Badania mieszańców w rodzaju *Trifolium* L.

I. Sterylny mieszańiec *Trifolium repens* L. $\times$ *T. xerocephalum* Frenzl.

Investigations of hybrids of the genus Trifolium L.

I. Sterile hybrid *Trifolium repens* L. $\times$ *Trifolium xerocephalum* Frenzl.

T. KAZIMIERSKI i E. M. KAZIMIERSKA

Prace nad otrzymaniem mieszańców międzygatunkowych u koniczyn prowadzone są stosunkowo od niedawna. Müller (1960) badał kiełkowanie pyłku i wzrost łagiewek pyłkowych na znamionach form di- i tetraploidalnych pięciu gatunków koniczyny. Z pracy tej wynika, że w jednych wypadkach pyłek normalnie kiełkuje na znamieniu drugiego gatunku, w innych kiełkowanie jest słabe, wreszcie pyłek jednego gatunku naniesiony na znamię drugiego gatunku nie kiełkuje.

Łączyńska-Hulewiczowa (1965) krzyżowała di- i tetraploidalne formy *T. hybridum*, *T. repens* i *T. pratense* stosując przed krzyżowaniem zbliżenie wegetatywne przy pomocy szczepienia jednych gatunków na drugich. Autorka otrzymała kilka nasion oraz rośliny z izolowanych zarodków mieszańcowych, żadna z roślin jednak nie wykazywała cech mieszańcowych.

Krzyżując *T. repens* z *T. nigrescens* otrzymano sterylne mieszańce (Trimble i Keim, cyt. za Pandey 1957), natomiast sztucznie indukowane rośliny poliploidalne *T. repens* i *T. nigrescens* krzyżowane między sobą dały płodne rośliny mieszańcowe (Brewbaker i Keim, cyt. za Pandey 1957). Brewbaker i Keim (Evans 1962) przypuszczają, że *T. nigrescens* jest prawdopodobnie jednym z przodków amfidiploidu *T. repens*.

Pandey (1957) skrzyżował dwa samoniezgodne gatunki *T. repens* i *T. uniflorum* i otrzymał samozgodne rośliny mieszańcowe. Także Evans (1962) otrzymała mieszańce między *T. repens* i *T. nigrescens* oraz *T. hybridum* i *T. ambiguum*. Z izolowanych na sztuczną pożywkę zarodków otrzymała dodatkowo mieszańce między *T. repens* i *T. uniflorum*.

Starzycki (1959) skrzyżował *T. repens* z *T. pratense* stosując wstępne zbliżenie wegetatywne przez szczepienie. Badania dalszych pokoleń mieszańcowych wykazały, że z krzyżówki tej otrzymano rośliny, które należy zaliczyć do koniczyny szwedzkiej (*T. hybridum*). Mieszańce te różnią się jednak od koniczyny szwedzkiej wielkością roślin, sztywnością łodyg, długością okresu wegetacyjnego oraz reakcją na różne fotoperiody. W pokoleniu czwartym stwierdzono rośliny aneuploidalne (Starzycki 1961).

Dwa gatunki, wzięte do badań w niniejszej pracy różnią się m.in. rozmieszczeniem geograficznym. *T. repens* L. jest gatunkiem o bardzo szerokim rozprzestrzenieniu, znajduje się prawie we wszystkich regionach świata. *T. xerocephalum* Frenzl. jest gatunkiem zlokalizowanym na niewielkich przestrzeniach we wschodniej części Basenu Śródziemnomorskiego.

MATERIAŁ I METODY

Krzyżowane rośliny *Trifolium repens* pochodzą z okolic Poznania. Mają one ogonki liściowe średniej długości i listki średniej wielkości. Pędy rosną w postaci długich, pełzających i ukorzeniających się w węzłach rozłogów. Korona kwiatowa jest biała, kwiaty o średniej długości 0,85 cm (Tab. 1). W systematyce koniczyny białą o podobnych cechach zalicza się do *Trifolium repens* L. ssp. *typicum* Aschers. et Gr. (Pawł.) var. *genuinum* Aschers. et Gr. (Szafer i Pawłowski, 1959). Liczba chromosomów określana w komórkach somatycznych wynosi $2n = 32$, jest więc taka sama jaką dla tego gatunku podają Darlington i Wylie (1955).

Tabela 1 — Table 1

Porównanie niektórych cech *T. repens*, *T. xerocephalum* i F_1
A comparison of some characters of *T. repens*, *T. xerocephalum* and F_1

Gatunek Species	Długość kwiatu, cm Length of the flower, cm			Długość żagielka, cm Length of the standard, cm		
	maximum	minimum	średnia average	maximum	minimum	średnia average
<i>T. repens</i>	0,9	0,8	0,85	0,6	0,5	0,56
<i>T. xerocephalum</i>	0,9	0,7	0,79	0,6	0,4	0,49
F_1	1,0	0,8	0,91	0,7	0,5	0,60

Gatunek Species	Szerokość żagielka, cm Width of the standard, cm			Długość działek kielicha, cm Length of the calyx, cm		
	maximum	minimum	średnia average	maximum	minimum	średnia average
<i>T. repens</i>	0,4	0,3	0,36	0,4	0,3	0,38
<i>T. xerocephalum</i>	0,4	0,3	0,31	0,4	0,3	0,33
F_1	0,5	0,3	0,42	0,5	0,3	0,40

Nasiona *Trifolium xerocephalum* pochodzą z Izraela. Rośliny tego gatunku są niewielkie, jednoroczne. W warunkach Polski osiągają one wysokość 20–30 cm. Listki pierwszych rozwijających się liści mają charakterystyczne wcięcia na szczycie, listki na wyższych częściach rośliny mają brzegi silnie ząbkowane. Liście osadzone na łodydze na krótkich ogonkach listkowatych (2–3 cm), kwiatostany na krótkich szypułkach (2,5–3,5 cm). Kwiaty *T. xerocephalum* mają barwę lekko różową i są przeciętnie nieco mniejsze niż kwiaty *T. repens* (Tab. 1). Liczba chromosomów określona w komórkach somatycznych wynosi $2n = 16$.

Tablica I — Plate I

Liście, kwiaty i rośliny *T. repens*, *T. xerocephalum* i F_1

Fot. 1. Liście: po lewej *T. repens*, w środku F_1 , po prawej *T. xerocephalum*.

Fot. 2. *Trifolium repens*.

Fot. 3. F_1 *T. repens* $\times$ *T. xerocephalum*.

Fot. 4. *Trifolium xerocephalum*.

Fot. 5. Kwiatostany: po lewej *T. repens*, w środku F_1 , po prawej *T. xerocephalum*.

Fot. 6. Kwiaty: u góry *T. repens*, środkowy rząd F_1 , poniżej *T. xerocephalum*.

Leaves, flowers and plants of *T. repens*, *T. xerocephalum* and F_1

Fig. 1. Leaves: On the left — *T. repens*, in the middle — F_1 , on the right — *T. xerocephalum*.

Fig. 2. *Trifolium repens*.

Fig. 3. F_1 *T. repens* $\times$ *T. xerocephalum*.

Fig. 4. *Trifolium xerocephalum*.

Fig. 5. Inflorescences: On the left — *T. repens*, in the middle — F_1 , on the right — *T. xerocephalum*.

Fig. 6. Flowers: Upper range — *T. repens*, middle range — F_1 , below — *T. xerocephalum*.

Tablica II — Plate II

Mejoza u *T. repens*, *T. xerocephalum* i F_1

- Fot. 7. Pierwsza metafaza u *T. repens*, 16 biwalentów.
 Fot. 8. Pierwsza metafaza u *T. xerocephalum*, 8 biwalentów.
 Fot. 9. Pierwsza anafaza u *T. xerocephalum*.
 Fot. 10—19. Mejoza u F_1 ;
 Fot. 10. Diakineza $3_{II}1_{I}1_{III}1_{IV}$;
 Fot. 11. Pierwsza metafaza $5_{II}3_{I}3_{III}$, uniwalentna asocjacja koniec chromosomu z końcem chromosomu;
 Fot. 12. Pierwsza metafaza $6_{II}9_{I}1_{III}$;
 Fot. 13. Pierwsza metafaza $6_{II}9_{I}1_{III}$, uniwalentna asocjacja koniec do końca chromosomu potrójna;
 Fot. 14. Druga profaza w jądrach 8 i 9 chromosomów, poza jądrami 14 chromosomów, które w tej fazie już się rozeszły;
 Fot. 15. Druga wczesna telofaza, opóźnione chromosomy;
 Fot. 16. Druga telofaza rozerwane mostki chromatynowe;
 Fot. 17. Jednojądrowa komórka pyłkowa z chromosomem leżącym poza jądrem;
 Fot. 18. Zdeformowany pyłek;
 Fot. 19. Cytomiksja.

Meiosis in *T. repens*, *T. xerocephalum* and F_1

- Fig. 7. M I in *T. repens* 16_{II} ;
 Fig. 8. M I in *T. xerocephalum* 8_{II} ;
 Fig. 9. A I in *T. xerocephalum*;
 Figs. 10—19. Meiosis in F_1 ;
 Fig. 10. Diakinesis $3_{II}1_{I}1_{III}1_{IV}$;
 Fig. 11. M I $5_{II}3_{I}3_{III}$, univalent association e-e;
 Fig. 12. M I $6_{II}9_{I}1_{III}$;
 Fig. 13. M I $6_{II}9_{I}1_{III}$, univalent association e-e-e;
 Fig. 14. PII with 8 and 9 chromosomes in nuclei, 14 chromosomes precociously divided outside the nuclei;
 Fig. 15. T II — lagging chromosomes;
 Fig. 16. T II — broken chromosome bridges;
 Fig. 17. One-nucleus pollen grain with the chromosome lying outside the nucleus;
 Fig. 18. Deformed pollen grains;
 Fig. 19. Cytomixis.

Tablica II Plate II

Do badań cytologicznych młode pąki utrwalono w utrwalaczu Carnoy. Przebieg mejozy analizowano na preparatach rozmazowych barwionych acetokarminem i propionokarminem. Fotografie wykonano aparatem Exakta przy powiększeniu 90×10 .

WYNIKI

Cechy morfologiczne

Zapylając kwiaty *T. repens* pyłkiem *T. xerocephalum* otrzymano 83 nasiona, z kwiatów *T. xerocephalum* zapylonych pyłkiem *T. repens* nasion nie zebrano. Większość nasion mieszańcowych była słabo wypełniona, z wysianych nasion wyrosło siedem roślin. Siewki mieszańcowe rosły wolniej niż siewki form rodzicielskich. Listki pierwszego trójdzielnego liścia roślin mieszańcowych kształtem były podobne do listków *T. xerocephalum* i w szczytowej części były w charakterystyczny sposób wcięte, a brzegi były silnie ząbkowane (Fot. 1). Listki liści wyrastających na pędach były także podobne do liści *T. xerocephalum*.

Z pokroju rośliny F_1 podobne były do roślin *T. xerocephalum*. Tworzyły one niewysoki, stojący pęd, z którego wyrastały długie i wiotkie pędy boczne podobne do pędów *T. repens* (Fot. 2,3 i 4). Z węzłów płózających się pędów *T. repens* wyrastają ogonki liściowe i szypuły kwiatostanowe oraz korzenie. Z węzłów długich i wiotkich pędów roślin mieszańcowych wyrastały także liście i szypuły kwiatostanowe, ale nie miały one zdolności do ukorzeniania się.

Rośliny mieszańcowe wytwarzały dużo kwiatostanów, obficie kwitły i nie wiązały nasion. Kwiaty roślin mieszańcowych były większe niż kwiaty form rodzicielskich (Fot. 5 i 6, Tab. 1), barwy lekko różowej. Mieszańce nie wiązały nasion przy samozapyleniu, krzyżowym zapyleniu między sobą oraz pyłkiem form rodzicielskich. Tylko jedna roślina mieszańcowa dała jedno nasienie, które nie wykiełkowało. Analiza pyłku w odczynniku Bellinga wykazała, że rośliny mieszańcowe miały nieżywotny pyłek.

Mejoza

Jądro w komórce macierzystej pyłku *T. repens* jest najczęściej jednojądrowe, sporadycznie znajdowano komórki macierzyste pyłku z jądrem dwujądrowym. Jąderka dwujądrowych jąderek różnią się średnicą. Podczas diakinezy i pierwszej metafazy w jądrze formuje się regularnie 16 bivalentów (Fot. 7). Mejoza przebiega prawidłowo, po drugiej telofazie formują się regularnie tetrady mikrospor. Większość mikrospor ma jądro jednojądrowe, a około 5 % mikrospor ma jądro dwujądrowe (Tab. 2).

Komórki macierzyste pyłku *T. xerocephalum* są jednojądrowe i jednojądrowe. Jąderka mają kształt przeważnie kulisty, a tylko sporadycznie znajduje się jąderka nieco wydłużone. Podczas diakinezy i pierwszej metafazy w jądrach znajduje się 8 bivalentów (Fot. 8). Podział chromatyny przebiega regularnie (Fot. 9). Po drugiej telofazie powstają jednojądrowe i jedno- dwu- a niekiedy i trójjądrowe tetrady mikrospor (Tab. 2).

Tabela 2 — Table 2

Częstość występowania różnej liczby jąderek w jądrach mikrospory u form rodzicielskich i w F_1 Number of nucleoli in a spore nucleus in parental forms and F_1

Forma Species	Liczba jąderek w jądrze mikrospory Number of nucleoli in a microspore nucleus		
	1	2	3
<i>T. repens</i>	270 (94,7)	15 (5,3)	—
<i>T. xerocephalum</i>	205 (73,9)	62 (22,1)	13 (4,6)
F_1	216 (79,1)	54 (19,8)	3 (1,1)

Jąderka w jądrach komórek macierzystych pyłku mieszańca były kuliste, wrzecionowate, podłużne z zaokrąglonym końcem i półksiężycowate. W diakinezie i pierwszej metafazie oprócz biwalentów występowały uni-, tri- i kwadriwalenty (Fot. 10). Uniwalenty i biwalenty znajdowano we wszystkich analizowanych komórkach macierzystych pyłku (Fot. 11, 12 i 13). W różnych komórkach liczba uniwalentów wahała się od 2 do 16, biwalentów było odpowiednio od 1 do 8. Triwalenty znajdowano w liczbie od 1 do 3 na komórkę w 59 analizowanych komórkach macierzystych pyłku, kwadriwalenty w liczbie jednego, rzadziej dwóch i tylko w jednym wypadku trzech w 32 komórkach macierzystych pyłku (Tab. 3).

W części komórek macierzystych pyłku podczas pierwszej metafazy uniwalenty występowały w formie asocjacji uniwalentnych (Fot. 11 i 13), które były trojakiiego rodzaju: 1) dwa chromosomy układały się równolegle obok siebie; 2) dwa chromosomy stykały się końcami; 3) koniec jednego chromosomu stykał się z bokiem drugiego chromosomu. Najczęstsze były asocjacje w których dwa chromosomy stykały się końcami i asocjacje, w których koniec jednego chromosomu stykał się z bokiem drugiego chromosomu. Rzadko spotykano układy uniwalentne w których chromosomy układały się bokami równolegle obok siebie. W niektórych komórkach macierzystych pyłku znajdowały się asocjacje uniwalentne z trzech i czterech chromosomów stykających się końcami (Fot. 13) oraz asocjacje powstałe z połączenia się czterech uniwalentów w których stykały się one naprzemian bokami i końcami.

Równomierne rozchodzenie się chromosomów do biegunów podczas pierwszej anafazy miało miejsce u 8 % analizowanych komórek macierzystych pyłku, w pozostałych komórkach w stadium pierwszej anafazy do biegunów przesuwała się różna liczba chromosomów. U około 1/3 analizowanych komórek w stadium pierwszej anafazy występowały opóźniające się chromosomy, a niekiedy także mostki chromatynowe (Tab. 4). Podczas pierwszej interkinezy, poza uformowanymi jądrami siostrzanymi, znajdowało się od jednego do dwóch chromosomów.

Liczba chromosomów w jądrach podczas drugiej profazy była niejednakowa, a pojedyncze chromosomy znajdowały się w cytoplazmie. Były komórki w których część chromosomów rozchodziła się przedwcześnie — przed ułożeniem się w płytkę metafazową (Fot. 14). Druga metafaza przebiegała nieregularnie. Liczba chromosomów w nieforemnych płytkach metafazowych była różna, poza płytkami po-

Tabela 3 — Table 3

Przebieg pierwszej metafazy w komórkach macierzystych pyłku u F_1 The course of the M I in F_1 PMC's

Figury chromatynowe The chromatine figures				Liczba analizowanych komórek macierzystych pyłku Number of PMC's
I	II	III	IV	
16	1	2		1
11	1	1	2	1
8	1	2	2	1
9	1	3	1	1
6	2	2	2	1
7	2	3	1	2
11	2	3		1
13	2	1	1	1
10	2	2	1	1
8	3	2	1	1
15	3	1		2
12	3	2		2
7	3	1	1	1
9	3	3		1
6	4	2	1	2
9	4	1	1	3
3	4	3	1	2
4	4		3	1
10	4	2		3
2	4	2	2	2
7	4	3		2
16	4			3
7	5	1	1	3
11	5	1		2
10	5		1	2
8	5	2		5
5	5	3		2
8	6		1	5
12	6			8
6	6	2		3
3	6	3		1
9	6	1		3
6	7		1	2
3	7	1	1	1
4	7	2		1
7	7	1		5
10	7			12
8	8			8
5	8	1		2
2	8	2		1
Razem				
Total				101

I — uniwalenty — univalents III — triwalenty — trivalents

II — biwalenty — bivalents IV — kwadriwalenty — quadrivalents

Tabela 4 — Table 4

Przebieg pierwszej anafazy u mieszańca F_1 Distribution of chromosomes in F_1 — Anaphase-I

Liczba chromosomów na biegunach Number of chromosomes in the poles								
12—12	11—13	10—14	9—15	9—1—14	10—1—13	9—3—12	11—1—12	6—3—15
3	12	5	4	1	2	1	1	1
10—2—12	9—4—11	10—4—10	8—5—11	8—8—8			Razem	Total
1	1	1	1	1				35

zostawało od dwóch do ośmiu chromosomów. Chromosomy rozchodziły się nie-regularnie do biegunów podczas drugiej anafazy. U większości analizowanych komórek (80 %) znajdowano opóźnione chromosomy w ilości od jednego do ośmiu (Fot. 15) i mostki chromatynowe. Opóźnione chromosomy i mostki chromatynowe znajdowano także w stadium drugiej telofazy (Fot. 16). Niekiedy znajdowano komórki w stadium drugiej telofazy w których chromosomy znajdowały się w trzech grupach w liczbie: 27 — 20 — 1. Liczba uformowanych jąder w stadium drugiej interfazy wynosiła najczęściej cztery, a w cytoplazmie pozostawało od jednego do dwóch chromosomów oraz niepodzielone mostki chromatynowe.

Po drugim podziale z komórek macierzystych pyłku formowały się tetradry (83 %), pentady (14 %) i heksady (3 %) mikrospor. Niekiedy w cytoplazmie uformowanych mikrospor znajdowano pojedynczy chromosom, który nie wszedł do jądra (Fot. 17). Dojrzałe pylniki nie pękały i zawierały niekształtne, pozbawione cytoplazmy ziarenka pyłkowe (Fot. 18).

Częstym zjawiskiem spotykanym u mieszańca była cytomijsja i kariomijsja (Fot. 19). Jest to jednak odrębne zagadnienie wymagające osobnego omówienia.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Względnie łatwe krzyżowanie się *Trifolium repens* (♀) z *T. xerocephalum* (♂), o czym świadczy duża liczba otrzymanych nasion mieszańcowych, nie przesądza o otrzymaniu dużej liczby roślin F_1 . Można przypuszczać, że po zapłodnieniu zachodzą jakieś zaburzenia w rozwoju zarodka lub bielma i większość otrzymanych z krzyżowania nasion jest niewypełniona, niezdolna do kiełkowania. Krzyżując *T. xerocephalum* (♀) z *T. repens* (♂) nasion nie otrzymano. W naszym wypadku zjawisko to można tłumaczyć zgodnie z poglądami Kostoff'a (1930), który uważa, że przy krzyżowaniu form różniących się liczbą chromosomów lepsze wyniki otrzymuje się biorąc jako matkę gatunek o większej liczbie chromosomów, a jako ojca gatunek o mniejszej liczbie chromosomów. Otrzymane wyniki nie potwierdzają poglądu Kihary i Nichiyamy (1932), zgodnie z którym lepsze wyniki przy krzyżowaniu gatunków różniących się liczbą chromosomów otrzymuje się wtedy, gdy

jako matkę bierze się formę o mniejszej liczbie chromosomów, a jako ojca formę o większej liczbie chromosomów. Wydaje się zresztą, że zwolennicy obu kierunków mają rację. Wszystko, przypuszczalnie, zależy z jakimi gatunkami należącymi do jakiej sekcji, rodzaju czy rodziny mamy do czynienia.

U mieszańca dominowały cechy *T. xerocephalum* i wystąpiła heterozja dotycząca wielkości kwiatów i liści. Dominacja cech *T. xerocephalum* przejawiała się w kształcie blaszki liściowej, pokroju roślin i niezdolności do wypuszczania korzeni z węzłów lodygi.

Przebieg mejozy nie jest łatwy do interpretacji z uwagi na występowanie różnych figur chromatynowych w diakinezie i metafazie mejozy. Nie można także porównać przebiegu mejozy u badanego mieszańca koniczyny z wynikami otrzymanymi u innych mieszańców tego rodzaju, gdyż takie nie są nam znane. Ażeby ułatwić sobie interpretację mejozy posłużymy się wynikami otrzymanymi przez różnych badaczy przy krzyżowaniu gatunków różniących się liczbą chromosomów, należących do innych rodzajów, rodzin i rzędów (Magoon, Hougas i Cooper, 1958; Bennett i Bashaw, 1960; Price, 1957).

U badanego mieszańca podczas pierwszej metafazy średnia liczba biwalentów na komórkę wynosiła $5,28_{II}$ i wahała się od jednego do ośmiu biwalentów; średnia liczba uniwalentów wynosiła $8,68_I$ z wahaniami od dwóch do szesnastu uniwalentów; średnia liczba triwalentów wynosiła $1,02_{III}$ i wahała się od 0 do trzech triwalentów; średnia liczba kwadriwalentów wynosiła $0,40_{IV}$ i wahała się od 0 do 3_{IV} na komórkę. Wysoka średnia liczba biwalentów podczas pierwszej metafazy na komórkę może świadczyć o dużej homologii chromosomów jednego z genomów *T. repens* z genomem *T. xerocephalum*. Przyjmując, że jeden z genomów *T. repens* jest homologiczny z genomem *T. xerocephalum* należy się spodziewać, że maksymalna liczba allosyntetycznych biwalentnych form chromosomów będzie wynosiła 8_{II} . Liczbę taką stwierdzono u 11 % analizowanych komórek macierzystych pyłku podczas pierwszej metafazy. Pozostałe figury chromatynowe, występujące podczas pierwszej metafazy, to uniwalenty, triwalenty i kwadriwalenty, oraz asocjacje uniwalentne powstałe z zetknięcia się końcami lub bokami uniwalentów. Występowanie uniwalentów podczas diakinezy i pierwszej metafazy świadczy o braku homologii chromosomów spowodowanej zmianami strukturalnymi. Mostki chromatynowe podczas pierwszej anafazy są następstwem crossing-over, zachodzącym w obrębie pętli inwersyjnej i dowodzą istnienia strukturalnej heterozygotyczności. Mostki chromatynowe podczas drugiej anafazy i niekiedy telofazy mogą świadczyć o tym, że dicentryczna pętla uformowana podczas profazy mejozy nie została przerwana i w takiej formie trafiła do jednego z jąder siostrzanych.

Formowanie się triwalentów i kwadriwalentów może świadczyć o występowaniu w genomach większej niż dwa liczby chromosomów homologicznych. Co prawda u form rodzicielskich występują regularnie biwalenty podczas pierwszej metafazy. Można zatem przypuszczać, że chromosomy występujące jako triwalenty i kwadriwalenty podczas pierwszej metafazy u mieszańców są tylko częściowo homologiczne między sobą i tworzą tego typu połączenia (Magoon, Hougas i Cooper, 1958).

O braku homologii części chromosomów świadczy duża liczba uniwalentów lub uniwalentnych asocjacji chromosomów. Henderson (1962) oraz John i Levis (1965) uważają, że asocjacje uniwalentne typu koniec do końca, jak i koniec do boku są wynikiem tylko przypadkowego ułożenia się chromosomów i nie mogą być przekonywującym dowodem obecności w nich segmentów homologicznych. Asocjacje bok do boku także nie zawsze świadczą o występowaniu segmentów homologicznych (Henderson, 1962).

Omówioną powyżej sprawę homologii jednego z genomów *T. repens* z genomem *T. xerocephalum* można kwestionować, gdyż materiał dowodowy, otrzymany z analizy jednego mieszańca, może wydawać się mało przekonywujący. Można przyjąć także, że podczas pierwszej metafazy u mieszańca biwalenty uformowały się nie w wyniku allosyndezy, lecz autosyndezy, tzn. z koniugacji między sobą chromosomów dwóch genomów *T. repens*, natomiast uniwalenty są niekoniugującymi chromosomami *T. xerocephalum*; tri- i kwadriwalenty powstają z częściowej koniugacji między chromosomami *T. repens* i mniejszymi lub większymi segmentami homologicznymi chromosomów *T. xerocephalum*. Taka interpretacja zachowania się chromosomów u mieszańców była by słuszna, gdyby *T. repens* powstała w wyniku nie allopoliploidyzacji, ale autopoliploidazacji. (Magoon, Hougas i Cooper, 1958; Price, 1957; Endrizzi, 1957). Dowodów potwierdzających jeden ze sposobów interpretacji może dostarczyć zachowanie się chromosomów u haploidalnych roślin *T. repens*, które jak dotychczas nie zostały opisane, oraz dalsze krzyżówki różnych gatunków koniczyn z *T. repens* i *T. xerocephalum* i analiza zachowania się chromosomów u nowych mieszańców.

Z dwóch przedstawionych sposobów interpretacji zachowania się chromosomów u mieszańca F_1 podczas pierwszej metafazy bardziej prawdopodobny wydaje się pierwszy. W związku z czym proponujemy dla jednego z genomów *T. repens*, tego który tworzy allosyndetyczne biwalenty z chromosomami *T. xerocephalum*, nazwę genomu X (od nazwy gatunkowej *T. xerocephalum*). Rozwijając dalej przedstawioną koncepcję można przypuszczać, że *T. repens* jest gatunkiem, który powstał ze skrzyżowania dwóch gatunków *Trifolium* mających $n = 8$ chromosomów. Przy czym chromosomy stanowiące genomy tych gatunków nie wykazywały między sobą homologii. Następnie u takiego polihaploidu nastąpiło spontaniczne podwojenie genomów. Jednym ze skrzyżowanych gatunków była, najprawdopodobniej, *T. xerocephalum*. Drugim gatunkiem, który wniósł swoje chromosomy w skład amfidiploidu *T. repens* może być *T. nigrescens*, jak to przypuszczają Brewbaker i Keim (Evans, 1962), lub *T. uniflorum* co sugeruje Evans (1962). Przyszłe badania niewątpliwie wyjaśnią tę sprawę.

Skutkiem zaburzeń zachodzących podczas pierwszego i drugiego podziału było nierównomierne rozchodzenie się chromosomów do biegunów, utrata części materiału chromatynowego oraz formowanie tetrad, pentad i hexad mikrospor, które w procesie dalszego rozwoju traciły plazmę i były nieżywotne.

WNIOSKI

1. U *Trifolium repens* podczas pierwszej metafazy występuje 16, a u *T. xerocephalum* 8 biwalentów.

2. Przeciętna liczba biwalentów na komórkę macierzystą pyłku u mieszańca F_1 podczas pierwszej metafazy wynosi $5,28_{II}$ i waha się od 1 do 8 biwalentów, uniwalentów jest przeciętnie $8,68_I$ z wahaniami od 2 do 16 uniwalentów, średnia dla triwalentów wynosi $1,02_{III}$ i waha się od 0 do 3 triwalentów, dla kwadriwalentów $0,40_{IV}$ z wahaniami od 0 do 3 kwadriwalentów na jedną komórkę macierzystą pyłku. Uniwalenty występowały stosunkowo często w formie uniwalentnych asocjacji.

3. Jeżeli biwalenty występujące u mieszańca formowały się w wyniku allosyndezy można przyjąć, że jeden z genomów *T. repens* jest homologiczny do genomu *T. xerocephalum* i dla tego genomu proponujemy nazwę genomu X (od pierwszej litery nazwy gatunkowej *T. xerocephalum*).

4. W przypadku, gdy biwalenty występujące u mieszańca formowały się w wyniku autosyndezy między chromosomami *T. repens* można przypuszczać, że koniczyna biała powstała w wyniku autopoliploidalności. Potwierdzić jedną lub drugą hipotezę można będzie w przyszłości dalszymi krzyżówkami i analizą cytologiczną haploidów *T. repens*.

5. Mieszańce były całkowicie sterylne i produkowały nieżywotne spory.

Zakład Genetyki Roślin
Polskiej Akademii Nauk
Poznań, ul. Wojska Polskiego 71 c

(Wpłynęło dn. 30.3.1968 r.)

SUMMARY

The hybrid obtained from crossing *T. repens* with *T. xerocephalum* gave 83 seeds of which seven plants were developed. In the hybrid F_1 the features of *T. xerocephalum* were dominant.

In the divisional platelet of the first metaphase in *T. repens* 16 bivalents are found, while there are 8 bivalents in *T. xerocephalum*.

In F_1 hybrids the average number of bivalents per PMC at M1 was 5.28 (from 1 to 8) and the average number of univalents was 8.68 (from 2 to 16). The mean for trivalents amounts to 1.02 oscillating from 0 to 3 trivalents, for quadrivalents it is 0.40 with oscillations from 0 to 3 quadrivalents per one mother cell of pollen. Univalents occurred fairly frequently, in form of univalent associations. If the bivalents in a hybrid developed as a result of allosyndesis, then one may consider that one of the genomes of *T. repens* is homologous to the genome of *T. xerocephalum*, and we propose for this genome the name genome X (from the first letter of the name of the species *T. xerocephalum*). In case the bivalents were formed in the hybrid as a result of autosyndesis between the chromosomes of *T. repens*, it may be assumed that white clover developed as a result of autopolyploidy. One of these hypotheses could be confirmed in future, by further hybridisation and cytological analysis of the haploids of *T. repens*.

The hybrids were entirely sterile and produced no viable spores.

LITERATURA

- Bennett H. W., Bashaw E. C., 1960, An interspecific hybrid in *Paspalum*, The Journal of Heredity 51: 81—85.
- Darlington C. D., Wylie A. P., 1955, Chromosome Atlas of Flowering Plants, London, George Allen and Unwin LTD.
- Endrizzi J. E., 1957, The cytology of two hybrids of *Gossypium*, The Journal of Heredity 48:221—226.
- Evans A. M., 1962, Species hybridization in *Trifolium*. I. Methods of overcoming species in, compatibility, Euphytica: 11:164—176.
- Henderson S. A., 1962, Temperature and chiasma formation in *Schistocerca gregoria*. II. Cytological effects at 40°C and the mechanism of heat-induced univalence, Chromosoma 13:437—463.
- John B., Levis K. R., 1965, Protoplasmatologia. VI. The meiotic system, Springer-Verlag, Wien—New York.
- Kihara H., Nichiyama I., 1932, Different compatibility in reciprocal crosses of *Avena*, with special reference to tetraploid hybrids between hexaploid and diploid species, Japan. Journ. of Bot. 6, 2.
- Kostoff D., 1930, Ontogeny, genetics and cytology of *Nicotiana* hybrids, Genetica 12:33—139.
- Łączyńska-Hulewiczowa T., 1965, Crossing experiments among cultivated clover specie (*Trifolium pratense*, *T. hybridum* and *T. repens*), Genetica Polonica 6:1—4.
- Magoon M. L., Hougas R. W., Cooper C. D., 1958, Cytogenetic studies of tetraploid hybrids in *Solanum* from hexaploid-diploid matings, The Journal of Heredity 49:171—178.
- Müller G., 1960, Untersuchungen über das Pollenschlauchwachstum bei verschiedenen *Trifolium*-Artkreuzungen, Züchter 30:28—30.
- Pandey K. K., 1957, A self-compatible hybrid from a cross between two self-incompatible species in *Trifolium*, The Journal of Heredity 48:278—281.
- Price S., 1957, Cytological studies in *Saccharum* and allied genera. IV. Hybrids from *S. officinarum* ($2n = 80$) $\times$ *S. spontaneum* ($2n = 96$), The Journal of Heredity 48:141—145.
- Szafer W., Pawłowski B., 1959, Flora Polska. VIII. Dwuliścienne Wolnoplątkowe-Dwuokwiatowe, Część V, PWN, Warszawa.
- Starzycki St., 1959, Zmienność mieszańców koniczyny białej (*Trifolium repens* L.) z koniczyną czerwoną (*T. pratense* L.), Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo 3:277—319.
- Starzycki S., 1961, Badania nad mieszańcami międzygatunkowymi koniczyn *Trifolium repens* L. $\times$ *Trifolium pratense* L., Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo 5:285—330.