciona, ale najcharakterystyczniejszym szczegółem było niezynchronizowane rozchodzenie się chromosomów na bieguny (Fig. 6—8). W skrajnych przypadkach spotykałam figury, w których jeden z chromosomów osiągnął już biegun, podczas gdy inne znajdowały się jeszcze w położeniu bliskim płaszczyzny równikowej (Fig. 7). W innych przypad-

kach jeden lub dwa opóźniały się pozostając pomiędzy dwiema grupami chromosomów leżących już w pobliżu biegunów (Fig. 8). Nierównomierne rozchodzenie się chromosomów w anafazie I wydaje się być w opisywanych przypadkach regułą; natomiast normalne anafazy były niezmiernie rzadkie.

Fig. 6—11. *Centaurea scabiosa*. 6—8 niezynchronizowane rozchodzenie się chromosomów na bieguny we wczesnej i późniejszej anafazie I oraz w ana-telofazie. 9—11 podział homeotypowy: 9 — metafaza II wrzeciono syndiploidalne; 10—11 telofaza II: $\times 1200$;

Centaurea scabiosa. 6—8 irregular separation of the chromosomes in early and later I Anaphase and Ana-telophase. 9 — II Metaphase with a syndiploid spindle. 10, 11 — II Telophase. $\times 1200$;

Mimo tych nieregularności nie stwierdziłam w telofazie I liczby chromosomów odchylających się od typowej liczby $n = 10$ (Fig. 5). Pozwala to przypuszczać, że w pewnych przypadkach opóźnione chromosomy osiągnęły bieguny zanim zostały wytworzone błony jądrowe w interkinezie. Zgodnie z tym interkineza ma na ogół wygląd normalny, bez chromosomów pozostawionych w plazmie lub na terenie wrzeciona.

W metafazie II wrzeciona układały się prostopadłe lub równoległe do siebie. Można było znaleźć niekiedy komórki z jednym tylko szerokim wrzecionem (prawdopodobnie syndiploidalnym). Można było zidentyfii-

kować je po wielkości płytki chromosomowej, która była szersza w przekroju profilowym niż pojedyncza płytki w komórkach zawierających po dwa wrzeciona. Stadium to dało się zidentyfikować jako II metafaza, gdyż w dwu przypadkach takie komórki z jednym szerokim wrzecionem przylegały do komórek z dwoma wrzecionami, a więc znajdującymi się bezsprzecznie w stadium II metafazy. Wobec obserwowanego synchronizmu podziałów w obrębie jednej komory pylnikowej obraz taki potwierdzałby postawione przypuszczenie (Fig. 9).

Fig. 12—15. *Centaurea scabiosa*. Jedna normalna i trzy nienormalne tetrady ($\times 1200$).

One normal and three abnormal tetrads ($\times 1200$).

W anafazie II w większości komórek nici wrzecion biegły prawidłowo, lecz zdarzały się też, chociaż rzadko, wrzeciona zgięte. Obserwowałam i w tym stadium nieregularne rozchodzenie się chromosomów polegające na opóźnionym ruchu niektórych chromosomów na bieguny (Fig. 10).

W telofazie II komórki macierzyste pyłku posiadały zazwyczaj po cztery jądra, niekiedy jednak trzy lub rzadziej pięć; te nienormalne tetrazy przypuszczalnie powstały w konsekwencji zakłóceń w mejozie.

Zgodnie z tym w tetradach obserwowałam zmienną ilość pierwotnych ziarn pyłku. Najczęściej były po trzy lub cztery komórki w tetradzie, ale występowało także niekiedy pięć komórek. Niektóre z jąder były wyraźnie mniejsze nawet w przypadku gdy powstawały tylko cztery. W tetradach o pięciu komórkach zamiast czterech, zaznaczały się znaczne różnice wielkości poszczególnych komórek. Zwykle dwie były większe, mniej więcej równej wielkości, a trzy pozostałe mniejsze lub też trzy większe a dwie mniejsze. Spotykałam też tetrazy z trzema komórkami równej wielkości, a czwartą małą (Fig. 13—15). Takie drobne komórki dają zapewne początek zdegenerowanym ziarnom pyłku.

d) B a d a n i e w y k s z t a ł c o n e g o p y ł k u.

Wobec zaobserwowanych nieregularności podziałów mejotycznych należało oczekiwać występowania pewnego procentu zdegenerowanych ziarn pyłku w rozwiniętych kwiatach. Zbadanie pyłku okazów zielnikowych pozwoliło stwierdzić rzucającą się w oczy różnicę wielkości ziarn pyłku. Po zadaniu acetokarminem stwierdziłam, że wszystkie ziarna drobniejsze nie barwiły się, miały zatem zdegenerowaną zawartość. Dwa wyraźnie karłowate ziarna martwego pyłku, znalezione u rośliny pochodzącej ze stanowiska w Bielanych, miały wymiary: $17,85 \times 17,85 \mu$ i $25,99 \times 17,85 \mu$. Wśród większych ziarn występowały również ziarna bez treści żywej. Ziarn olbrzymich nie spotkałam, pomimo że należałoby ich oczekiwać wobec znalezienia w mejozie wrzecion syndiploidalnych, zresztą bardzo rzadkich. (Tabela II). Procent pyłku zdegenerowanego okazał się wysoki: od około 65—30%.

Że nie u wszystkich okazów *C. scabiosa* mogą występować tak liczne zdegenerowane ziarna pyłku świadczy fakt, że badając w materiale z ubiegłego roku pyłek pochodzący z dwu roślin z okolic między Pławnem a Gidlami, stwierdziłam u jednej z nich pyłek zupełnie normalny z żywą zawartością; u drugiej natomiast rośliny pyłek martwy występował w znacznym procencie.

WORECZEK ZALAŻKOWY

Zalążek u *C. scabiosa* jest odwrócony (anatropowy). Nucellus jednowarstwowy, bardzo cienki, krótkotrwały, ginie w okresie podziału redukcyjnego.

Integument pojedynczy w stadium rozwiniętego woreczka zalążkowego zróżnicowany jest histologicznie na trzy warstwy odróżniające się

TABELA II
Średnica ziarn pyłku w μ mierzonych w acetokarminie i glicerynie
(sześć próbek pyłku)

Stanowisko		28 μ	30 μ	32 μ	34 μ	36 μ	38 μ	40 μ	42 μ	44 μ	46 μ	Razem
Krzemionki Podgórskie	ziarna norm.	—	—	—	33	—	52	3	38	1	—	127
	ziarna zdeg.	—	12	2	36	3	9	—	—	—	—	62
Przegorzały	ziarna norm.	—	—	—	17	1	19	2	8	5	—	52
	ziarna zdeg.	6	11	1	38	3	7	—	—	—	—	66
Bielany	ziarna norm.	—	3	—	17	6	35	3	29	6	—	99
	ziarna zdeg.	—	10	2	32	—	22	1	—	—	—	67
Krzyszowice	ziarna norm.	—	2	—	18	—	22	2	27	5	—	76
	ziarna zdeg.	—	15	3	20	4	6	1	2	—	—	51
Cieślówice	ziarna norm.	4	16	2	25	3	13	1	8	1	—	73
	ziarna zdeg.	4	22	6	19	7	14	—	3	—	—	75
Reda	ziarna norm.	—	—	—	3	1	10	—	9	3	—	26
	ziarna zdeg.	—	8	4	20	4	13	—	2	—	—	51

od siebie kształtem komórek i barwliwością. Warstwa zewnętrzna przyciśnięta do tkanki otaczającej załazek, tworzy epidermis intergumentu. Na przekroju przedstawia się ona jako pojedyncza warstwa wąskich długich komórek o słabej barwliwości. Pod epidermis leży wielowarstwowa tkanka złożona z drobnych sześciennych komórek nieco silniej barwiących się. Głębsza partia integumentu odznacza się silną barwliwością i stosunkowo dużymi komórkami, z wyjątkiem grupy małych komórek u podstawy antypod. Pozostałe komórki dają stopniowe przejście od komórek mniej więcej sześciennych z jądrem i treścią plazmatyczną, do wydłużonych z degenerującą zawartością wewnętrzną. Całkowita degeneracja komórek zaczyna się od okolic bocznych dojrzałego woreczka załazkowego. W stadium zarodka z zaznaczającymi się liścieniami wewnętrzną warstwę integumentu stanowi poszarpana tkanka z dużymi wolnymi przestrzeniami, powstałymi na miejscu degenerujących komórek.

Cechą charakterystyczną załazka u *Compositae* dającą się obserwować i u *C. scabiosa* jest dobrze wykształcone integumentalne tapetum otaczające woreczek załazkowy. Ośmiodrowy woreczek załazkowy oto-

czony jest zupełnie wyraźną pojedynczą warstwą komórek, które odznaczają się równym uszeregowaniem, a poza tym nie różnią się zabarwieniem ani kształtem od sąsiednich komórek integumentu.

Integumentalne tapetum dojrzałego woreczka zalążkowego tworzą komórki wydłużone, wąskie, ściśle do siebie przylegające, ułożone w 1—2 warstwach. Błony ich barwią się równie silnie jak wewnętrzna warstwa integumentu. Między komórkami tymi zaznaczają się dwie przerwy na biegunach woreczka. Na biegunie mikropylarnym w wolną przestrzeń wchodzi szyjki synergid. Przez drugą lukę woreczek zalążkowy komunikuje się z chalazą za pośrednictwem dolnej antypody.

Nie udało mi się prześledzić dalszych stadiów rozwoju i zaniku integumentalnego tapetum. W stadium zarodka o zaznaczających się liścieniach zauważyłam resztki niszczących, bardzo drobnych komórek integumentalnego tapetum w okolicy mikropylarnej.

Integumentalne tapetum wyznacza kształt woreczka zalążkowego. Młody ośmiodrdowy woreczek zalążkowy ma kształt wrzecionowaty, rozszerzony w środku. Dojrzały woreczek zalążkowy po powstaniu jądra bielmowego ma kształt biskoptowaty. Zwężenie w części centralnej może być tak znaczne, że na niektórych przekrojach komórki integumentalnego tapetum leżące po przeciwnych stronach woreczka, stykają się ze sobą. Jednak kontakt między mikropylarną a chalazalną częścią woreczka zalążkowego jest zawsze zachowany, chociaż w skrajnych przypadkach ma postać wyraźnego przewężenia.

Wielkość woreczka zalążkowego po połączeniu się jąder biegunowych dochodzi do $\frac{1}{5}$ długości zalążka (Fig. 19). W stadium młodego zarodka z zaznaczającymi się liścieniami końcowe odcinki przestrzeni zajętej przez endospermę dochodzą do $\frac{2}{3}$ długości zalążka.

Woreczek zalążkowy u *C. scabiosa* jest ośmiodrdowy (Fig. 16). Aparat jajowy składa się z dwu wydłużonych synergid, których końce wnikają w mikropyle, a podstawy rozszerzają się ku wnętrzu woreczka zalążkowego; bezpośrednio pod nimi leży duża komórka jajowa (Fig. 17). Jądra biegunowe znajdują się w środku woreczka (Fig. 16). Łączą się one we wczesnym stadium i wówczas jądro bielmowe umieszcza się pod aparatem jajowym (Fig. 17).

Antypody występują tu stale w typowej liczbie trzech (Fig. 18). Kształt dolnej antypody pozostaje w związku z zadaniem odżywiania woreczka zalążkowego. Jest ona większa od pozostałych, często dwujądrowa. Umieszczona jest w przerwie między komórkami integumentalnego tapetum, komunikując się swą dolną częścią z luźną tkanką integumentu. Komórki, z którymi łączy się bezpośrednio są drobne, czworokątne, wyraźnie odcinające się od pozostałych długich komórek wewnętrznej partii integumentu. Całość sprawia wrażenie antypodalnego

Fig. 16—19. *Centaurea scabiosa*. 16 — ośmiojądrowy woreczek zalążkowy; 17 — aparat jajowy; 18 — starsze stadium antypod, dolna antypoda dwujądrowa. 19 — schemat zalążka: 1. ściana zalążni, 2. epidermis integumentu, 4. wewnętrzna partia integumentu, 3. zewnętrzna partia integumentu, 5. dojrzały woreczek zalążkowy (16, 17, 18 — $\times 360$; 19 — ok. $20\times$).

Centaurea scabiosa. 16 — eight-nucleate embryosac; 17 — egg-apparatus; 18 — antipodals ($\times c. 360$). 19 — outlines of the ovule in the ovarium (1), integumental epidermis (2), external layers (3) and internal layers (4) of the integumental tissues, the mature embryosac (5) ($\times c. 20$).

haustorium. W jednym z woreczków zalążkowych nie mogłam wyróżnić zarysów ścian drobnych komórek chalazalnych. W jednolitej masie cytoplazmy widać było liczne jądra. Otaczające je wydłużone komórki integumentu nie wykazywały degeneracji (Fig. 23). Antypody rozwijają się jednocześnie z innymi elementami woreczka zalążkowego. Bezpośrednio po zlanie się jąder biegunowych są już dobrze wykształcone

z dużymi jądrami. Antypody trwają bardzo długo. Obserwowałam je jeszcze w obecności zarodka o wykształconych już liścieniach, gdy utraciły bezpośredni kontakt z degenerującymi komórkami integumentu

Fig. 20—23. *Centaurea scabiosa*. 20 abc — trzy kolejne przekroje woreczka o zwiększonej do ok. 16 liczbie jąder; 21 — niespolaryzowane jądra w woreczku zalążkowym; 22 — zdegenerowany gametofit żeński; 23 — antypodalne haustorium ze zniszczonymi błonami komórek chalazalnych. Trzecia antypoda na następnym przekroju (20, 21 22, — ok. 100 $\times$; 23 — ok. 360 $\times$).

Centaurea scabiosa. 20 a, b, c, Three sections through an abnormal embryosac with c. 16 nuclei; 21 — abnormal embryosac (failure of polarisation); 22 — abortion of the female gametophyte. 23 — antipodal haustorium and chalazal cells with destroyed cell-walls (20, 21, 22 c. 100 $\times$; 23 — c. 360 $\times$).

i kiedy zadanie dostarczania pokarmu dla zarodka przejęła endosperma. W tym przypadku dolna antypoda była także dwujądrowa.

W większości zalążków woreczki zalążkowe były normalne. Jednak w rzadkich przypadkach w badanym materiale dały się obserwować anormalne woreczki zalążkowe.

W dwu przypadkach były to woreczki, w których gametofit uległ degeneracji. Szersze niż normalne integumentalne tapetum otaczało światło woreczka zacieśnione do wąskiej szczeliny (Fig. 22).

W innym woreczku zalążkowym obserwowałam w stadium czterojądrowym brak polaryzacji typowej dla tego stadium. Cztery jądra skupione razem, leżały w środku woreczka zalążkowego. W sąsiednich zalążkach jądra zgrupowane już były na obu biegunach. W nienormalnym tym zalążku integumentalne tapetum było w większej części zniszczone. Brzegi woreczka zalążkowego otaczały komórki poszarpane ze słabo zaznaczającymi się błonami komórkowymi (Fig. 21).

W tym samym koszycku znalazłam drugi anormalny woreczek zalążkowy, o większej liczbie jąder, niż w typowych woreczkach. Rozpuścił on i zniszczył $1/4$ komórek integumentalnego tapetum oraz partię komórek wewnętrznej warstwy integumentu, dochodząc do następnej jego części. W tym miejscu szerokość woreczka równała się szerokości dwu normalnych woreczków zalążkowych. W okolicy mikropylarnej oraz po stronie gdzie woreczek nie rozszerzał się, integumentalne tapetum rozwinięte było normalnie jak w tym stadium rozwoju zalążka. Woreczek ten prawdopodobnie był w stadium odpowiadającym woreczkowi ośmiojądrowemu przed połączeniem się jąder biegunowych. Zidentyfikowałam w nim około 16 odrębnych jąder względnie komórek. Trzy komórki odpowiadające aparatowi jajowemu miały wygląd degenerujących. Leżały pod mikropylem jedna pod drugą, a plazma ich zabarwiła się intensywnie na ciemny kolor. Trzy inne jądra leżały w szeregu obok siebie na biegunie mikropylarnym uchyłka przylegającego do zewnętrznej partii integumentu. Dwa względnie trzy jądra zajmowały położenie centralne; pozostałe umieszczone były pojedynczo pod ścianami woreczka, jedno z nich na biegunie chalazalnym (Fig. 20 a, b, c).

Rozwój endospermy mogłam obserwować w woreczkach zalążkowych, w których zarodek zaczynał wykształcać liścienie. Endosperma jest typu nuklearnego. Jej wolne jądra otaczają zarodek, występują w uchyłkach woreczka i ciągną się pasmami przez środek jego światła. W uchyłkach i w sąsiedztwie zarodka obserwować można wcześniejsze stadia mitozy — płytki metafazowe i telofazowe, natomiast w kierunku ścian woreczka znajdujemy starsze stadia podziałowe; występują tu partie jąder z widocznymi między nimi fragmoplastami a następnie obłonione już komórki (Fig. 25).

Fig. 24—25. *Centaurea scabiosa*. 24 — starszy zarodek ($\times 270$); 25 — podziały mitotyczne w endospermie ($\times 610$).

Centaurea scabiosa. 24 — an older embryo ($\times 270$); 25 — mitotic divisions in the endosperm ($\times 610$).

Komórki endospermy występują na obwodzie woreczka, oraz miejscami tworzą małe skupienia w jego wnętrzu. Warstwy tych komórek wykreślają granice woreczków zalążkowych, pofałdowanych licznymi uchyłkami. Większa część światła woreczków pozostawała jednak w badanych przypadkach jeszcze niewypełniona. W luce między komórkami granicznymi endospermy, daleko od zarodka znajdują się trzy drobne, niszczące antypody. Mimo dość licznych płytek metafazowych w endospermie, nie udało mi się sprawdzić liczby chromosomów, ponieważ były zbyt słabe.

Cztery zbadane starsze zarodki wykształcone były całkowicie normalnie. Komórki ich przechodziły różne stadia podziałowe. Wieszadełka były dobrze wykształcone. Dowodzi to, że zarodki te rozwinęły się z komórek jajowych (Fig. 24).

Próby kiełkowania nasion wykazały ich wielką żywotność. Zdrowe nieuszkodzone przez pasożyty nasiona kiełkowały szybko na płytkach Petri'ego w 75% (przeciętnie 3—8 dni).

DYSKUSJA

Zbadanie liczby chromosomów w polskim materiale *Centaurea scabiosa* było interesujące ze względu na notowane w literaturze cytologicznej rozbieżności.

Liczbę $2n = 20$ ustaliła po raz pierwszy *Pod dub n a j a - A r n o l d i* (1931), a następnie została ona potwierdzona przez *R o y'a* (1937) i *F r ö s t a* (1948). Ta sama liczba występuje również w badanym przez mnie materiale polskim.

Natomiast *D a r k* (niepubl.) podał $2n = 14$, a *F r i t s c h* (1935) $2n = 24$ (cytowane wg. *D a r l i n g t o n a* i *J a n a k i A m m a l*). Nadto *F r ö s t* znalazł wśród okazów skandynawskich rośliny z dodatkowymi chromosomami B, widocznymi w postaci drobnych kulistych ciałek. Oprócz nich stwierdził też obecność chromosomów pierścieniowych. Chromosomy dodatkowe i pierścieniowe występowały w zmiennej ilości u różnych osobników, liczba ich ulegała wahaniom nawet w obrębie tkanek jednej rośliny. W materiale rosyjskim *Pod dub n a j a - A r n o l d i* zaobserwowała raz jeden płytkę z czterema drobnymi fragmentami, które zinterpretowała jako pochodzące z fragmentacji chromosomu. Pozostałe 19 chromosomów, jak również płytki w sąsiednich komórkach były normalne. Te fakty nasuwają przypuszczenie, że liczba $2n = 24$ znaleziona przez *F r i t s c h a* może przedstawiać normalny kompleks z czterema dodatkowymi chromosomami. Natomiast notowana przez *D a r k a* liczba 14 pozostaje niewyjaśniona. Interpretacja jest tu szczególnie trudna z tego względu, że w obrębie rodzaju *Centaurea* występują, jak wzmiankowałam poprzednio, różne liczby podstawowe. *C. scabiosa* należy do grupy gatunków z liczbą podstawową $x = 10$. Tę samą liczbę podstawową posiada gatunek środkowo-europejski *C. calcitrapa* (*V i g n o l i* 1945, *H e i s e* i *W h i t a k e r* 1948 — cyt. wg. *T i s c h l e r a* 1950) oraz zbadany przeze mnie ostatnio gatunek *C. rhenana* *Boreau* (*C. maculosa* Lam. subsp. *Rhenana* (*Boreau*) *Gugler*) (niepubl.).

Wszystkie zbadane przeze mnie okazy *C. scabiosa* z materiału polskiego były ściśle diploidalne ($2n = 20$), bez chromosomów dodatkowych czy pierścieniowych.

Pomimo tej całkowicie prawidłowej liczby chromosomów w merystemach korzonków, u badanych przeze mnie okazów dawały się obserwować pewne zakłócenia w mejozach w komórkach macierzystych pyłku i w konsekwencji występował pewien procent zdegenerowanego pyłku. Zjawiska te nie były obserwowane przez *Pod dub n a j a - A r n o l d i* (1931), która opisała całkowicie prawidłowy przebieg obu podziałów meiotycznych.

Zakłócenia występowały u wszystkich zbadanych przeze mnie roślin pochodzących z trzech różnych stanowisk. Nierównomierne rozchodzenie się chromosomów w anafazie I i II, zgięte i rozdwojone wrzeciona w I metafazie, wrzeciona syndiploidalne w II metafazie prowadziły do zwiększenia ilości komórek w stadium tetrad. Stwierdzenie 30—65% zdegenerowanego pyłku w kwiatach u sześciu innych zbadanych przeze

mnie cytologicznie roślin, z różnych odległych stanowisk (Tab. I) pozwala przypuszczać, że obserwowane zakłócenia są stosunkowo częste u przedstawicieli badanego gatunku.

Zakłócenia prowadzące do produkcji martwego pyłku były wielokrotnie opisywane w literaturze cytologicznej. Najczęściej występują one u mieszańców, mogą też być indukowane u roślin nie będących mieszańcami działaniem warunków zewnętrznych, nagłymi zmianami temperatury, promieniami Roentgena oraz bodźcami chemicznymi.

Zgięte wrzeciona w I metafazie powstają przypuszczalnie wówczas, gdy nici ich są za długie w stosunku do średnicy komórki. Opisuje je Sharp (1934) w podręczniku cytologii. W Polsce zgięte wrzeciona zaobserwowała Prywer (1931) jako jedną z anomalii mejozy u hodowanego buraka cukrowego. Autorka przypuszcza, że przyczyną obserwowanych zakłóceń były skoki temperatury i cytuje wyniki szeregu badaczy, którym udało się wywołać w ten sposób zakłócenia podziałów meiotycznych w komórkach macierzystych pyłku.

Wrzeciona syndiploidalne, których konsekwencją jest powstanie olbrzymich (diploidalnych) ziarn pyłku opisał Karpechenko (1927) dla mieszańca *Raphanus sativus* $\times$ *Brassica oleracea* oraz Skalińska (1938) u aneuploidalnej *Aquilegia* pochodzenia mieszańcowego.

Nieprawidłowe rozchodzenie się chromosomów spotykane jest często w komórkach roślin o aneuploidalnej liczbie chromosomów lub posiadających fragmenty chromosomów. Zjawiska takie występowały u aneuploidalnej *Aquilegia* z jednym lub z dwoma dodatkowymi chromosomami (Skalińska 1938). Dodatkowe chromosomy ulegały tu niekiedy eliminacji tworząc mikrocyty. Jako skutek aneuploidalności podaje również Hagerup (1947) tworzenie dodatkowych karłowatych ziarn pyłku przez aneuploidalne typy w obrębie pewnych gatunków storczyka *Epipactis*.

Jednakże zakłócenia w mejozie u *C. scabiosa* nie mogą być wyjaśnione przez żadne z powyżej omówionych przyczyn. Przyczyny tych anomalii pozostają w gruncie rzeczy niezbrane.

U niektórych gatunków roślin degeneracja pyłku wiąże się z ich apomiktycznym sposobem rozmnażania. Jak wiadomo w rodzinie *Compositae* zjawisko to występuje stosunkowo często np. w obrębie rodzaju *Hieracium*, *Taraxacum*, *Crepis* (Schnarf 1929, Gustafsson 1947). Nieregularne mejozy w komórkach macierzystych pyłku obserwowane były przez Bergmana (1935) na kilku okazach *Leontodon hispidus*, zjawisko to było związane z występowaniem w zalążkach dodatkowych woreczków aposporycznych. Wobec tego w badaniach moich nad *C. scabiosa* wzięłam również pod uwagę możliwość apomiksji u tego gatunku. Jednakże ogromna większość zbadanych przeze mnie zalążków

w pączkach i rozwiniętych kwiatach posiadała normalnie wykształcone woreczki zalążkowe, bez dodatkowych woreczków aposporycznych. Na ogół zatem wyniki moich badań dotyczące zalążków zgadzały się z opisem podanym przez P o d d u b n a j a - A r n o l d i. Anomalie przedstawiały jedynie nieliczne wyjątki.

W dwóch zalążkach zaobserwowałam całkowity brak woreczków zalążkowych. Być może nastąpiła tu degeneracja makrospory, podobnie jak to występuje u pewnych mieszańców (S k a l i Ń s k a 1928). Inną anomalią raz tylko obserwowaną, był brak polaryzacji w stadium czterech jąder. Zjawisko takie stosunkowo często występuje u apomiktycznej rośliny *Ochna serrulata* (C h i a r u g i i F r a n c i n i 1930). Opisał je również B e r g m a n (1935) dla niektórych woreczków aposporycznych *Leontodon hispidus*. Natomiast anomalia polegająca na występowaniu woreczków o zwiększonej liczbie jąder (znaleziona raz jeden w moim materiale) nie jest ograniczona wyłącznie do roślin apomiktycznych. Taki twór przedstawia prawdopodobnie podwójny woreczek zalążkowy.

Zbadanie starszych zalążków z rozwijającymi się zarodkami pozwoliło stwierdzić, że były one umieszczone typowo na biegunie mikropylarnym i miały normalnie wykształcone wieszadełko. Dowodzi to, że rozwinęły się one z komórki jajowej, a nie na drodze aposporii.

Dla rozstrzygnięcia, czy typowe ośmioletkowe woreczki zalążkowe rozwinęły się z normalnych (haploidalnych) makrospor, należałoby zbadać przebieg podziałów mejotycznych w zalążkach. Tych stadiów jednak nie zdołałam znaleźć w moim materiale. Jak wiadomo, zakłócenia w mejozie mogą prowadzić do wytworzenia diploidalnych gametofitów, dzięki ominięciu podziału redukcyjnego. W takich przypadkach diploidalna komórka jajowa zdolna jest do rozwoju partenogenetycznego.

STRESZCZENIE

1. Na podstawie badań cytologicznych nad *Centaurea scabiosa* z 12 naturalnych stanowisk w Polsce, potwierdzona została charakterystyczna dla tego gatunku liczba chromosomów $2n = 20$, bez występowania chromosomów dodatkowych lub pierścieniowych.
2. W mejozach komórek macierzystych pyłku zbadanych dokładnie na roślinach z trzech różnych stanowisk, stwierdzone zostały następujące anomalie:

I. W podziale heterotypowym:

- 1) opóźnienia w rozchodzeniu się chromosomów na bieguny w anafazie,
- 2) wrzeciona zgięte,
- 3) wrzeciona rozdwojone (rzadkie).

II. W podziale homeotypowym:

- 1) opóźnienia w rozchodzeniu się chromosomów na bieguny,
- 2) wrzeczona zgięte (rzadsze niż w podziale heterotypowym),
- 3) wrzeczona syndiploidalne.

Jako skutek tych zaburzeń obserwowano zmienną ilość jąder (3—5) w tworzących się tetradach, różnice w wielkości ziarn pyłku oraz 30—65% martwych ziarn pyłku. Przyczyna tych zakłóceń pozostaje nieznana.

3. Komórki tapetum posiadają jądra poliploidalne, które powstają prawdopodobnie przez endomitozę lub na skutek zahamowania mitoz.
4. Gametofit żeński (woreczek zalążkowy wtórny) na ogół jest zbudowany normalnie, w głównych zarysach podobny do opisanego przez P o d d u b n a j a - A r n o l d i.

Wystąpiły trzy przypadki anormalnych woreczków zalążkowych:

- a) dwa woreczki zalążkowe ze zdegenerowanym gametofitem,
 - b) brak polaryzacji w woreczku zalążkowym o czterech jądrach,
 - c) woreczek zalążkowy o ilości jąder zwiększonej do ok. 16.
5. W późniejszych stadiach rozwoju nasion obserwowane były normalnie wykształcone zarodki, opatrzone wieszadelkiem, pogrążone w endospermie. Obecność wieszadelka świadczy, że zarodek powstał z komórki jajowej a nie na drodze apomiksji.

Praca niniejsza wykonana została w latach 1951/52 w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego.

W tym miejscu składam gorące podziękowanie Kierownikowi Zakładu Pani Prof. dr. M. Skalińskiej za pomoc i cenne wskazówki, oraz za stałe zainteresowanie moją pracą okazywane mi w czasie przeprowadzania badań.

SUMMARY

This paper gives the results of cytological and embryological studies in *Centaurea scabiosa* L. The material has been collected in 12 natural habitats in northern, central and southern parts of the Polish plain.

Studies of root-tip mitoses have confirmed the somatic number 20 established by P o d d u b n a j a - A r n o l d i (1931) and found subsequently by a number of authors in plants from other geographic areas. Neither B-chromosomes nor ring-chromosomes described by F r ö s t (1948) for Scandinavian specimens have been found in the

plants from Poland. In spite of this exactly diploid number, the study of meiosis in P. M. C's of plants from three different habitats has revealed frequent irregularities; in the heterotypic division bending or, in rare instances, splitting of the spindle at I. Metaphase were observable (Fig. 3, 4); at I. Anaphase a delayed or irregular separation of the paired chromosomes was frequent. Despite these irregularities, in most cells all chromosomes were finally included into the daughter-nuclei leading to a normal two-nucleate interkinesis. In the II division again bent spindles and an irregular distribution of the chromosomes could be occasionally observed. In rare instances cells with only one broad spindle (probably formed by syndiploidy) were found at II. Metaphase (Fig. 9, 10). Owing to the meiotic disturbances in the tetrad stage 3 to 5 microspores of unequal size were formed, and the mature pollen contained a proportion of abortive pollen grains ranging from 30 to 65%.

It may be inferred from the studies concerning the embryosac of *C. scabiosa* that it represents a normal sexual species. As already described by P o d d u b n a j a - A r n o l d i (1931) the mature embryosac is of the normal type (Fig. 16). In contrast with some other *Compositae*, e. g. *Hypochoeris uniflora*, it was noted that the antipodals are of long duration; they are still persisting after the beginning of the seed development. In more advanced stages the embryos are visible always in the micropylar region of the ovule; their position and the occurrence of suspensors show that they have arisen from the egg-cell (Fig. 24).

Abortive or abnormal embryosacs have been found only in rare instances. One of the ovules contained a presumably double embryosac with about 16 nuclei. Three were grouped in the micropylar region; they manifested signs of degeneration; the remaining nuclei were irregularly dispersed in the notably enlarged cavity of the embryosac (Fig. 20a, b, c.) This embryosac shows a defective differentiation of its components. In one instance an abnormal embryosac in the four-nucleate stage with four nuclei grouped in the centre was found. The developmental abnormality consisted here in the failure of polarisation. (Fig. 21). Similar phenomena occur frequently in the course of development of embryosacs in some apomictic plants, e. g. in *Ochna serrulata* (C h i a r u g i and F r a n c i n i 1930).

The present study has been carried out in the years 1951—52 in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the University of Krakow. I am deeply indebted to Professor M. S k a l i ń s k a, Head of the Institute, for her constant interest in my investigations as well as for valuable advice and suggestions during the course of my work.

LITERATURA

- Bergman B. 1935. Zytologische Studien über die Fortpflanzung bei den Gattungen *Leontodon* und *Picris*. Sv. Bot. Tidskr. 29. 155—301.
- Chiarugi A. i Francini E. 1930. Apomissia in *Ochna serrulata* Walp. Nuovo Giornale Botanico Italiano. N. s. 37. 1—250.
- Dahlgren K. V. O. 1924. Studien über die Endospermibildung der Kompositen. Sv. Bot. Tidskr. Bd. 18. H. 2. 178—203.
- Darlington C. D. and Janaki Ammal E. K. 1945. Chromosome Atlas of cultivated plants. London.
- Fröst S. 1948. B and ring chromosomes in *Centaurea scabiosa*. Hereditas 34. 255—256.
- Gustafsson A. 1946-47. Apomixis in higher plants. Part III. Biotype and species formation. Lund. Univ. Arskr. 43.
- Hagerup O. 1947. The spontaneous formation of haploid, polyploid, and aneuploid embryos in some orchids. Det. Kgl. Danske Videnskabernes selskab. Biologiske Meddelelser. Bind. 10. 9. 1—22.
- Hegi G. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Tom 6. 2. München.
- Mechelke F. 1952 Die Entstehung der polyploiden Zellkerne des Antherentapetums bei *Antirrhinum majus* L. Chromosoma. Bd. 5. S. 246—295.
- Poddubnaja-Arnoldi W. 1931. Ein Versuch der Anwendung der embryologischen Methode bei der Lösung einiger systematischer Fragen. Bot. Zbl. 48. 141—237.
- Prywer Cz. 1931. Badania cytologiczne nad burakiem cukrowym (*Beta vulgaris* L. v. *saccharifera*). Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 8. 19—46.
- Roy B. 1938. Chromosome numbers in some species and hybrids of *Centaurea* J. Genet. 35. 89—95.
- Schnarf K. 1929. Embryologie der Angiospermen. Berlin.
- Schnarf K. 1931. Vergleichende Embryologie der Angiospermen. Berlin.
- Sharp L. 1934. Introduction to Cytology. New York and London.
- Skalińska M. 1928. Études sur la Sterilité partielle des Hybrides du Genre *Aquilegia*. Verh. d. 5 Intern. Kongr. f. Vererbungswiss. Berlin 2. 1343—1372.
- Skalińska M. 1938. Cytogenetic Studies in Aneuploid types of *Aquilegia*. Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres. Serie B. 33—58.
- Szafer Wł., Kulczyński St., Pawłowski B. 1924. Rośliny polskie. Lwów-Warszawa.
- Tischler G. 1950. Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. Hage.
- Weislo H. 1952. Cytological and embryological studies in *Doronicum* L. Bull. Int. Acad. Pol. Sc. Seria B. 1951. 147—166.
- Witkus R. E. 1945. Endomitotic tapetal cell division in *Spinacia*. Am. Jour. Bot. 32. 326—330.