

Moment rozszczepienia czynników genetycznych u *Epilobium hirsutum* L.

(On the Moment of Mendelian Segregation in *Epilobium hirsutum* L.).

(Tablica XIV).

Napisał

JÓZEF PRZYBOROWSKI.

Przypuszczenie, że moment rozszczepienia czynników genetycznych przypada jednocześnie z podziałem redukcyjnym odpowiednich komórek macierzystych, opierano początkowo jedynie na analogach między jedną hipotetyczną, a drugą obserwowaną grupą zjawisk. Następnie otrzymano dla kilku przypadków ścisły dowód tego na-rującego się przypuszczenia; dotychczas jednak udało się to tylko dla roślin niższych, u których rozszczepienie można było obserwować bezpośrednio na czterech haplontach, pochodzących z jednej diploidalnej heterozygotycznej komórki macierzystej.

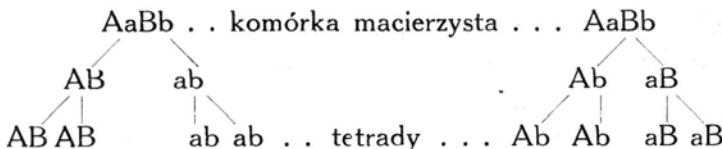
Dowód jest następujący. Gdyby rozszczepienie czynników genetycznych następowało u heterozygoty przed podziałami komórki macierzystej mikro- lub też makrospor, w takim razie już komórki macierzyste byłyby (przy pojedyńczej heterozygocji) dwojakie. Natomiast potomstwa każdej z nich, t. j. wszystkie cztery pochodzące z niej haplony, byłyby pod względem danego czynnika jednakowe. W przeciwnym razie, t. j. o ile rozszczepienie następuje dopiero podczas jednego z dwu podziałów komórki macierzystej, musimy wśród każdej tetrady haplontów otrzymać oba genotypy. Tak więc przez badanie osobna potomstwa poszczególnych komórek macierzystych można, już przy pojedyńczej heterozygocji, ustalić, czy roz-

szczepienie genetyczne poprzedzało wspomniane podziały, czy też przypadało na któryś z nich.

Przy wielorakiej heterozygotycznej można nawet stwierdzić ewentualnie, któremu z dwu podziałów towarzyszy rozszczepienie genetyczne. Jeżeli następowałoby ono przy pierwszym podziale (zazwyczaj redukcyjnym), wówczas w poszczególnych tetrach nie otrzymanoby nigdy więcej niż po dwa genotypy naraz, bez względu na ilość kombinacji możliwych w haplontach danej heterozygoty. W przeciwnym razie, t. j. gdyby rozszczepienie towarzyszyło drugiemu podziałowi, rekombinacja czynników mogłaby się odbyć rozmaicie w dwu parach jąder powstałych z drugiego podziału. Wówczas też w jednej tetradzie możnaby otrzymać niekoniecznie dwa, ale ewentualnie i cztery genotypy.

Obie możliwości zilustrujemy schematami dla podwójnej heterozygotycznej.

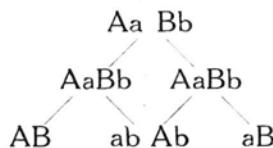
Schemat pierwszy — rozszczepienie genetyczne przy pierwszym podziale komórki macierzystej. Może ono nastąpić dwojako:



Możliwe są cztery genotypy, nigdy jednak więcej niż dwa naraz.
Schemat drugi — rozszczepienie genetyczne przy drugim podziale.



lub też



Schemat ten ilustruje możliwość otrzymania także czterech genotypów w jednej tetradzie.

Przedstawioną metodą już w roku 1909 otrzymał wyniki Strasburger (6); znalazł mianowicie, że rozszczepienie czynników warun-

kujących płeć wątrobowca *Sphaerocarpos* następuje nie wcześniej niż przy jednym z podziałów komórki macierzystej zarodników.

Badania Paschera (4 i 5) nad haplontami mieszańców chlamydomonad skłaniałyby do przypuszczenia, że rozszczepienie genetyczne następowało tam raczej przy drugim podziale, gdyż Pascher obserwował kilkakrotnie po cztery typy pływek z jednej zygoty. Możliwem jest jednak, że miał do czynienia z fluktuacjami dwu tylko genotypów.

Kniep (3) otrzymywał z jednej owocni podstawczaka *Aleurodiscus polygonius* cztery różne pod względem seksualnym typy grzybni. Nigdy jednak nie otrzymał z bazydjospor jednej podstawki więcej niż dwa typy naraz. Stąd wnioskuje, że miał do czynienia z dwiema parami genów i że rozszczepienie towarzyszyło heterotypowemu podziałowi.

Allen (1) na haplontach z pojedyńczych tetrad *Sphaerocarpos Donnellii* stwierdził zarówno (jak poprzednio Strasburger) rozszczepienie pod względem płci, jako też rozszczepienie pod względem innych czynników genetycznych. Miał on do czynienia jednocześnie z czynnikiem płci i każdorazowo jeszcze z innym czynnikiem. Wyniki, oprócz niewielkich niepewnych wyjątków, skłaniają do przypuszczenia, że rozszczepienie następowało przy pierwszym (redukcyjnym) podziale. Wyjątki, jakkolwiek niepewne, skłaniają autora do rezerwy w komentowaniu wyników.

F. Wettstein (7) na osobnikach pochodzących z pojedyńczych tetrad *Funaria hygrometrica* miał sposobność przekonać się, że rozszczepienie następowało przy pierwszym, redukcyjnym podziale w komórce macierzystej zarodników.

Jak widać, przytoczone prace przedstawiają dla roślin niższych pozytywne wyniki. Natomiast dla roślin wyższych musiano dotychczas zadawać się przypuszczeniami opartymi na analogiach, pomimo że już w 1902 roku Correns (2) proponował metodę, polegającą na zapładnianiu recesywów pojedyńczymi tetradami pyłku mieszańców. Przy zapładnianiu recesywów komórkami płciowemi heterozygot stosunki liczbowe w potomstwie odpowiadają teoretycznie stosunkom liczbowym między genotypami użytych do zapładniania gamet. Wobec tego, wszystko co poprzednio powiedziano o ewentualnych stosunkach liczbowych w tetrach haplontów, dotyczyć będzie obecnie stosunków liczbowych w zygotach, powstałycych z zapłodnień pojedyńczymi tetradami heterozygot. Dla zastosowania tej metody należało znaleźć odpowiedni objekt doświadczalny, mianowicie rośliny, których ziarna pyłku poszczególnych tetrów zachowują łączność.

Tetrady te musiały być przytem dość wielkie, aby manipulowanie niemi pod lupą nie sprawiało zbytniej trudności. Wreszcie w odpowiednim gatunku należało wyosobić genotypy pozwalające na niedwuznaczne stwierdzenie rozszczepienia.

Strasburger (l. c.), który chciał metody zapłodniania jedną tetradą użyć do rozwiązania kwestji dziedziczenia płci u *Helodea canadensis*, nie otrzymał wyników. Kwestja została dla roślin wyższych w dalszym ciągu otwartą.

Interesując się zagadnieniem, znalazłem odpowiedni objekt w gatunku *Epilobium hirsutum* L., którego tetrady pyłku zachowują łączność i są przytem tak wielkie, że przy pewnej wprawie można było, patrząc golem okiem, wybierać pojedyńcze tetrady końcem cienkiej pincentki. Oczywiście każdorazowo następowało sprawdzenie pod lupą. We wspomnianym gatunku udało mi się wyosobić dwie formy różniące się wyraźnie pod względem uwłosienia.

Forma typowa *Epilobium hirsutum* posiada, poza krótkimi włoskami gruczołowymi, bogate owłosienie dłuższem znacznie włoskami mechanicznymi. Forma druga posiada tych mechanicznych włosów znacznie mniej, tak że w porównaniu z typową wydaje się nagą i wyróżnia się nawet zdaleka żywą zielenią. Różnica występuje najwybitniej i w sposób niedopuszczający pomyłki na owocach, które u formy mniej owłosionej posiadają tylko wyjątkowo najwyższą parę długich włosów na całym owocu (najczęściej zaś nie posiadają ich na owocu wcale). Forma normalna posiada na owocach bogate owłosienie także i długimi włoskami.

Mieszańce są naogół zbliżone do formy typowej (owłosionej) i są nieco mniej owłosione od niej. Jednak różnica nie jest tak wyraźna, aby wobec fluktuacji, a może i działania modyfikujących czynników genetycznych, z całą pewnością można było heterozygoty od typu przeważającego czystego odróżnić. Natomiast typu mniej owłosionego nie można pomylić z mieszańcem.

Załączona tablica przedstawia oba typy, oraz mieszańca, przy czem zwracamy uwagę, że jakkolwiek w wybranych do fotografii i rysunków osobnikach różnica między typem owłosionym homozygotycznym i mieszańcem jest wyraźna, to jednak nie zawsze była ona tak wybitną.

Mieszańce otrzymałem po raz pierwszy z krzyżówek wykonanych w roku 1921. Stosunki liczbowe w rozszczepieniach i krzyżówkach zwrotnych wykazują, że mamy rzeczywiście do czynienia z pojedyńczą heterozygotią. Mianowicie otrzymałem następujące stosunki liczbowe rozszczepień F_2 i F_3 :

Tabela I.

L. p.	„typowych“ (..„hairy“)	„nagich“ (..„glabrous“)
9/23	24	6
3/23	22	5
5/23	23	7
1/24	17	7
2/24	45	16
4/24	21	7
7/24	19	7
4/25	15	5
5/25	19	6
6/25	9	2
7/25	11	4
12/25	10	2
14/25	19	3
Razem (Total)	254	77
teoretycznie (expected)	{ 248.25 3	82.75 1

Pozatem w F_3 otrzymałem nierozszczepiące potomstwa zarówno „typowe“ jak i „nagie“.

Krzyżówki recessywów z heterozygotami dały w potomstwach następujące stosunki:

Tabela II.

L. p.	„typowych“ (..„hairy“)	„nagich“ (..„glabrous“)
8/23	14	12
13/23	10	15
8/24	15	19
9/24	12	12
11/24	11	9
12/24	16	14
13/24	12	7
Razem (Total)	90	88
teoretycznie (expected)	{ 89 1	89 1

Powyższe dane liczbowe wyraźnie wskazują na najprostsze rozszczepienie genetyczne.

Zapłodnianie pojedyńczą tetradą nie doprowadziło mnie w roku 1922 do otrzymania kiełkujących nasion.

W roku 1923 otrzymałem na paręset zapyleń: 4 nasiona 1 raz, 3 nasiona 1 raz, 2 nasiona 2 razy. Niestety jednak wszystkie roślinki przepadły.

W roku 1924 otrzymałem znowu: 4 nasiona 1 raz, 3 nasiona 1 raz, 2 nasiona 2 razy. Z tych czterech grup nasion udało mi się doprowadzić do stanu rozwiniętego roślinki w dwu grupach, przy czem w każdej po dwa osobniki. Szczęśliwym zbiegiem okoliczności w każdej parze zachowało się po jednej roślince typu przeważającego i po jednej recesywnej.

Tak więc, otrzymawszy z zapłodnienia recesywą pojedynczą tetradą pyłku mieszańca, za każdym razem zarówno recesywną jak i panującą formę, mam prawo wnioskować, że czynnik warunkujący u *Epilobium hirsutum* opisaną różnicę owłosienia ulega rozszczepieniu podczas jednego z podziałów macierzystej komórki pyłku.

Mam nadzieję, że w dalszym ciągu otrzymam bogatszy materiał dowodowy, oraz że wysoobniwszy więcej genotypów w gatunku wziętym za przedmiot doświadczeń, będę mógł dążyć do dalszego rozwiązania kwestji, starając się zbadać, przy którym z dwu podziałów następuje rozszczepienie czynników.

Z Zakładu Hodowli Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Objaśnienia do tablicy XIV.

Owłosienie owoców. Zdjęcia fotograficzne wykonane przy powiększeniu 5-krotnem, przekroje rysowane przy powiększeniu 50-krotnem, A — typ „normalny”, B — mieszaniec, C — typ „nagi”.

Explanation of the plate XIV.

Hairiness of the fruits. Photographs: $\times 5$, sections: $\times 50$. A — „hairy type”, B — heterozygote, C — „glabrous” type.

Summary.

Associating the segregation of mendelian factors with the reduction division has been till the last years based only on analogies between that groups of facts: both supposed and observed.

In several more recent researches however this hypothesis has been proved as right, but we must observe that the few cases of successful researches dealt only with the lower classes of plants. All these were cases in which segregation has been directly observed on tetrads of haplonts issued from single heterozygous mother-cells.

The method of reasoning has been as follows:

If the mendelian segregation occurred before the divisions of the spore mother cells, they would be (in case of simply heterozygosity) of both genotypes; and four haplonts of each tetrad, issuing from a single mother-cell ought to always be found uniform as to the presence or absence of the respective factor.

In the opposite and a priori more probable case, the segregation occurring in one of the mother-cell divisions, both genotypes should be found among the haplonts of each tetrad. In consequence by only analysing the offsprings of single separated mother-cells it was possible to state whether the segregation has been antecedent or coincident with the divisions spoken of. To obtain such a result cases of simple heterozygosity have been sufficient.

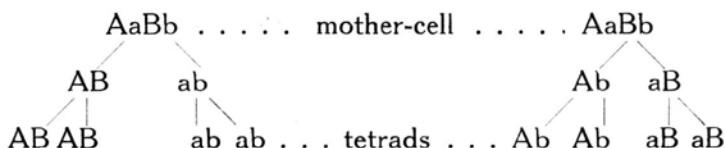
By investigating cases of multiple heterozygosity it was moreover possible to ascertain whether mendelian segregation was associated with the first or with the second mother-cell division.

So, if the segregation happened in the first (heterotypic) division we could never obtain in one single tetrad more than two different genotypes, notwithstanding the number of combinations possible in haplonts of the heterozygote in question.

In the case, the segregation occurring in the second division, the recombination of factors resulting of it must not be identic in both couples of nuclei. In consequence in the four offsprings of a mother-cell there may be found, as well four, as two genotypes.

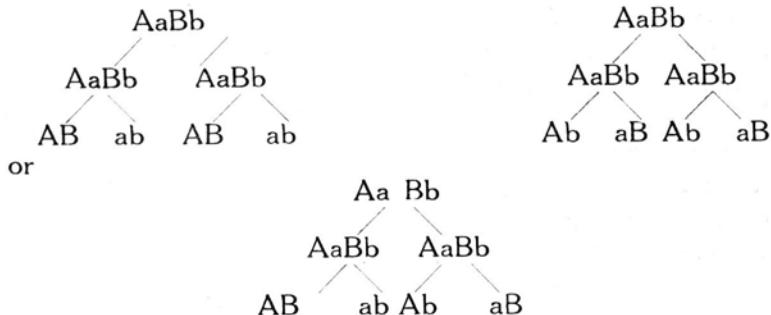
We give here schemes illustrating both possibilities on double heterozygosity.

1. The first scheme. The segregation occurs in the first mother-cell division. It may take place in two following ways:



Four genotypes are possible, but in one tetrad never more than two.

2. The second scheme. The segregation in the second division:



The scheme above shows, that we may obtain four genotypes in one tetrad too.

By the method exposed following investigations have been successfully carried out.

Strasburger (6) found, that segregation of the sex-factors in the liverwort *Sphaerocarpos* occurs at one of both mother-cell divisions.

Pascher (4) in his investigations on hybrids of Chlamydomonads observed as well four as two types of zoospores issuing from one heterozygote, which would be the proof of the segregation in the second division. (It may be however possible that he dealt with fluctuations of only two genotypes).

Kniep (3) obtained in the basidiomycetes *Aleurodiscus polygonius* four as to their sexual behaviour different types of mycelia. He never found more than two types issuing from basidiospores born by one basidium. Kniep concludes, that his investigations relied on a case of dihybridism and the segregation was simultaneous with the heterotypic division.

Allen (1) observed in tetrads of the liverwort *Sphaerocarpos Donnellii* like Strasburger segregation of sex and moreover segregation of two pairs of other factors. He investigated cases of dihybridism; the results besides some exceptions lead to the first division. These exceptions did not allow the author to generalize his results.

F. Wettstein (7) was able to state on offsprings of single mother-cells of *Funaria hygrometrica*, that the segregation took place in the first (heterotypic) division.

As to the higher plants no results are yet stated, although Correns (2) proposed already in 1902 a method of fertilising recessives with single pollen tetrads of heterozygotes.

The mendelian ratios in offsprings issued of mating recessives with heterozygotes are the same as the assumed ratios in gametes of heterozygotes used for such back-crossing. So, all theoretical explanations spoken of before as to genotypes found in single tetrads may be applied to the types of zygotes obtained by fertilising a recessive with a single pollen tetrad of a heterozygote.

To be able to use this method it was necessary to find a proper object to pursue experiments. It must be a species having pollen grains which remain till their maturity in tetrads. The size of these should permit an easy manipulation under a magnifying glass. Among such a species different genotypes should be selected giving the opportunity after their crossing to a quite certain statement of segregation.

Strasburger (l. c.) wanted to apply the method of pollinating with a single tetrad to solve the problem of sex-inheritance in *Helodea canadensis*, but without success.

The problem of the moment of segregation, till yet for higher plants unresolved, being of great interest, looking for a proper object I found in *Epilobium hirsutum* two hereditary different forms of hirsutness. The species has pollen grains in tetrads sufficiently big to give the possibility of taking a separate tetrad with a pointed end of thin forceps. After some practice it was quite easy to do it without any magnifying glass, using it however everytime for verifying.

Epilobium hirsutum has two types of hair: short glandulous and longer mechanical. The typical form is not only covered with glandulous, but also with densely distributed long one. The second form, being less covered with the longer type of hair, seems in comparison to be glabrous and its colour gives an impression of deeper green. The difference between both types is most striking as to the hoariness of the fruit, and examining them it was impossible to make any mistake as to their type. The less hoary type has only exceptionally several long hair on the whole fruit, for the most part having only short glandulous ones. The typical „hairy“ form has its whole fruits densely covered with long hair too.

The heterozygotes showing only a little less hoariness than the typical form differ scarcely from it. The fluctuations and possibly the action of secondary modifying factors do not permit to distinguish for sure the heterozygotes from the pure prevalent form. The „glabrous“ can never be mixed up with the heterozygote.

The table XIV represents both pure types and their hybrid

form. But it must be said that although individuals chosen for the photographs and drawings show us a doubtless difference in the density of hair between the pure prevalent and the heterozygous form, the difference was not always discernable one.

I obtained my first hybrids from crosses made in 1921. The ratios in segregating families and back-crosses show clearly that we dealt with simply monohybridism. Thus I obtained following ratios in F_2 and segregating F_3 families (see table I in the Polish text). Moreover I obtained in F_3 unsegregating „haired“ and „glabrous“ families. Back crossings of heterozygotes with recessives gave in their offsprings following ratios (table II of the Polish text). The ratios above prove the mendelian segregation to be the simplest one.

Though fertilising recessives with single pollen tetrads of heterozygotes in 1922 I did not obtain any germinating seeds.

The result of several hundred pollinations in 1923 was following: 4 seeds once, 3 seeds once, 2 seeds twice. Unhappily all plants brought up died in an early stage of growth.

In 1924 I obtained again: 4 seeds once, 3 seeds once, 2 seeds twice.

I succeeded only in two of these four groups of seeds to obtain developed plants: two individuals in each group. Luckily in each both types („hairy“ and „glabrous“) have been represented.

Thus having received by pollinating a recessive with a single pollen tetrad of a heterozygote, in each case both, prevalent and recessive type, I am authorised to conclude, that the spoken of factor in *Epilobium hirsutum* does segregate in one of both divisions of the pollen mother-cell.

I hope that further investigation will give me opportunity to state the theory on a still richer material. Moreover I expect, after having selected more genotypes in *Epilobium hirsutum* L. to state whether the first or the second division is the segregating one.

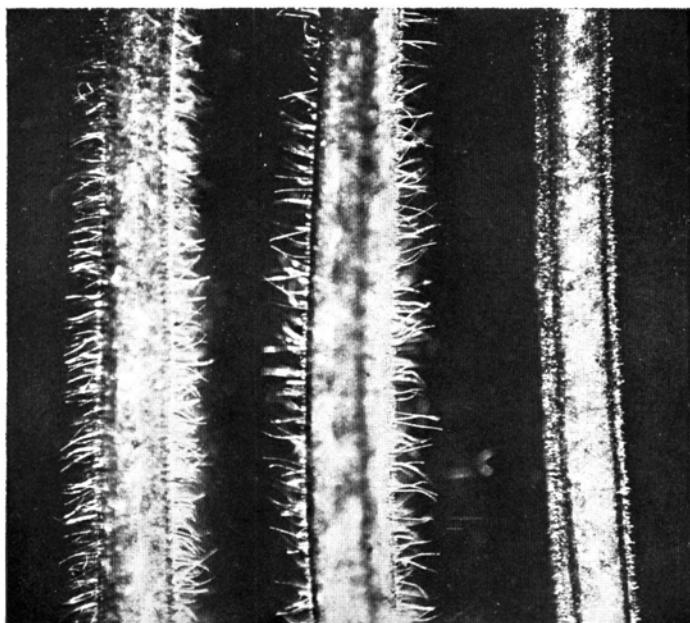
From the Plant Breeding Department of the Jagellonian University in Cracow.

Prace cytowane.

1. Allen Charles. E. Inheritance by tetrad sibs in *Sphaerocarpos*. Proceedings of the American Philosophical Society. Vol. LXIII, 1924.
2. Correns, C. Über den Modus und den Zeitpunkt der Spaltung der Anlagen bei den Bastarden vom Erbsen-Typus. Botanische Zeitung. Vol. LX, 1902.

3. Kniep, H. Über erbliche Änderungen von Geschlechtsfaktoren bei Pilzen. Zeitschrift für induktive Abstammung und Vererbungslehre. Vol. XXXI, 1. Leipzig, 1923.
4. Pascher, H. Über die Kreuzung einzelliger, haploider Organismen: Chlamydomonas. Berichte der deutschen bot. Ges. Vol. XXXIV. Berlin, 1916.
5. Tenze Über die Beziehung von Reduktionsteilung zur Mendelschen Spaltung. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Vol. XXXVI. Berlin, 1913.
6. Strasburger, E. Über geschlechtbestimmende Ursachen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Vol. XLVIII. Leipzig, 1910.
7. Wettstein, F. v. Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre. Vol. XXXIII. Leipzig, 1924.

(Wpłynęło do redakcji 31 marca 1926).



A

B

C

