ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
vol. XXXIX — nr 3
1970

# Badania mieszańców w rodzaju *Trifolium* L.

## III. Cechy morfologiczne i cytogenetyka mieszańca *Trifolium repens* L. × *Trifolium nigrescens* Viv.

*Investigations of the hybrids of the genus Trifolium L.*

III. Morphological traits and cytogenetics of the hybrid *Trifolium repens* L. x *T. nigrescens* Viv.

T. KAZIMIERSKI i E. M. KAZIMIERSKA

Z dotychczasowych prac wynika, że krzyżując *T. repens* z *T. nigrescens* otrzymuje się niewiele nasion, które słabo i trudno kiełkują. Trimble (cyt. Keim, 1953) wysiewał nasiona mieszańcowe na szalkach Petriego na wilgotnej bibule oraz na specjalnie przygotowanej pożywce. Na szalkach Petriego nasiona nie kiełkowały, a z nasion umieszczonych na pożywce wyrosła jedna sterylna roślina.

Keim (1953), krzyżując wspomniane gatunki na poziomie diploidalnym i tetraploidalnym, otrzymał pełne i puste nasiona. Po skaryfikacji umieszczał je na szalkach Petriego albo wysiewał wprost do sterylizowanej gleby. W takich warunkach nasiona słabo kiełkowały, a kiełkujące ginęły. Z nasion skaryfikowanych i powierzchownie sterylizowanych oraz z niedojrzałych zarodków umieszczonych na aseptycznej pożywce, cytowanemu autorowi wyrosły dwie kwitnące rośliny.

*T. repens* z *T. nigrescens* na poziomie diploidalnym i tetraploidalnym krzyżowała także Evans (1962) i otrzymała, w stosunku do liczby wykonanych krzyżówek, niewiele nasion. Przypuszczała ona, że trudność krzyżowania może polegać na niezgodności krzyżowanych gatunków. Aby takową przezwyciężyć Evans stosowała szczepienie krzyżowanych roślin, a rozwijające się zarodki mieszańcowe przenosiła na pożywkę. W porównaniu z liczbą nasion, którą otrzymała przy normalnym krzyżowaniu, zwiększenie liczby rozwijających się zarodków u roślin szczepionych było niewielkie.

Brewbaker i Keim (1953) uważają, że *T. nigrescens* może być jednym z przodków amfidiploidu, jakim jest według badań Atwood i Hill (1940) *T. repens*. Dokładna analiza cech morfologicznych i przebiegu mejozy u mieszańca *T. repens* × *T. nigrescens* może dostarczyć informacji odnośnie pokrewieństwa genomów wspomnianych gatunków.

Analizy takiej nie ma w żadnej z wymienionych prac. Aby brak ten uzupełnić i podać możliwie pełną charakterystykę mieszańca podjęto niniejszą pracę.

## MATERIAŁ I METODY

Użyte do krzyżowania rośliny *T. repens* reprezentują, miejscową populację z okolic Poznania. Mają one blaszki listkowe, ogonki liściowe i kwiaty średniej wielkości, pędy płożące i ukorzeniające się w węzłach. Koniczynę 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 w komórkach somatycznych wynosi 2n = 32, i jest taka sama, jaką dla tego gatunku podają Karpechenko (1925), Wexelsen (1928), Atwood i Hill (1940), Darlington i Wylie (1955).

Nasiona *Trifolium nigrescens* Viv. otrzymaliśmy z Instytutu w Gatersleben (NRD). Rośliny *T. nigrescens* są jednoroczne, niewysokie (20—30 cm), stojące lub lekko pokładające się. Liście, ogonki liściowe, kwiaty i szypuły kwiatostanowe mają mniejsze i krótsze niż u *T. repens*. Kształt blaszki listkowej, wyliczony ze stosunku długości do szerokości blaszki, dla roślin obu gatunków jest podobny. Liczba chromosomów w komórkach somatycznych wynosi 2n = 16, jest więc taka, jaką dla tego gatunku podaje Trimble (cyt. za Keim, 1953).

Badane gatunki krzyżują się łatwo i oba są samoniezgodne. Nasiona mieszańcowe po skaryfikacji wysiewano na bibułę filtracyjną na szalkach Petriego. Kiełkujące nasiona wysadzano w szklarni po jednym do doniczek wypełnionych ziemią ogrodową. Aby umożliwić krzyżowe zapylanie przez owady, gdy rośliny mieszańców zaczęły kwitnąć, przesadzono na pole trzy doniczki z roślinami $F_1$ między kwitnące rośliny *T. repens* i trzy doniczki między rośliny *T. nigrescens*.

Materiał do badań cytologicznych, w postaci młodych pąków, utrwalano w utrwalaczu Carnoy. Liczbę chromosomów w komórkach somatycznych i przebieg mejozy w komórkach macierzystych pyłku badano na preparatach rozmazowych barwionych acetokarminem z dodatkiem $FeCl_3$. Fotografie wykonano aparatem Exacta przy powiększeniu 10 × 90, rysunki urządzeniem do rysowania Abbe'go przy powiększeniu 15 × 90.

## WYNIKI

### Krzyżowanie, kiełkowanie nasion i przeżywalność siewek

*T. repens* z *T. nigrescens* krzyżują się łatwo przemiennie (tab. 1). Dojrzałe nasiona mieszańcowe są normalnie wykształcone i dobrze wypełnione. Skaryfikowane i wysiane na wilgotną bibułę filtracyjną na szalkach

Tabela 1 — Table 1

Krzyżowanie, kiełkowanie nasion i przeżywalność siewek mieszańcowych
Effect of crosses, seed germination and hybrid seedlings survival

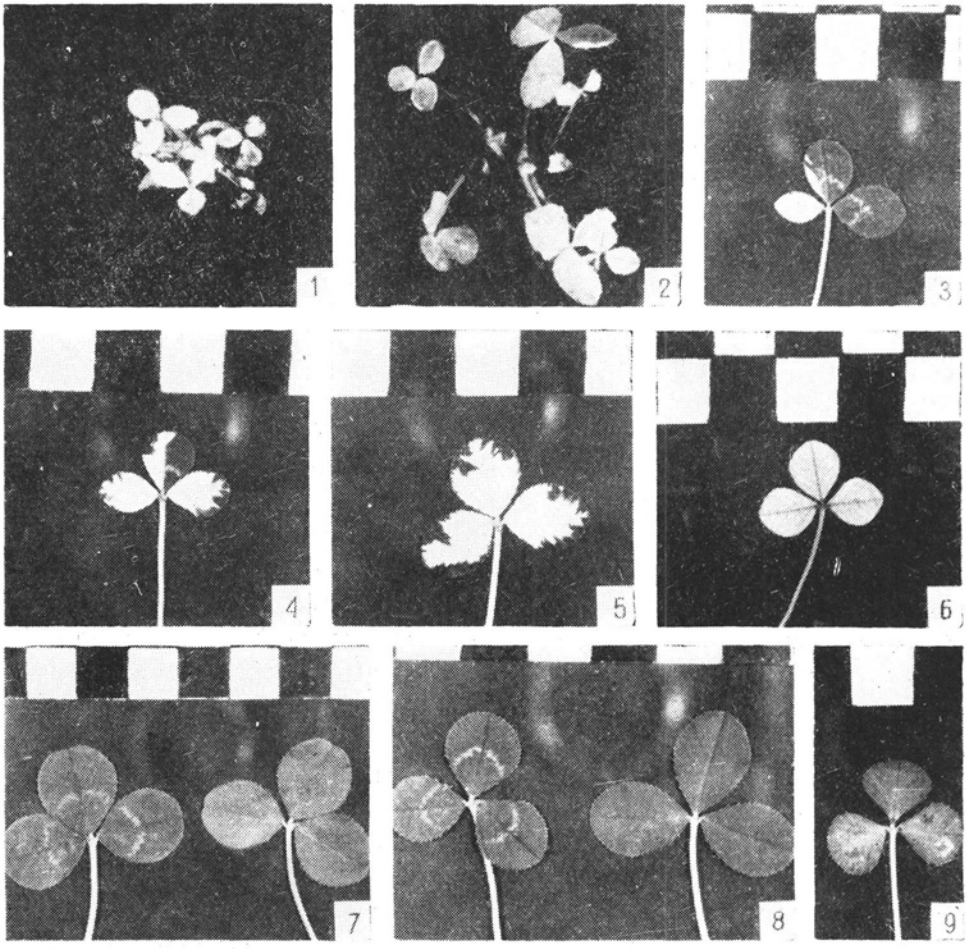
| ♀ ♂ | Liczba: Number of: | | | Kiełkujące nasiona, % seeds germination % | Kwitnące rośliny Flowering plants | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | zapylonych kwiatów pollinated flowers | dojrzałych nasion mature seeds | siewek seedlings | | Liczba Number | % |
| *T. repens* × *T. nigrescens* | 37 | 80 | 75 | 93,7 | 52 | 69,3 |
| *T. nigrescens* × *T. repens* | 14 | 45 | 40 | 88,8 | 3 | 7,5 |

Petriego dobrze kiełkują, chociaż z kilkudniowym opóźnieniem w porównaniu z nasionami form rodzicielskich. Siewki krzyżówki *T. repens* × *T. nigrescens* są zielone i rosną normalnie. Do okresu kwitnienia z krzyżówki tej przeżyły 52 rośliny — 69,3% w stosunku do nasion, które wykiełkowały. Pozostałe rośliny zginęły w fazie młodych siewek zniszczone przez grzyby. Z nasion mieszańcowych *T. nigrescens* × *T. repens* wyrosły siewki bezchlorofilowe i z defektami chlorofilowymi (fot. 1 i 2), które ginęły począwszy od kilku dni do kilku tygodni od daty kiełkowania. Z tej kombinacji krzyżówkowej zakwitły trzy rośliny (7,5%, tab. 1), z których dwie były sektorialnymi chimerami chlorofilowymi, u trzeciej większa część powierzchni blaszek listkowych nie miała chlorofilu, i tylko niewielkie sektory, przeważnie przy brzegu blaszki listkowej były zielone (fot. 3, 4 i 5). Na roślinie tej były także liście bezchlorofilowe (fot. 6). Bezchlorofilowe siewki *T. nigrescens* × *T. repens* szczepiono na roślinach *T. repens*, aby zaopatrzyć je w asymilaty i umożliwić przeżycie. Zaszczepioną siewkę bezchlorofilową wraz z podkładką przetrzymywano przez okres 20 dni w wilgotnej komorze przy temp. 20—24°C, aby uintensywnić procesy tworzenia kallusa i zrastania się zrazu z podkładką. Po upływie 14—21 dni zrazy (zaszczepione siewki) więdły i ginęły.

## CECHY MORFOLOGICZNE

Długość i szerokość blaszki listkowej oraz długość ogonka liściowego u mieszańców jest pośrednia w porównaniu z wielkością tych cech u form rodzicielskich (tab. 2, fot. 7—9). Wielkość tych organów zależy od kierunku krzyżowania. Rośliny $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* mają większe blaszki listkowe i dłuższe ogonki liściowe niż rośliny $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens*. Blaszka listkowa u roślin $F_1$ jest węższa niż u roślin form rodzicielskich. Stosunek długości do szerokości blaszki u mieszańców odbiega bar-

Tablica I



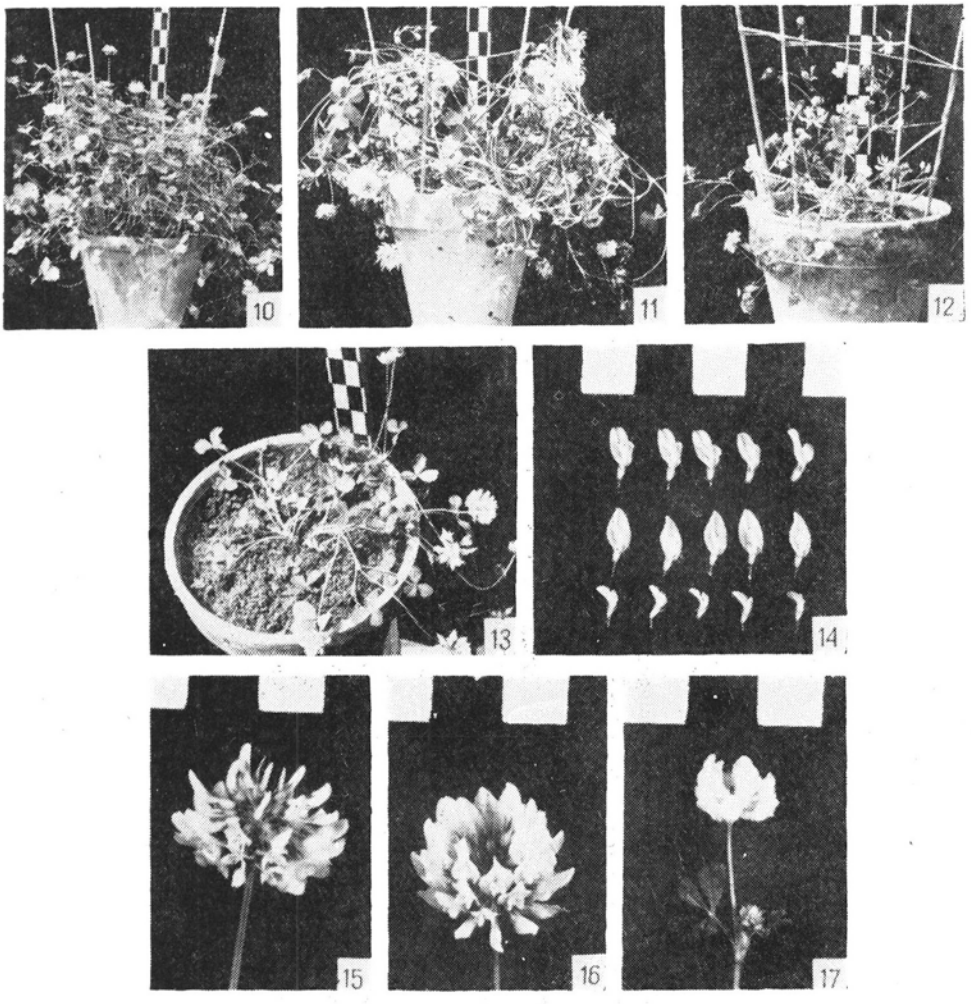

Fot. 1—9. Siewki i liście roślin form rodzicielskich i $F_1$

Fot. 1 i 2. Siewki $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens;* Fot. 1. Siewka albinotyczna; Fot. 2. Siewka z zielonymi i albinotycznymi sektorami na liściach; Fot. 3—9. Liście: Fot. 3—6. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* z sektorami zielonymi i białymi oraz liść biały; Fot. 7. *T. repens;* Fot. 8. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens;* Fot. 9. *T. nigrescens.*

Photos 1—9. Seedlings and leaves of parental forms and $F_1$ plants

Figs. 1—2. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens seedlings;* Fig. 1. Albinotic; Fig. 2. With green and albinotic sectors on the leaves; Figs 3—9. Leaves; Figs. 3—6. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* with green and white sectors and the whole white leaf; Fig. 7. *T. repens;* Fig. 8. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens;* Fig. 9. *T. nigrescens.*

Tablica II




Fot. 10—17. Rośliny, kwiaty i kwiatostany form rodzicielskich i $F_1$

Fot. 10—13. Rośliny; Fot. 10. *T. repens;* Fot. 11. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens;* Fot. 12. *T. nigrescens;* Fot. 13. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* — chimera chlorofilowa; Fot. 14. Kwiaty: u góry *T. repens,* w środku $F_1$, u dołu *T. nigrescens;* Fot. 15—17. Kwiatostany; Fot. 15. *T. repens*; Fot. 16. $F_1$; Fot. 17. *T. nigrescens.*

Photos 10—17. Plants, flowers and inflorescences of parental forms and $F_1$ plants

Figs. 10—13. Plants; Fig. 10. *T. repens;* Fig. 11. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens;* Fig. 12. *T. nigrescens;* Fig. 13. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* — chlorophyll chimera; Fig. 14. Flowers: upper range — *T. repens,* middle range — $F_1$, below — *T. nigrescens;* Figs 15—17. Inflorescences; Fig. 15. *T. repens;* Fig. 16. $F_1$; Fig. 17. *T. nigrescens.*

Tabela 2 — Table 2

Niektóre cechy morfologiczne *T. repens*, *T. nigrescens* i $F_1$

Comparison of some morphological traits of *T. repens*, *T. nigrescens* and $F_1$

| Gatunek<br>Species | Długość ogonków liściowych, cm<br>Length of petiole, cm | | | Długość listków, mm<br>Length of leaflet, mm | | | Szerokość listków, mm<br>Width of leaflet, mm | | | Stosunek długości do szerokości listków<br>Ratio length: width of leaflet |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | minimum | maximum | średnia<br>average | minimum | maximum | średnia<br>average | minimum | maximum | średnia<br>average | |
| *T. repens* | 4,0 | 18,3 | 11,9 | 10,0 | 22,0 | 16,5 | 9,0 | 19,0 | 14,5 | 1,12 |
| *T. nigrescens* | 1,5 | 6,2 | 3,7 | 8,0 | 18,0 | 11,9 | 7,0 | 15,0 | 10,1 | 1,18 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | 3,0 | 13,5 | 7,4 | 10,0 | 22,0 | 15,2 | 7,0 | 19,0 | 12,4 | 1,22 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | 3,2 | 8,6 | 5,9 | 9,0 | 18,0 | 14,3 | 7,0 | 15,0 | 10,8 | 1,31 |

Tabela 3 — Table 3

Przeciętna długość kwiatu i kielicha roślin form rodzicielskich i $F_1$
Average length of flower and calyx of parental forms and $F_1$ plants

| Gatunek Species | Długość w mm: Length mm: | | | Szerokość żagielka, mm Width of standard, mm | Długość szypuły, cm Length of stalk, cm |
|---|---|---|---|---|---|
| | kwiatu of flower | kielicha of calyx | rurki kwiatowej of floral tube | | |
| *T. repens* | 8,7 | 4,3 | 2,3 | 4.1 | 21,7 |
| *T. nigrescens* | 6,5 | 4,0 | 2,0 | 3,4 | 3,1 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | 9,5 | 4,5 | 2,3 | 4,6 | 8,9 |

Tabela 4 — Table 4

Zmienność liczby kwiatów w główce u form rodzicielskich i $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens*
Variability of number of flowers per inflorescence in parental forms and $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* plants

| Gatunek Species | Liczba kwiatów w główce Number of flowers per inflorescence | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 11—20 | 21—30 | 31—40 | 41—50 | 51—60 | 61—70 | 71—80 | 81—90 | 91—100 | $\bar{x}$ | N |
| *T. repens* | | 4 | 9 | 19 | 27 | 22 | 17 | 5 | 1 | 58,4 | 104 |
| *T. nigrescens* | 6 | 32 | 12 | | | | | | | 25,6 | 50 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | 1 | 27 | 39 | 24 | 9 | | | | | 37,2 | 100 |

Tabela 5 — Table 5

Zmienność początku kwitnienia roślin form rodzicielskich i $F_1$
Variability of beginning of flowering of parental forms and $F_1$ plants

| Gatunek Species | Liczba zakwitających roślin Number of flowering plants | | | | Liczba roślin Number of plants |
|---|---|---|---|---|---|
| | 22—31.V. | 1—10.VI. | 11—20.VI. | 21—30.VI. | |
| *T. repens* | 1 | 6 | 3 | | 10 |
| *T. nigrescens* | 5 | 3 | | | 8 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | 5 | 36 | 8 | 3 | 52 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | | 1 | | 2 | 3 |

dziej od jedności niż u roślin form wyjściowych, co wskazuje, że u mieszańców uległ zmianie kształt blaszki listkowej (tab. 2).

Krzyżowane rośliny form rodzicielskich mają blaszki listkowe z jasnymi plamkami. W $F_1$ 33 rośliny mają blaszki listkowe z jasnymi plamkami, a 22 rośliny — bez jasnych plamek. Można więc przypuszczać, że rośliny użyte do krzyżowania były heterozygotyczne pod względem tej cechy oraz, że występowanie jasnej plamki na listku jest u obu gatunków cechą dominującą.

Rośliny $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* rosły równie szybko jak rośliny form rodzicielskich. Nie ustępowały im także terminem wypuszczania nowych liści i tworzenia pędów (fot. 10—12). Rośliny krzyżówki zwrotnej rosły i rozwijały się wolniej niż rośliny poprzedniej kombinacji krzyżówkowej i rośliny form rodzicielskich (fot. 13). Przyczyn wolniejszego wzrostu i rozwoju u $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* można się dopatrywać w niedostatecznym ich zaopatrzeniu w asymilaty. Były one chimerami chlorofilowymi (fot. 2—6 i 13), znaczna powierzchnia ich blaszek liściowych nie zawierała chlorofilu i nie mogła asymilować.

Mieszańce mają pędy długie i wiotkie, płożące się, podobne do pędów *T. repens*. Jednak pędy koniczyny białej ukorzeniają się w węzłach, a pędy roślin mieszańcowych nie mają tej zdolności i tym, w sposób zasadniczy, różnią się od pędów koniczyny białej. Rośliny mieszańcowe formują także słabo rozgałęziający się pęd stojący, podobnie jak rośliny *T. nigrescens*.

---

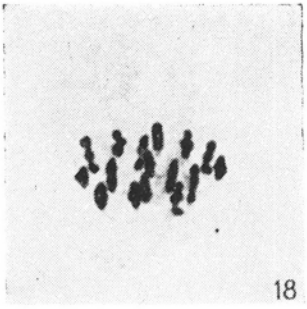
Tablica III

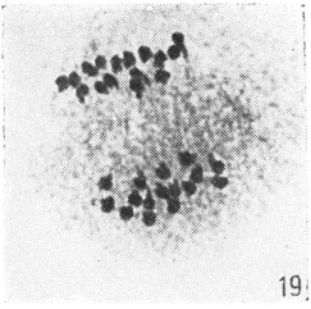
Fot. 18—32. Mejoza u roślin form rodzicielskich i $F_1$

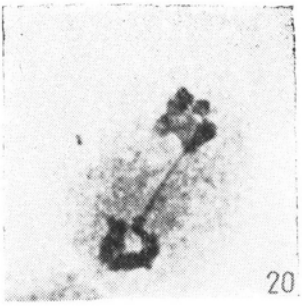
Fot. 18—19. *T. repens*. Fot. 18. Pierwsza metafaza, 16 biwalentów; Fot. 19. Pierwsza anafaza, po 16 chromosomów w dwóch grupach; Fot. 20. *T. nigrescens*, pierwsza telofaza, mostek; Fot. 21—32. Rośliny $F_1$; Fot. 21. Diakineza, 5 biwalentów i 14 uniwalentów, są asocjacje uniwalentne; Fot. 22—23. Pierwsza metafaza, 7 biwalentów i 10 uniwalentów; Fot. 24. Pierwsza metafaza, 6 biwalentów, 1 triwalent i 9 uniwalentów; Fot. 25. Pierwsza metafaza, 5 biwalentów, 1 triwalent i 11 uniwalentów, widać asocjacje uniwalentne; Fot. 26. Pierwsza anafaza, widać trudno dzielące się chromosomy; Fot. 27. Pierwsza telofaza, opóźnione chromosomy i biwalenty; Fot. 28. Pierwsza telofaza, trzy opóźnione chromosomy; Fot. 29. Pierwsza anafaza, chromosomów w grupach 11 i 14, jeden uniwalent podzielony; Fot. 30. Pierwsza telofaza, chromosomów w grupach 10 i 9, w środkowej części komórki podzielone uniwalenty; Fot. 31. Interfaza, chromosomy w cytoplazmie; Fot. 32. Diada, jądra różnią się kształtem i liczbą jąderek.

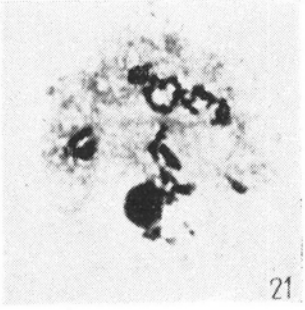
Photos 18—32. Meiosis in parental forms and $F_1$ plants.

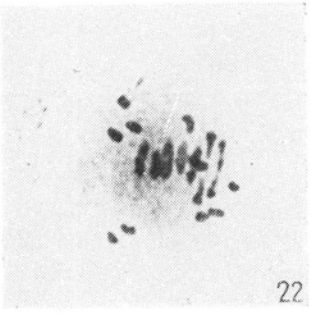
Figs 18—19. *T. repens;* Fig. 18. M I 16 bivalents; Fig. 19. A I 16 chromosomes in two groups; Fig. 20. *T. nigrescens*, T I bridge; Figs 21—32. $F_1$ plants; Fig. 21. Diakinesis $5_{II}$ $14_{I}$, univalent associations; Figs 22—23. M I $7_{II}$ $10_{I}$; Fig. 24. M I $6_{II}$ $1_{III}$ $9_{I}$; Fig. 25. M I $5_{II}$ $1_{III}$ $11_{I}$; Fig. 26. A I chromosomes divided with difficulty; Fig. 27. T I lagging chromosomes and bivalents; Fig. 28. T I three lagging chromosomes; Fig. 29. A I in group 11 and 14 chromosomes, one univalent divided; Fig. 30. T I in group 10 and 9 chromosomes, in the middle part of cell divided univalents; Fig. 31. Interphase, chromosomes in cytoplasm; Fig. 32. Diad, the nucleus are various in shape and number of nucleoli.

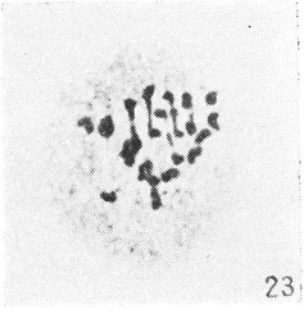

18

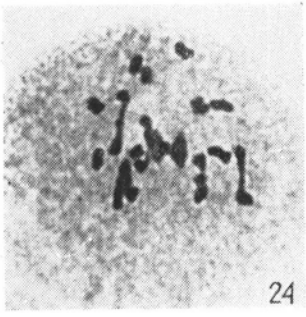

19

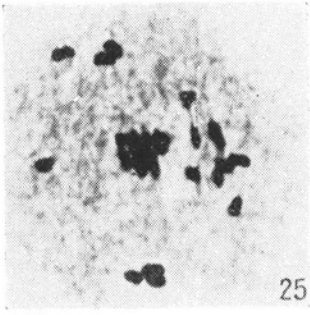

20

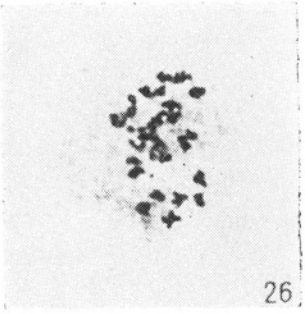

21

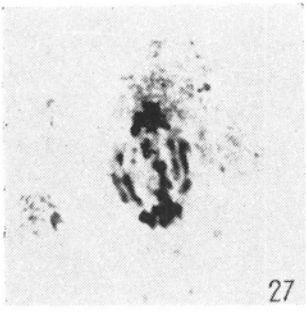

22

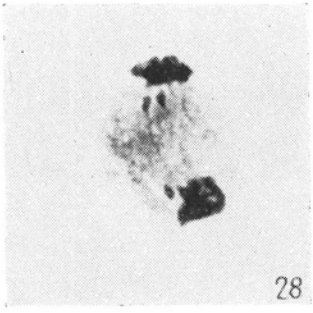

23

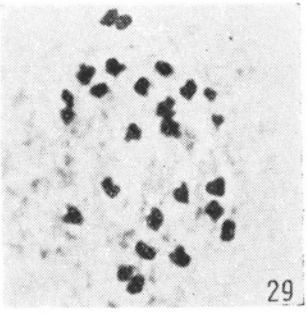

24

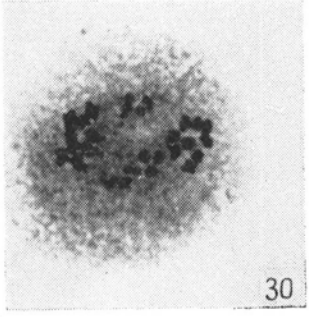

25

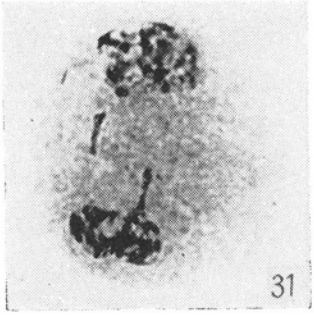

26


27


28


29


30

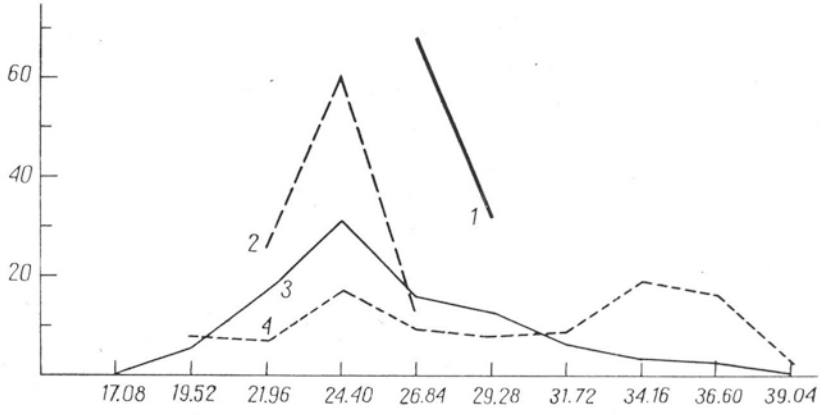

31

32

U mieszańców kwiaty są dłuższe (fot. 14), a żagielki szersze niż u roślin form rodzicielskich (tab. 3). Długością kielicha i rurki kwiatowej rośliny rodzicielskie i mieszańce różnią się nieznacznie. Najdłuższe szypuły kwiatostanowe (tab. 3) ma *T. repens*, najkrótsze *T. nigrescens*, u roślin $F_1$ są one znacznie dłuższe niż u *T. nigrescens* i prawie trzykrotnie krótsze niż u *T. repens*.

Liczba kwiatów w główce u roślin *T. repens* waha się w szerokich granicach (tab. 4) i mają one, w porównaniu z roślinami *T. nigrescens*, wysoką średnią liczbę kwiatów w główce. Zmienność tej cechy u roślin mieszańcowych jest większa niż u roślin *T. nigrescens*, jednak znacznie mniejsza niż u *T. repens*. Średnia liczba kwiatów w główce (tab. 4) u $F_1$ jest o 68% większa niż u *T. nigrescens* i o 63% mniejsza niż u *T. repens* (fot. 15—17).

Większych różnic w terminie początku kwitnienia między roślinami rodzicielskimi i mieszańcowymi nie było. W oparciu o dane zestawione w tabeli 5 można ogólnie powiedzieć, że rośliny *T. nigrescens* zaczynają kwitnąć nieco wcześniej niż rośliny *T. repens* i $F_1$ Zaledwie kilka roślin mieszańcowych zakwitło w ostatniej dekadzie czerwca, a więc w okresie w którym żadna z badanych roślin form rodzicielskich kwitnienia nie rozpoczynała. Rozpoczęcie kwitnienia w trzeciej dekadzie czerwca przez dwie rośliny z krzyżówki *T. nigrescens* × *T. repens* można przypisać ich głodowaniu, gdyż, jak już wspomniano, rośliny tej kombinacji krzyżówkowej charakteryzowały się zaburzeniami chlorofilowymi. Rośliny mieszańcowe i rodzicielskie różniły się długością okresu kwitnienia; formy rodzicielskie przestały kwitnąć w drugiej dekadzie lipca, a mieszańce kwitły bez przerwy do końca listopada.




Wykres 1. Średnica (w mikronach) i częstotliwość występowania (w procentach) ziarn pyłku u roślin form rodzicielskich i $F_1$

Diagram 1. Diameter (in microns) and frequency (in percent) of the pollen grain in parental forms and $F_1$ plants

*1 — T. repens; 2 — T. nigrescens; 3 — $F_1$ T. repens × T. nigrescens; 4 — $F_1$ T. nigrescens × T. repens*

## Płodność

Liczbę nasion z główki dla roślin form rodzicielskich i mieszańców po krzyżowym zapyleniu podano w tabeli 6. Widać z niej, że rośliny *T. repens* dały średnio 47 nasion z główki, co przy średniej liczbie kwiatów w główce wynoszącej 58 świadczy, że większość kwiatów miała strąki wypełnione nasionami. Średnia dla *T. nigrescens* jest mniejsza i wynosi około 14 nasion na główkę. U roślin tego gatunku ponad 50% strąków miało nasiona. Mieszańce miały główki z nasionami i bez nasion. Odsetek pierwszych u analizowanych roślin wahał się od 62 do 37%. Najwięcej było główek z jednym nasieniem, a najwyższa liczba nasion z jednej główki nie przekraczała 8 nasion. U badanych roślin mieszańcowych średnio na główkę przypadało od 0,6 do 1,5 nasienia (tab. 6). Po samozapyleniu rośliny form rodzicielskich i mieszańce nie dały nasion.

## Żywotność pyłku

Analiza żywotności pyłku w odczynniku Bellinga wykazała, że obie formy rodzicielskie mają wysoki odsetek barwiących się ziarn pyłkowych (tab. 7). U mieszańców żywotność pyłku była niewielka. Dla większości roślin nie przekraczała 10%, u czterech dochodziła do 13%. Ciekawe zjawisko stwierdzono u jednej z roślin $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens*. Roślina ta była sektorialną chimerą chlorofilową, miała sektor z liśćmi zielonymi i sektor bezchlorofilowy. Z rośliny tej pobierano i analizowano oddzielnie pyłek z sektora bezchlorofilowego i zielonego. Okazało się, że w pylnikach kwiatów z sektora bezchlorofilowego jest 11,7%, a w pylnikach z sektora zielonego 34,8% żywotnego pyłku (tab. 7). Ziarna pyłkowe mieszańca określane jako żywotne były prawie kuliste, wypełnione plazmą; nieżywotne były elipsoidalne lub kształtu nieokreślonego, pomarszczone, bez plazmy.

Żywotność pyłku badano także *in vitro* (na pożywce stałej składającej się z 1% agaru i 25% sacharozy). Po upływie godziny od posiewu ziarenka zaczęły wypuszczać łagiewki pyłkowe. Odsetek kiełkujących ziarn pyłkowych dla form rodzicielskich był wysoki i wynosił dla *T. repens* 95%, dla *T. nigrescens* około 90%. Liczba kiełkujących pyłków u mieszańców była niewielka, u jednej rośliny, na 400 wysianych ziarn, łagiewkę pyłkową wypuściło jedno ziarno, u innej na taką samą liczbę wysianych ziarn, łagiewki pyłkowe miało 25 ziarn pyłkowych.

## Mejoza u form rodzicielskich

W komórkach macierzystych pyłku *T. repens* w fazie diakinezy i pierwszej metafazy występuje regularnie 16 biwalentów, a u *T. nigrescens* 8 biwalentów (fot. 18, rys. 1a). Podziały pierwszy (fot. 19) i drugi u *T. re-*

Tabela 6 — Table 6

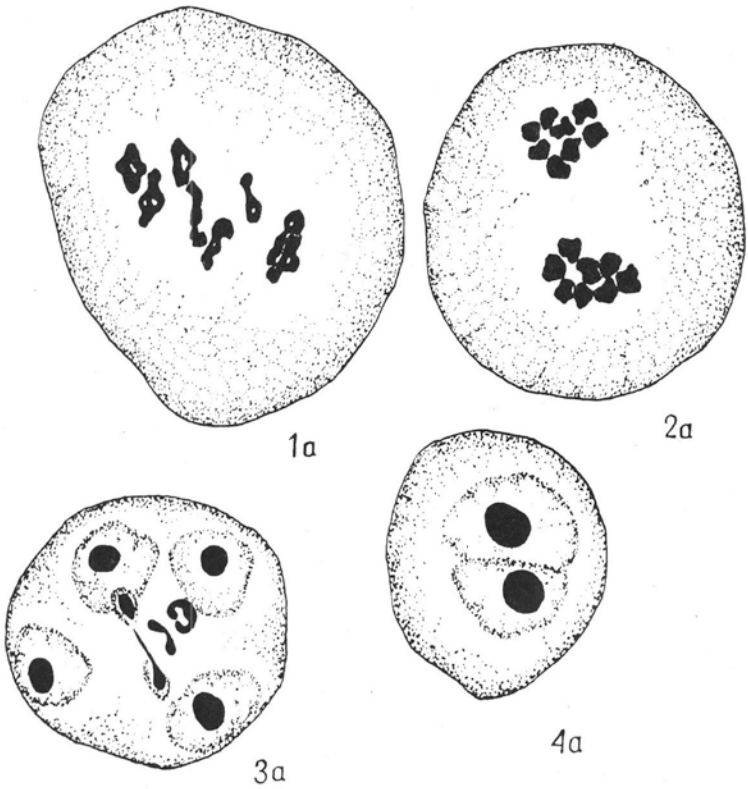
Liczba nasion w główce u roślin form rodzicielskich i $F_1$ po krzyżowym zapyleniu
Number of seeds per inflorescence after cross polination in parental forms and $F_1$ plants

| Gatunek<br>Species | Liczba nasion w główce<br>Number of seeds per inflorescence | | | | | | | | | $\bar{x}$ | Liczba analizowanych główek<br>Number of analysed inflorescences |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1—10 | 11—20 | 21—30 | 31—50 | 51—70 | 71—90 | 91—110 | 111—130 | | |
| *T. repens* | | | | 5 | 5 | | 2 | 1 | 1 | 46,8 | 14 |
| *T. nigrescens* | | | 12 | 2 | | | | | | 13,9 | 14 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens*, No. 2 | 18 | 23 | | | | | | | | 0,9 | 41 |
| No. 10 | 16 | 20 | | | | | | | | 0,8 | 36 |
| No. 9 | 14 | 17 | | | | | | | | 1,0 | 31 |
| No. 21 | 34 | 56 | | | | | | | | 1,5 | 90 |
| No. 22 | 32 | 36 | | | | | | | | 1,3 | 68 |
| No. 23 | 63 | 37 | | | | | | | | 0,6 | 100 |

Tabela 7 — Table 7

Zmienność odsetka barwiących się mikrospor u roślin form rodzicielskich i $F_1$
Variability of percentage of viable pollen grains in parental forms and $F_1$ plants

| Gatunek<br>Species | 0,1—10,0 | 10,1—20,0 | 20,1—30,0 | 30,1—40,0 | 40,1—50,0 | 50,1—60,0 | 60,1—70,0 | 70,1—80,0 | 80,1—90,0 | 90,1—100,0 | Liczba analizowanych roślin<br>Number of plants analysed |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *T. repens* | | | | | | | | | | 10 | 10 |
| *T. nigrescens* | | | | | | | | | 4 | 4 | 8 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | 49 | 3 | | | | | | | | | 52 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | 2 | 1 | | 1 | | | | | | | 3 |




Rys. 1—4. Mejoza u roślin *T. nigrescens* i $F_1$

Rys. 1a. Pierwsza metafaza u *T. nigrescens*, 8 biwalentów; Rys. 2a. Pierwsza anafaza u *T. nigrescens*, po 8 chromosomów w dwóch grupach; Rys. 3a. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens*, tetrada z mostkiem między mikrojądrami i dwoma chromosomami w cytoplazmie; Rys. 4a. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens*, dwujądrowa mikrospora.

Figs 1—4. Meiosis in *T. nigrescens* and $F_1$ plants

Fig. 1a. *T. nigrescens* M I 8 bivalents; Fig. 2a. *T. nigrescens* A I 8 chromosomes in two groups; Fig. 3a. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens*, tetrad with a bridge between micronuclei and with two chromosomes in cytoplasm; Fig. 4a. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* microspore with two nuclei.

*pens* przebiegają bez zakłóceń, po drugim podziale formują się regularne tetrady mikrospor. W jednej z 52 analizowanych komórek *T. nigrescens* podczas pierwszej anafazy był mostek (fot. 20), w pozostałych komórkach rozchodzenie się chromosomów do biegunów wrzeciona kariokinetycznego podczas pierwszej (rys. 2a) i drugiej anafazy przebiegało prawidłowo, następnie formowały się tetrady mikrospor. Jądra komórek mikrospor w tetradzie u *T. repens* są przeważnie 1-jąderkowe i tylko niewielki odsetek mikrospor ma jądro z dwoma jąderkami. U *T. nigrescens* większość mikrospor ma jądro z dwoma i więcej jąderkami.

## Mejoza u mieszańców

W fazie diakinezy i pierwszej metafazy w komórkach roślin mieszańcowych chromosomy występowały, w zasadzie, w formie biwalentów i uniwalentów (fot. 21—25). Sporadycznie spotykano w komórce pojedynczy triwalent (fot. 24 i 25). Przy czym nie zawsze można było ustalić, czy triwalent powstał przez połączenie chiazmatyczne, czy w wyniku przypadkowego ułożenia się biwalentu obok uniwalentu. Biwalenty i triwalenty podczas pierwszej metafazy znajdowały się na ogół w płaszczyźnie równikowej komórki. Uniwalenty najczęściej spotykano na peryferiach komórki, chociaż niekiedy leżały one także w jej części środkowej. Podział biwalentów nie zawsze był ściśle zsynchronizowany, niekiedy jedne dzieliły się wcześniej, inne później (fot. 22). Najwięcej było komórek, w których podczas pierwszej metafazy znajdowało się 6 biwalentów i 12 uniwalentów, oraz komórek z 7 biwalentami i 10 uniwalentami (tab. 8, fot. 23). Uniwalenty w fazach diakinezy i pierwszej metafazy występowały stosunkowo często w postaci uniwalentnych asocjacji (fot. 23, 24 i 25). Średnia liczba biwalentów na jedną komórkę wynosiła 6,29 z wahaniami od 2 do 8 biwalentów. Uniwalentów było odpowiednio 10,77 z wahaniami od 4 do 20 uniwalentów, triwalentów 0,21 z wahaniami od 1 do 3 triwalentów (tab. 8). W nielicznych komórkach podczas pierwszej metafazy formowały się dwie różniące się liczbą chromosomów grupy. W takich wypadkach w grupie złożonej z większej liczby chromosomów formowała się płytka podziałowa, a w grupach z mniejszą liczbą — chromosomy i biwalenty były chaotycznie rozrzucone.

Zachowanie się chromosomów podczas pierwszej anafazy ilustruje tabela 9. Widać z niej, że równy podział, tzn. po 12 chromosomów do przeciwległych biegunów komórki, miał miejsce u 9,1% komórek. Komórek, w których podczas pierwszej anafazy rozdział chromosomów był nierówny, ale nie znajdowano w nich chromosomów opóźnionych lub fragmentów, było 6,4%. W pozostałych komórkach podczas tej fazy do przeciwległych biegunów przesuwała się różna liczba chromosomów, a w części środkowej pozostawały jako opóźnione od 1 do 14 chromosomów (fot. 26—28). Występowały także mostki chromosomowe w liczbie od 1 do 3 (fot. 26—28) i fragmenty. W niektórych komórkach uniwalenty dzieliły się podczas anafazy wykazując aktywność neocentryczną i przesuwały się do jednego bieguna komórki (fot. 29) lub do przeciwległych biegunów, albo pozostawały w jej części środkowej (fot. 30).

Opóźnione chromosomy nie zawsze zdążyły wejść do jąder siostrzanych, a mostki ulec rozerwaniu, gdyż w fazie telofazy i interkinezy spotykano komórki z chromosomami w cytoplazmie i mostkami (fot. 31). Jądra siostrzane po pierwszym podziale są najczęściej mniej więcej elipsoidalne i zawierają od jednego do czterech jąderek. Były także diady z jednym

Tabela 8 — Table 8

Przebieg diakinezy i pierwszej metafazy u roślin $F_1$
Course of diakinesis and metaphase I in $F_1$ plants

| | Figury chromatynowe Chromatine figures | | | Liczba analizowanych komórek Number of PMC |
|---|---|---|---|---|
| | II | III | I | |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | 8 | — | 8 | 54 |
| | 8 | 1 | 5 | 14 |
| | 7 | — | 10 | 65 |
| | 7 | 1 | 7 | 20 |
| | 7 | 2 | 4 | 1 |
| | 6 | — | 12 | 58 |
| | 6 | 1 | 9 | 20 |
| | 6 | 2 | 6 | 4 |
| | 5 | — | 14 | 42 |
| | 5 | 1 | 11 | 7 |
| | 5 | 2 | 8 | 5 |
| | 4 | — | 16 | 15 |
| | 4 | 1 | 13 | 3 |
| | 4 | 2 | 10 | 1 |
| | 4 | 3 | 7 | 1 |
| | 3 | — | 18 | 4 |
| | 2 | — | 20 | 1 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | 8 | — | 8 | 26 |
| | 7 | — | 10 | 29 |
| | 6 | — | 12 | 52 |
| | 5 | — | 14 | 22 |
| | 5 | 1 | 11 | 5 |
| | 4 | — | 16 | 7 |
| | 4 | 1 | 13 | 1 |
| | 3 | — | 18 | 3 |
| | 3 | 2 | 12 | 1 |
| | 2 | — | 20 | 1 |
| Razem — Total | | | | 462 |

I — uniwalenty — univalents
II — biwalenty — bivalents
III — triwalenty — trivalents

elipsoidalnym jądrem jednojąderkowym i drugim czterojąderkowym kształtu długiego walca (fot. 32).

Jak widać z tabeli 10, w której podano liczbę chromosomów w grupach siostrzanych podczas drugiej profazy i metafazy, odsetek komórek w których liczba chromosomów w jądrach jest równa 12 wynosi 38,2%. Wskazuje to, w porównaniu z danymi dotyczącymi anafazy pierwszej (tab. 9), że w części komórek podczas anafazy i telofazy chromosomy zdążyły wejść do jąder potomnych. W pozostałych komórkach liczba chro-

Tabela 9 — Table 9

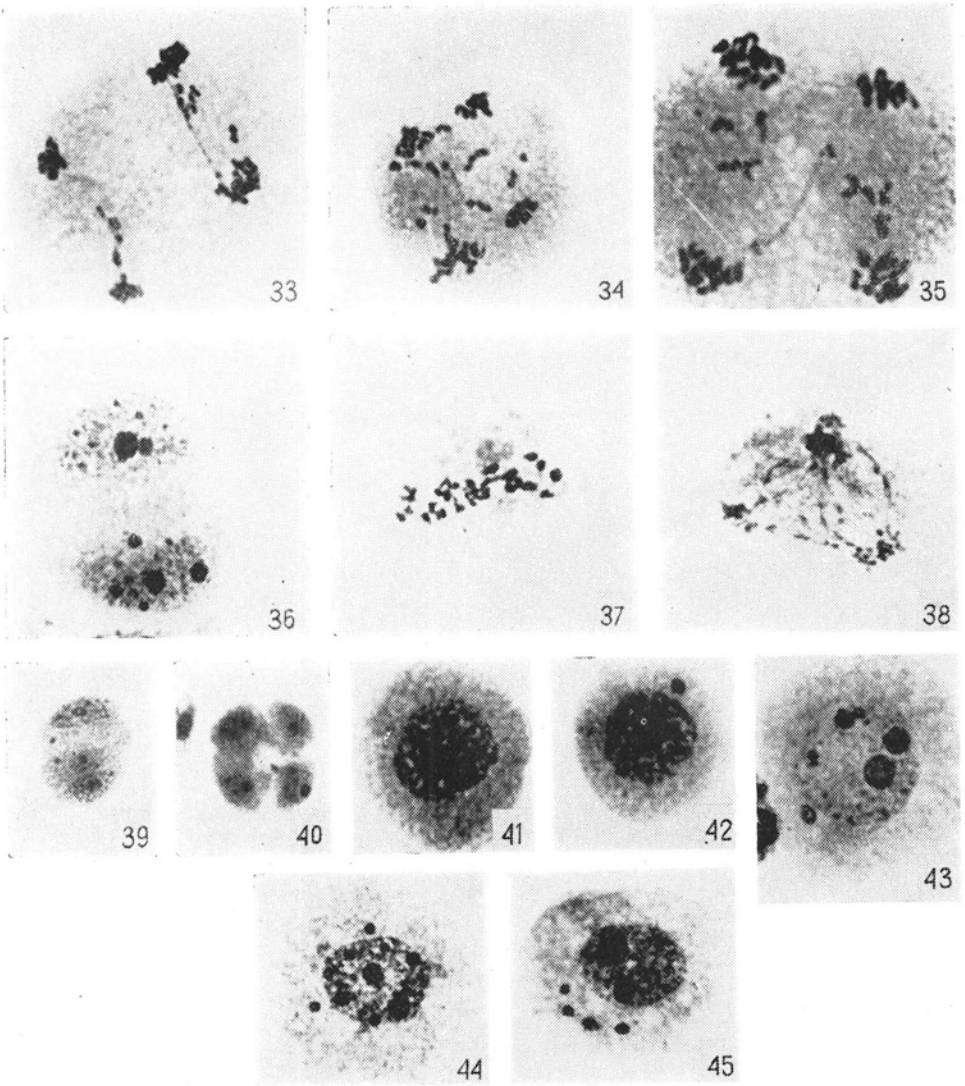
Przebieg pierwszej anafazy u roślin $F_1$
Course of the anaphase I in $F_1$ plants

| Liczba analizowanych komórek Number of PMC | Liczba chromosomów Number of chromosomes | | | w tym komórek z mostkiem(ami) cells with bridge(s) |
|---|---|---|---|---|
| | 1-szy biegun 1-st pole | opóźnione chromosomy lagging chromosomes | 2-gi biegun 2-nd pole | |
| 10 | 12 | — | 12 | 2 |
| 3 | 13 | — | 11 | 2 |
| 2 | 10 | — | 14 | — |
| 2 | 9 | — | 15 | — |
| 4 | 8 | 8 | 8 | — |
| 4 | 11 | 2 | 11 | — |
| 3 | 10 | 2 | 12 | — |
| 1 | 10 | 4 | 10 | — |
| 2 | 10 | 5 | 9 | — |
| 1 | 5 | 14 | 5 | — |
| 2 | 7 | 10 | 7 | — |
| 1 | 14 | 2 | 8 | — |
| 1 | 7 | 9 | 8 | 1 |
| 2 | 8 | 5 | 11 | — |
| 1 | 9 | 7 | 8 | — |
| 1 | 6 | 8 | 9 | — |
| 1 | 8 | 6 | 10 | — |
| 1 | 11 | 3 | 10 | — |
| 1 | 7 | 8 | 9 | — |
| 1 | 8 | 7 | 9 | — |
| 2 | 11 | 1 | 12 | — |
| 1 | 7 | 12 | 5 | — |
| 1 | 7 | 11 | 6 | — |
| 1 | 9 | 2 | 13 | — |
| 2 | 10 | 6+2 fragmenty fragments | 8 | — |
| 1 | 10 | 2 fragmenty fragments | 14 | — |
| 1 | 11 | 4 fragmenty fragments | 11 | — |
| 56 | nie liczone not counted | 1—13 | nie liczone not counted | 17 |

mosomów w jądrach potomnych odbiegała od liczby 12, a poza jądrami znajdowano chromosomy i fragmenty, których liczba wahała się od 1 do 9 (tab. 10). Były komórki, w których płytki metafazowe były połączone mostkami chromatynowymi powstałymi podczas pierwszego podziału.

Równy rozdział chromosomów, czyli po 12 w czterech grupach podczas drugiej anafazy, miał miejsce w 3 ze 100 analizowanych komórek. W po-

Tablica IV




Fot. 33—45. Mejoza u roślin $F_1$

Fot. 33. Druga telofaza, mostek i opóźnione chromosomy; Fot. 34 i 35. Druga telofaza, mostek z pierwszego podziału i opóźnione chromosomy; Fot. 36. Diada mikrospor; Fot. 37. Metafaza w jądrze restytucyjnym; Fot. 38. Telofaza w jądrze restytucyjnym, wrzeciono trójbiegunowe; Fot. 39. Triada uformowana po pierwszym podziale, w cytoplazmie trzy mikrojądra; Fot. 40. Tetrada mikrospor z różną liczbą jąderek w jądrze; Fot. 41—45. Mikrospory; Fot. 41. Jednojądrowa i jednojąderkowa; Fot. 42. W cytoplazmie znajduje się mikrojądro; Fot. 43. W jądrze cztery jąderka, w cytoplazmie dwa mikrojądra; Fot. 44. W jądrze siedem jąderek, w cytoplazmie trzy mikrojądra; Fot. 45. W jądrze dwa jąderka, w cytoplazmie cztery mikrojądra.

Photos 33—45. Meiosis in $F_1$ plants

Fig. 33. T II bridge and lagging chromosomes; Figs 34—35. T II bridge from the first division and lagging chromosomes; Fig. 36. Diad of microspores; Fig. 37. Metaphase in the restitution nucleus; Fig. 38. Telophase in the restitution nucleous, three poles spindle; Fig. 39. Triad formed after first division, three micronuclei in cytoplasm; Fig. 40. Tetrad of microspores with various number of nucleoli in nuclei; Figs 41—45. Microspores; Fig. 41. One-nucleate and one-nucleolate; Fig. 42. With micronucleus in cytoplasm; Fig. 43. Four nucleoli in nucleus and two micronuclei in cytoplasm; Fig. 44. Seven nucleoli in nucleus and three micronuclei in cytoplasm; Fig. 45. Two nucleoli in nucleus and four micronuclei in cytoplasm.

Tabela 10 — Table 10

Liczba chromosomów w grupie podczas profazy i metafazy drugiej u roślin $F_1$
Number of chromosomes in the group in prophase II and metaphase II in $F_1$ plants

| Liczba analizowanych komórek Number of PMC | Liczba chromosomów w grupie Number of chromosomes in the group | | Chromosomy poza grupami Chromosomes outside the groups | Uwagi Remarks |
|---|---|---|---|---|
| | 1-sza grupa 1-st group | 2-ga grupa 2-nd group | | |
| 60 | 12 | 12 | — | mostek—bridge |
| 30 | 13 | 11 | — | |
| 13 | 14 | 10 | — | mostek—bridge |
| 3 | 15 | 9 | — | |
| 1 | 16 | 8 | — | |
| 1 | 14 | 9 | 1 | |
| 1 | 16 | 7 | 1 | |
| 1 | 13 | 9 | 2 | |
| 13 | 12 | 11 | 1 | |
| 1 | 9 | 9 | 6 | |
| 2 | 12 | 10 | 2 | |
| 1 | 12 | 9 | 3 | |
| 1 | 10 | 10 | 4 | |
| 3 | 11 | 11 | 2 | |
| 1 | 11 | 10 | 3 | |
| 1 | 9 | 8 | 7 | |
| 1 | 13 | 10 | 1 | |
| 1 | 12 | 12 | fragment. | |
| 1 | 13 | 10 | 2 fragment. | |
| 1 | 11 | 11 | 5 fragment. | |
| 1 | 12 | 11 | 2 fragment. | |
| 20 | nie liczone not counted | nie liczone not counted | 1—9 | mostek—bridge |
| Razem Total 157 | | | | |

zostałych komórkach rozdział chromosomów do jąder potomnych był niejednakowy, liczba opóźniających się chromosomów wahała się od 1 do 10, a średnio na jedną komórkę wynosiła 4,2 chromosomu (fot. 33—35). Mostki chromatydowe znajdowano w 26 ze 100 badanych komórek, liczba mostków na komórkę wahała się od 1 do 4 mostków, a średnio wynosiła 0,65 mostka na komórkę. Podczas drugiej anafazy i telofazy znajdowano także mostki powstałe podczas pierwszego podziału mejotycznego (fot. 34 i 35). Po drugim podziale w fazie interkinezy w cytoplazmie tetrad znajdowano mostki i chromosomy (rys. 3a).

Przebieg mejozy w komórkach rośliny $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* — sektorialnej chimery chlorofilowej — z sektora zielonego był nieco inny niż wyżej opisany. Mianowicie podczas diakinezy i pierwszej metafazy chromosomy występowały w formie bi- i uniwalentów, ale w części ko-

Tabela 11 — Table 11

Mikrosporogeneza
Microsporogenesis

| Gatunek Species | Rodzaj poliad Tipe of poliads | | | | | | Razem Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | monady monads | diady diads | triady triads | tetrady tetrads | pentady pentads | heksady hexads | |
| *T. repens* | | | | 203 | | | 203 |
| *T. nigrescens* | | | | 160 | | | 160 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | | | | | | | |
| No. 10 | | | 3 | 196 | | 1 | 200 |
| 12 | | 1 | 3 | 196 | 12 | 4 | 216 |
| 6 | | | 1 | 244 | 1 | | 246 |
| 7 | | 3 | 3 | 160 | 14 | | 180 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | | | | | | | |
| No. 9 | | 3 | 1 | 208 | 1 | | 213 |
| 34 | 4 | 110 | 16 | 85 | | | 215 |

Tabela 12 — Table 12

Liczba jąderek w jądrze mikrospory
Number of nucleoli in the microspore nucleus

| Gatunek Species | Liczba jąderek w jądrze Number of nucleoli in the nucleus | | | | | | | | Razem Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | % | 2 | % | 3 | % | 4 | % | |
| *T. repens* | 214 | 96.40 | 8 | 3.60 | | | | | 222 |
| *T. nigrescens* | 59 | 24.08 | 113 | 46.12 | 57 | 23.26 | 16 | 6.54 | 245 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | | | | | | | | | |
| No. 10 | 203 | 99.03 | 2 | 0.97 | | | | | 205 |
| 12 | 200 | 97.56 | 5 | 2.44 | | | | | 205 |
| 6 | 190 | 95.00 | 9 | 4.50 | 1 | 0.50 | | | 200 |
| 7 | 172 | 96.10 | 6 | 3.34 | 1 | 0.56 | | | 179 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | | | | | | | | | |
| No. 9 | 127 | 61.06 | 58 | 27.28 | 22 | 10.58 | 1 | 0.48 | 208 |
| 34 | 86 | 41.35 | 69 | 33.17 | 39 | 18.75 | 14 | 6.73 | 208 |

mórek nie zachodziła pierwsza anafaza. Po podziale chromosomy nie rozchodziły się do biegunów komórki, lecz pozostawały w jej części środkowej. Po interkinezie następował następny podział w jądrze restytucyjnym, podczas którego chromosomy w liczbie około 24 układały się w jedną płytkę metafazową (fot. 37). Jądro restytucyjne mogło dzielić się w różny sposób. Gdy w komórce z jądrem restytucyjnym uformowało się wrzeciono kariokinetyczne dwubiegunowe, po podziale z takiej komórki powstawała diada mikrospor (fot. 36). Niekiedy wrzeciono kariokinetyczne

Tabela 13 — Table 13

Liczba mikrojąder w mikrosporze
Number of micronuclei in the microspore

| Gatunek Species | Liczba mikrojąder Number of micronuclei | | | | | Razem Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | brak none | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| *T. repens* | 54 | | | | | 54 |
| *T. nigrescens* | 56 | | | | | 56 |
| $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* | | | | | | |
| No. 10 | 18 | 19 | 13 | | | 50 |
| 12 | 45 | 8 | 1 | | | 54 |
| 6 | 42 | 17 | 6 | | | 65 |
| 7 | 23 | 26 | 5 | | | 54 |
| $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* | | | | | | |
| No. 9 | 25 | 20 | 5 | 1 | | 51 |
| 34 | 31 | 15 | 5 | 1 | 1 | 53 |

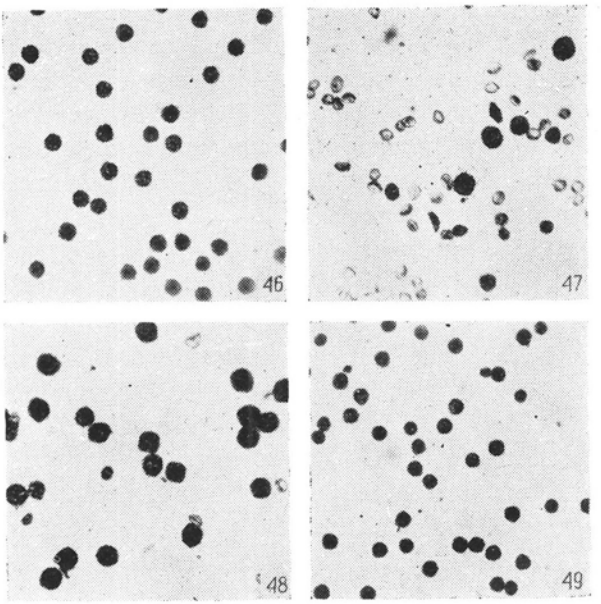
było trójbiegunowe (fot. 38), taka komórka mogła dać początek triadzie mikrospor. Mogły także powstawać triady z dodatkowymi mikrojądrami (fot. 39). Jądra mikrospor powstałe z diad mają niezredukowaną liczbę chromosomów, która wynosi, przynajmniej dla części mikrospor, po 24 chromosomy. Komórki w których po pierwszym podziale nie formowało się jądro restytucyjne, po drugim podziale przekształcały się w tetrady mikrospor.

Po podziale substancji jądrowej u czterech roślin $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* oraz u jednej rośliny $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* komórki macierzyste pyłku w przeważającej większości przekształciły się w tetrady mikrospor, a tylko sporadycznie znajdowano różne od tetrad poliady mikrospor (tab. 11). Mikrospory w tetradach różniły się liczbą jąderek w jądrze (tab. 12). U roślin $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens,* podobnie jak u *T. repens,* większość mikrospor ma w jądrze jedno jąderko. Jądra przeważającej części mikrospor roślin $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* są, podobnie jak jądra mikrospor *T. nigrescens,* dwu- i więcej jąderkowe (fot. 40). Sporadycznie spotykano dwujądrowe mikrospory w tetradach, w których jądra znajdowały się obok siebie (rys. 4a).

W plazmie części mikrospor roślin $F_1$ oprócz jądra znajdowało się od 1 do 4 mikrojąder (fot. 41—45, tab. 13), leżą one w różnej odległości od jądra. U analizowanych roślin mieszańcowych odsetek mikrospor zawierających mikrojądra wahał się od 16,6 do 64,0%. Najczęstsze były mikrospory z jednym mikrojądrem, a cztery mikrojądra zawierała tylko jedna z analizowanych mikrospor.

Średnicę dojrzałych ziarn pyłkowych roślin form rodzicielskich i mieszańców pokazano na wykresie I. Widać z niego, że między ziarnami pył-

Tablica V




Fot. 46—49. Ziarna pyłku

Fot. 46. *T. repens;* Fot. 47. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens;* Fot. 48. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens,* z części zielonej rośliny chimery chlorofilowej; Fot. 49. *T. nigrescens.*

Photos 46—49. Pollen grains

Fig. 46. *T. repens;* Fig. 47. $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens;* Fig. 48. $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* with a green part of the chlorophyll chimera plant; Fig. 49. *T. nigrescens.*

ku badanych roślin *T. repens* różnice są niewielkie (fot. 46). Krzywa ilustrująca średnicę i częstotliwość występowania ziarn pyłku o określonej wielkości u roślin *T. nigrescens* (fot. 49) jest jednowierzchołkowa, a różnice między minimalną i maksymalną średnicą ziarn pyłkowych i ich częstotliwością są nieco większe niż u *T. repens.* Krzywa częstotliwości dla roślin $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* ma także jeden szczyt, który jest identyczny ze szczytem dla *T. nigrescens.* Różni się ona od krzywej dla ziarn pyłkowych dla *T. nigrescens* tym, że jest niższa i charakteryzuje się rozrzutem średnicy ziarn pyłku od 17 do 39 mikr. (fot. 47). Dla roślin $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* krzywa średnicy ziarn pyłkowych ma dwa szczyty, z których jeden jest identyczny ze szczytami dla roślin $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* i *T. nigrescens,* drugi jest przesunięty na prawo i znajduje się między 34—36 mikr. średnicy (fot. 48). Należy dodać, że kształt krzywej dla średnicy ziarn pyłkowych roślin $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* jest bardziej płaski niż krzywa dla średnicy ziarn pyłku poprzedniego mieszańca.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Nasiona mieszańcowe krzyżując *T. repens* z *T. nigrescens* otrzymali Trimble, Keim (1953) i Evens (1962). Liczbę nasion mieszańcowych cytowani autorzy otrzymali niewielką krzyżując na poziomie diploidalnym *T. repens* ♀ × *T. nigrescens* ♂. Przy krzyżowaniu zwrotnym (*T. nigrescens* ♀ × *T. repens* ♂) nasion nie otrzymali wcale albo sporadycznie pojedyncze nasienie. Przy czym, jak podają, większa część nasion mieszańcowych była niedokształcona.

Badania własne z krzyżowaniem wzajemno-przemiennym *T. repens* i *T. nigrescens* wykazały, że gatunki te krzyżują się dobrze w obie strony i dają normalnie rozwinięte i wypełnione nasiona mieszańcowe.

U obu gatunków zalążnia jest czterozalążkowa. Przyjmując, że w każdym zalążku znajdowała się zdolna do pełnienia normalnych funkcji komórka jajowa, zawiązywanie nasion przy krzyżowaniu *T. repens* ♀ z *T. nigrescens* ♂ wynosiło 54%, a przy krzyżowaniu odwrotnym 79%. Tak wysokiego zawiązywania nasion przy krzyżowaniu dwóch omawianych gatunków koniczyny nie otrzymał żaden z cytowanych badaczy.

Trimble, Brawbeker i Keim, (1953), Keim oraz Evans wysiewali nasiona mieszańcowe na wilgotną bibułę filtracyjną na szalkach Petriego. W takich warunkach, jak podają, kiełkowały one bardzo słabo i szybko ginęły. W związku z czym Keim (1953) rozwijające się po zapłodnieniu zarodki mieszańcowe wyszczepiał na specjalnie przygotowaną pożywkę, a Evans (1962) dla ominięcia niezgodności krzyżowanych gatunków szczepiła je i zapylała szczepione rośliny, a rozwijające się na zrazach zarodki przenosiła na pożywkę. Stosując wzajemnie na sobie szczepienie krzyżowanych roślin, i następnie przenosząc na pożywkę rozwijające się zarodki, wymienionym badaczom w niewielkim stopniu udało się zwiększyć liczbę roślin mieszańcowych. Otrzymane przez nas nasiona mieszańcowe po skaryfikacji kiełkowały normalnie na wilgotnej bibule na szalkach Petriego. Należy podkreślić, że odsetek nasion, które wykiełkowały, i roślin, które zakwitły, jest wielokrotnie wyższy niż odsetek kwitnących roślin otrzymanych z wyszczepionych zarodków przez cytowanych autorów.

Z barier oddzielających gatunki roślinne zasadnicze i najbardziej rozpowszechnione są zapewne te, które uniemożliwiają wzrost lub rozmnażanie się mieszańców $F_1$ (Stebbins, 1951). Brak chlorofilu i zaburzenia w jego produkcji u $F_1$ są jedną z przyczyn zamierania siewek mieszańcowych. Wytwarzanie chlorofilu jest niewątpliwie warunkowane genetycznie. Menke (1960) podaje, że są geny które mogą poważnie zwiększać częstotliwość mutacji plastydowej. Geny takie są alleliczne w stosunku do genów kontrolujących rozwój normalnej struktury plastydów.

Niejednokrotnie podejmowano próby wyjaśnienia przyczyn i mechanizmów występowania defektów chlorofilowych u mieszańców. Ross

i Holm (1960) badając przypadek zmian chlorofilowych u pomidorów stwierdzili, że są one prawdopodobnie powodowane przez jakiś mechanizm segregacji somatycznej. Menke (1960) uważa, że transkrypcja segmentów chromosomów daje bezpośredni efekt fenotypowy w postaci defektów chlorofilowych. Ma to miejsce wtedy, gdy w wyniku specjalnych mutacji chromosomowych mogą powstawać komórki z zielonymi i albinotycznymi plastydami. Jaranowski (1962) badając mieszańce nostrzyku (*Melilotus polonica* × *M. alba*), gdzie siewki $F_1$ były normalnie zielone, a albinotyczne pojawiły się w $F_2$, i w krzyżówkach wstecznych w przypadku gdy rośliny z defektem chlorofilowym zapylano pyłkiem *M. alba*, doszedł do wniosku, że defekty chlorofilowe u badanego przez niego mieszańca mogą być powodowane tylko zmianami w chromosomach, gdyż mieszaniec jest strukturalną heterozygotą.

W naszym wypadku siewki mieszańcowe zależnie od kierunku krzyżowania były zielone (*T. repens* × *T. nigrescens*) lub bezchlorofilowe (*T. nigrescens* × *T. repens*). W związku z czym i przeżywalność była różna, dla pierwszych wynosiła 69% dla drugich 7%. Niezdolność do produkcji zielonych plastydów albo wytwarzanie ich tylko przez niewielkie fragmenty tkanek roślin $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* może być powodowana niezgodnością modelu genetycznego powstawania zielonych plastydów u gatunków rodzicielskich.

Odmienne zachowanie się plastydów w zygocie krzyżówki *T. repens* ♀ × *T. nigrescens* ♂ i *T. nigrescens* ♀ × *T. repens* ♂ wymaga założenia, że ich stan fizjologiczny w komórce jajowej *T. repens* i *T. nigrescens* przed zapłodnieniem nie jest jednakowy; podobnego rodzaju zróżnicowanie plastydów może mieć miejsce. Cytowany już Menke uważa, że aby zrozumieć różnice w zachowaniu się plastydów podczas mutacji należy założyć, że wewnątrz plastydów są struktury wymagające do swej syntezy oprócz enzymów i substratu pewnej niewielkiej ilości produktu reagującego spełniającego rolę inicjatora. W innych wypadkach reakcja zachodzi bez tego produktu. Można więc przyjąć, że w 16-chromosomowej komórce jajowej *T. repens* znajduje się wystarczająca ilość czynnika inicjującego, potrzebnego do zapoczątkowania produkcji zielonych plastydów, a zapłodnienie 8-chromosomową komórką plemnikową *T. nigrescens* czynność tę tylko wyzwala (lub zapoczątkowuje). W przypadku odwrotnej krzyżówki 8-chromosomowa gameta żeńska *T. nigrescens* nie zawiera czynnika inicjującego prawdopodobnie dlatego, że gen lub geny warunkujące jego produkcję będąc w liczbie pojedynczej nie są w stanie go zabezpieczyć. Po zapłodnieniu 8-chromosomowej komórki jajowej *T. nigrescens* 16-chromosomową komórką plemnikową *T. repens* wniesione przez plemnik geny, nie znajdując produktu inicjującego nie mogą zapoczątkować wytwarzania zielonych plastydów. Można jednak przypuszczać, że w pewnych wypadkach działając w zmienionych warunkach geny *T. repens* pokonują pewien próg i inicjują powstawanie zielonych plasty-

dów. O takim działaniu genów *T. repens* w cytoplazmie komórki jajowej *T. nigrescens* mogą świadczyć siewki i rośliny będące sektorialnymi chimerami chlorofilowymi oraz rośliny o organach pstrych.

Przyjęcie innego założenia — somatycznego crossing over, w wyniku którego pojawiałyby się sektory lub plamy zielone i bezchlorofilowe — nie wydaje się słuszne. Somatycznym crossing over można tłumaczyć — przyjmując teorię komórek z mieszanymi plastydami — pojawianie się plam albinotycznych na zielonym liściu. Teoria ta, naszym zdaniem, nie może wyjaśnić pojawiania się sektorów lub plam zielonych na albinotycznym liściu, gdyż zmiany w chloroplastach w kierunku destrukcyjnym są nieodwracalne (Menke, 1960).

Podejmowane przez Jaranowskiego (1962) oraz Rossa i Holma (1960) próby stwierdzenia, czy i jaka zachodzi zależność między ilością ziarn pyłkowych żywotnych i wielkością plam albinotycznych, wykazały, że zależności takiej nie ma. U badanego mieszańca *Trifolium* jedna z roślin krzyżówki *T. nigrescens* × *T. repens*, będąca sektorialną chimerą chlorofilową, miała w kwiatach z części albinotycznej 11,7% barwiących się mikrospor, a w kwiatach z sektora zielonego 34,8%. Przebieg mejozy i mikrosporogenezy w komórkach z części zielonej tej rośliny był odmienny niż u roślin pstrych tejże krzyżówki, a także u roślin krzyżówki *T. repens* × *T. nigrescens*. W procesie mejozy w wielu komórkach z części zielonej rośliny sektorialnej chimery chlorofilowej formowały się jądra restytucyjne, a po podziale wyrównawczym powstawały diady mikrospor. Można więc przypuszczać, że geny *T. repens*, które w cytoplazmie *T. nigrescens* zainicjowały produkcję zielonych plastydów, wywarły także jakiś wpływ na proces mejozy i sporogenezy.

Mejoza w komórkach badanego mieszańca koniczyny, jak i u innych mieszańców powstałych ze skrzyżowania gatunków różniących się liczbą chromosomów (Heneen, 1963; Bennet & Bashaw, 1960; Magoon, Hougas, Cooper, 1958 a i b; Endrizzi, 1957; Nielsen i Nath, 1962; Kazimierski i Kazimierska, 1968) przebiegała z dużymi odchyleniami. Średnio w komórce podczas diakinezy i pierwszej metafazy znajdowało się biwalentów 6,29 z wahaniami od 2 do 8 biwalentów, triwalentów 0,21 z wahaniami od 1 do 3 triwalentów, uniwalentów 10,77 z wahaniami od 4 do 20 uniwalentów. W części komórek biwalenty i chromosomy wykazywały dużą lepkość i tworzyły trudne do określenia figury chromatynowe. Uniwalenty stosunkowo często stykały się po dwa lub trzy dając niechiazmatyczne asocjacje.

We wczesnej anafazie niektóre biwalenty wykazują pewien stopień heteromorficzności, która może wskazywać, że powstały one w wyniku autosyndezy jak i allosyndezy. W średniej i późnej anafazie oraz telofazie spotykano dicentryczne i monocentryczne mostki oraz opóźnione chromosomy i fragmenty. Pierwsze znajdowano w 20% komórek będących w stadium pierwszej anafazy, a liczba ich wahała się od 1 do 3 most-

ków na komórkę. Równe, tzn. po 12, rozchodzenie się do biegunów wyspotykano nie rozerwane mostki pozostałe po pierwszej anafazie, opóźnio- komórki przemieszczała się niejednakowa liczba chromosomów, a w środkowej części komórki pozostawało od 1 do 14 chromosomów, fragmenty lub chromosomy i fragmenty.

Drugi podział przebiegał także nieregularnie. Podczas drugiej anafazy spotykano nierozerwane mostki pozostałe po pierwszej anafazie, opóźnione chromosomy i mostki między siostrzanymi jądrami. Podczas pierwszej i drugiej interfazy w cytoplazmie diad i tetrad często spotykano chromosomy, fragmenty i mikrojądra. Opóźniające się podczas pierwszej anafazy chromosomy przynajmniej w części nie wchodziły do jąder telofazowych. Świadczą o tym mikrojądra i chromosomy często spotykane w cytoplazmie podczas pierwszej i drugiej interfazy.

Po drugiej telofazie większość komórek mieszańca przekształcała się w tetrady mikrospor, poliad różnych od tetrad było niewiele. Tylko roślina mieszańcowa będąca sektorialną chimerą chlorofilową miała ponad 50% diad mikrospor, powstały one z komórek, w których miała miejsce restytucja jądra.

Liczba jąderek w jądrze mikrospory jest, prawdopdobnie, w wysokim stopniu przekazywana w linii żeńskiej, gdyż mikrospory roślin $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* mają w ponad 95% jądro jednojąderkowe podobnie jak *T. repens;* mikrospory roślin $F_1$ krzyżówki odwrotnej mają, podobnie do *T. nigrescens,* przeważnie więcej niż jednojąderkowe jądro.

W cytoplazmie 43,5% mikrospor oprócz jądra znajdowało się od 1 do 2, a sporadycznie i więcej mikrojąder. Ten wysoki odsetek mikrospor z mikrojądrami tłumaczy, w pewnym stopniu, niewielki odsetek różnych od tetrad i diad poliad mikrospor. Większość opóźnionych chromosomów znalazła się w cytoplazmie mikrospor i dlatego, prawdopodobnie, kwartety dzieliły się przeważnie regularnie na cztery, a duplety na dwie części. Tylko sporadycznie podział komórek przebiegał odmiennie.

Badany mieszaniec miał niewielki odsetek żywotnych mikrospor. U większości roślin $F_1$ odsetek barwiących się ziarn pyłku nie przekraczał 10% i tylko u rośliny z często występującą restytucją jądra wynosił 34,8%. Przy krzyżowym zapyleniu zawiązywanie nasion na główkę wynosiło od 0,6 do 1,5 nasienia.

Pod względem cech morfologicznych mieszaniec był pośredni między formami rodzicielskimi, wyróżniał się tym, że miał większe kwiaty, węższe blaszki liściowe i większy zakres w zmienności średnicy ziarenek pyłkowych niż formy rodzicielskie.

Przebieg mejozy u badanego mieszańca dowodzi, że między chromosomami jednego z genomów *T. repens* i *T. nigrescens* zachodzi znaczne pokrewieństwo. Obserwowane odchylenia w przebiegu tego procesu, takie jak mostki chromatynowe i fragmenty są następstwem wymiany w pętli inwersyjnej i wskazują na istnienie strukturalnej heterozygotyczności.

Obecność uniwalentów i małej liczby triwalentów może świadczyć o braku pokrewieństwa jednego z trzech genomów występujących u mieszańca w stosunku do dwóch pozostałych koniugujących genomów. Przeprowadzone badania pozwalają przypuszczać, że *T. repens* z *T. nigrescens* są bliżej spokrewnione niż *T. repens* z *T. xerocephalum* (Kazimierski i Kazimierska, 1968), tym niemniej tak *T. nigrescens*, jak i *T. xerocephalum* mogą uchodzić za prekursorów *T. repens*.

## WNIOSKI

1. *T. repens* krzyżuje się przemiennie z *T. nigrescens*. Nasiona mieszańcowe są normalnie wykształcone i wypełnione. Wysiane po skaryfikacji na szalki Petriego normalnie kiełkują. Z wysadzonych do doniczek siewek krzyżówki *T. repens* ♀ × *T. nigrescens* ♂ przeżyło i zakwitło 69% roślin, a z krzyżówki odwrotnej 7% roślin. W przypadku mieszańca *T. nigrescens* ♀ × *T. repens* ♂ niska przeżywalność roślin była uwarunkowana zaburzeniami w produkcji chlorofilu.

2. Normalne wytwarzanie chlorofilu przez rośliny $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* i poważne zaburzenia lub niezdolność do produkcji chlorofilu przez siewki $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* można tłumaczyć, zgodnie z Menke (1960), różnym stanem fizjologicznym 16- i 8-chromosowych gamet żeńskich przed zapłodnieniem.

3. Porównując przebieg mejozy w komórkach z sektora zielonego i albinotycznego rośliny sektorialnej chimery chlorofilowej stwierdzono, że w części zielonej rośliny, w porównaniu z częścią albinotyczną, wielekroć częściej zachodzi restytucja jądra, wzrasta odsetek diad i żywotność mikrospor.

4. W fazie diakinezy i pierwszej metafazy w komórkach sporogennych mieszańców znajdowało się przeciętnie 6,29 biwalentów z wahaniami od 2 do 8 biwalentów, 0,21 triwalentów z wahaniami od 1 do 3 triwalentów i 10,77 uniwalentów z wahaniami od 4 do 20 uniwalentów. Podczas anafazy pierwszej rozdział chromosomów do jąder potomnych był przeważnie nierówny, spotykano mostki, opóźnione chromosomy i fragmenty. Także drugi podział przebiegał ze znacznymi odchyleniami. Po drugiej telofazie formowały się diady i tetrady mikrospor oraz niewielki odsetek innego typu poliad. Żywotność pyłku u większości roślin nie przekraczała 10%.

5. Rośliny mieszańcowe pod względem cech morfologicznych były pośrednie między formami rodzicielskimi. Wyróżniały się tym, że miały większe kwiaty, węższe blaszki listkowe i kwitły do pierwszych przymrozków.

6. Przy krzyżowym zapyleniu na główkę zawiązywało się średnio od 0,6 do 1,5 nasienia. Przy samozapyleniu na roślinach mieszańcowych nasiona nie wiązały się.

7. Przebieg mejozy u badanego mieszańca — liczba biwalentów dochodząca do 8 i rzadko spotykane triwalenty — wskazuje, że między genomem *T. nigrescens* i jednym z genomów *T. repens* zachodzi duże pokrewieństwo genetyczne. Można przypuszczać, z dużą dozą prawdopodobieństwa, że jeden z genomów *T. repens* pochodzi od diploidalnego gatunku *T. nigrescens*.

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

(Wpłynęło dn. 9.3.1970 r.)

## SUMMARY

Sixteen bivalents were observed in each of 93 *T. repens* microsporocytes, and eight bivalents in each of 115 *T. nigrescens* microsporocytes, in which the chromosomes were counted in diakinesis or heterotypic metaphase. *T. repens* crosses reciprocally with *T. nigrescens*. The hybrid seeds are full and are of normal shape. Having been sown after scarification in Petri dishes they germinated normally. Hybrid seedlings *T. repens* ♀ × *T. nigrescens* ♂ transplanted to pots survived and blossomed in 69%, but only 7% of plants survived a reverse cross. The poor survival of seedlings in the hybrid *T. nigrescens* ♂ × *T. repens* ♂ was the result of disturbances in chlorophyll production. Normal chlorophyll production by the $F_1$ *T. repens* × *T. nigrescens* plants and serious disturbances or impossibility of chlorophyll production by the $F_1$ *T. nigrescens* × *T. repens* seedlings may be explained, according to Menke (1960), by the differences before fertilization in the physiological condition of the 16 — and 8-chromosome egg cells.

Comparision of the course of meiosis in the buds from green and albinotic sectors in a sectorial chlorophyll chimera plant shows that in the green part of this plant many more nucleus restitutions took place, and the percentage of diads and pollen viability were higher than in the albinotic part.

During diakinesis and the first metaphase, in the analysed sporogenic hybrid cells there was an average of 6.29 bivalents (range 2—8), of 0,21 trivalents (range 1—3) and of 10.77 univalents (range 4—20). During the first anaphase the distribution of chromosomes between the sister nuclei was not equal. In the cytoplasm there were bridges, lagging chromosomes and fragments. At the second division they were also conspicuous disturbances. After the second telophase diads and tetrads of microspores were formed; the percentage of the other kind of polyads of microspores was not great. For the most part of the plants pollen viability was about 10%.

As regards the morphological traits, the hybrid plants were intermediate between the parental forms. They were distinquished from the parent by larger flowers and narrower leaflets, and they blossomed to the first frost.

After cross pollination the number of seeds per inflorescence was from 0,6 to 1.5. After self pollination the hybrid plants did not produce any seed.

In the course of meiosis, the number of bivalents in the investigated hybrid, was not more than 8; the low number of trivalents shows that between the *T. nigrescens* and the *T. repens* genomes there exists a strong genetic relationship. It would seem with a great degree of probability that one of the *T. repens* genomes is derived from the diploid species — *T. nigrescens*.

## LITERATURA

Atwood S. S., Hill H. D., 1940, The regularity of meiosis in microsporocytes of *Trifolium repens*, Americ. J. of Bot. 27: 730—735.

Bennet H. W., Bashaw E. C., 1960, An interspecific hybrid in *Papsalum*, J. of Heredity 51: 81—85.

Brewbaker J. L., Keim W. F., 1953, A fertile interspecific hybrid in *Trifolium*, Amer. Nat. 87: 323—326.

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 J. of Heredity 48: 221—226.

Evans A. M., 1962, Species hybridization in *Trifolium*. I. Methods of overcoming species incompatibility, Euphytica 11: 164—176.

Heneen W. K., 1963, Meiosis in the interspecific hybrid *Elymus farctus* × *E. repens* (=*Agropyron junceum* × *A. repens*), Hereditas 49: 107—118.

Jaranowski J., 1962, Chlorophyll deficiency and variegations as a result of interspecific crosses in *Melilotus*, Genetica Polonica 3: 1—18.

Karpechenko G. D., 1925, Karyologische Studien über die Gattung *Trifolium* L., Bull. Appl. Bot. and Plt. Breed. 14: 271—279.

Kazimierski T., Kazimierska E. M., 1968, Badania mieszańców w rodzaju *Trifolium* L. I. Sterylny mieszaniec *Trifolium repens* L. × *T. xerocephalum* Frenzl., Acta Soc. Bot. Pol. 37: 549—560.

Keim W. F., 1953, Interspecific hybridization in *Trifolium* utylizing embryo culture techniques, Agron. J. 45: 601—606.

Magoon M. L., Hougas R. W., Cooper C. D., 1958a, Cytogenetic studies of the tetraploid hybrids in *Solanum*. From hexaploid-diploid matings, J. of Heredity 49: 171—178.

Magoon M. L., Hougas R. W., Cooper C. D., 1958b, Cytogenetical studies of complex hybrids in *Solanum*, J. of Heredity 49: 285—293.

Menke W., 1960, Über ein Modell der Plastidenmutation, Zeitschr. f. Vererbungslehre, 91: 152—157.

Nielsen E. L., Nath J., 1962, Cytology of tetraploid-hexaploid timothy (*Phleum pratense* L.), Euphytica 11: 157—163.

Ross J. G., Holm G., 1960, Somatic segregation in tomato, Hereditas 46: 224—250.

Szafer W., Pawłowski B., 1959, Flora Polska. VIII. Dwuliścienne. Wolnopłatkowe-Dwukwiatowe, Część V, PWN, Warszawa.

Stebbins G. L., 1951, Variation and evolution in plants, Columbia Univ. Press, New York.

Wexelsen H., 1928, Chromosome numbers and morphology in *Trifolium*, Calif. Univ. Agr. Sci. 2: 355—376.