

Acta Societatis Botanicorum Poloniae

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Komitet Redakcyjny — Comité de Rédaction:

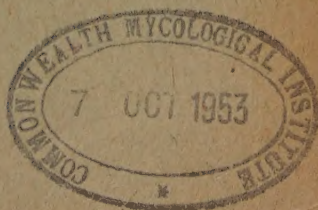
B. Hryniewiecki (Warszawa), *St. Kulczyński* (Wrocław),
B. Niklowski (Poznań), *Fr. X. Skupieński* (Łódź),
W. Szafer (Kraków), *P. Wiśniewski* (Lublin), *J. Zabłocki* (Toruń).

Redaktorzy — Rédacteurs:

K. Bassalik (Warszawa), *W. Gajewski* (Warszawa)



WARSZAWA



TREŚĆ — SOMMAIRE:

Vol. XXII, Nr 2.

	Str.
Bajer A. and Molè-Bajer J.: Influence of extreme temperatures on mitosis in vivo I. <i>Hymenophyllum</i>	267
Zurzycki J.: Arrangement of chloroplasts and light absorbtion in plant cell	299
Olechowśka-Barańska K.: Nasiona <i>Digitalis</i> L. i ich cechy rozpoznawcze — The specific characters of <i>Digitalis</i> L. seeds	321
Bajer A.: Absolute viscosity and living mitotic spindle structure	331
Rodkiewicz B.: Amitotyczne podziały jąder w tkankach marchwi hodowanych in vitro — Divisions amitotiques de noyaux dans les tissus de la carotte cultivés in vitro	349
Mańka K.: O przebiegu holenderskiej choroby wiązków (<i>Ceratostomella ulmi</i> (Schw.) Busiman) na terenie miasta Poznania. — The progress of Dutch elm disease (<i>Ceratostomella ulmi</i> (Schw.) Busiman) on the area of Poznań (Poland)	355
Zawadzka I.: Wartości witaminowe sian z poszczególnych typów łąk województwa Białostockiego — Vitamin content of the hay from different meadows in the palatinate Białystok'	379
Kostecka-Mądalska O.: <i>Aloë vera</i> L. var. <i>wratislaviensis</i> nova var. z niezwykłą różyczką liści w kwiatostanie. — <i>Aloë vera</i> L. var. <i>wratislaviensis</i> hort. nova var. with an uncommon leafrosette within the inflorescence	389
Szklarczyk C.: Obserwacje nad morfologią i biologią <i>Hydrurus foetidus</i> Kirch. w Ojcowie. — Observations on the Morphology and Biology of <i>Hydrurus foetidus</i> Kirch. at Ojców	397
Gajewski W.: A Fertile Amphidiploid Hybrid of <i>Geum rivale</i> with <i>G. macrophyllum</i>	411
Kozłowski A.: Uproszczona metoda wyizolowania związków flawonowych wzgl. antocjanu. — A simplified method of the isolation of the flavon and anthocyan compounds	441
Hryniewicz B.: Hugo Zapalowicz (1852—1917). W setną rocznicę urodzin. — Pour le centenaire de naissance	445

Influence of extreme temperatures on mitosis in vivo I.
Hymenophyllum *

by

A. BAJER and J. MOLE-BAJER

Laboratory of Plant Physiology, Jagellonian University, Kraków.

(entered 13. VI. 1952 r.)

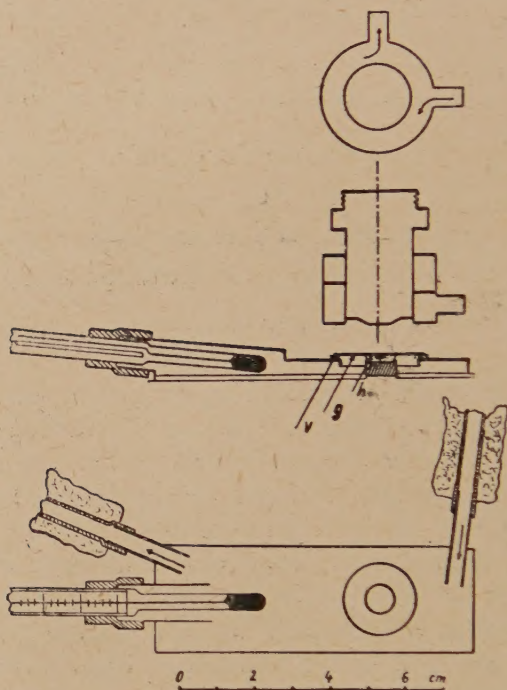
One of the most important problems in investigations on cell division mechanism in undoubtedly, as is pointed out by Schrader (1951), the problem of submicroscopic structure of the spindle. Some informations on this structure can be obtained from investigations of cell division of live cells in conditions in which the spindle itself and the movements of chromosomes undergo different changes the nature of which is partly pathological. These changes can be for instance such as the breaking up of some kinds of bonds, stiffening some elements in spindle structure, disturbances in chromosome movements and so on. The stimuli causing these changes are very varied, as for instance changes in temperature, action of such substances as colchicine, chloral hydrate etc.

Barber (1939) investigated the influence of temperature of the rapidity of chromosome movements in staminal hairs of *Tradescantia virginica* within normal temperatures. Ris (1949) experimented on grasshopper with extreme temperatures, but he was mainly interested in the mechanism of chromosome movements and paid little attention to changes occurring in the spindle.

In the present investigations the shock action of extreme temperatures (from -16° to 0° and from $+38^{\circ}$ to $+45^{\circ}\text{C}$) on cell division in plant cell was examined. Material with well visible in vivo

* This paper was read at the 25 meeting of Polish Botanical Society on July 13-th 1952 in Warszawa.

mitotic spindle was chosen and the aim of the investigation was to observe the action of shock temperature changes from the polar cap stage to telophase, particularly in metaphase and then on chromosome movements in anaphase.



Textfig. 1. Heated or cooled microscope table on which observations were carried out. Thermometer fixed with the aid of rubber link. Rubber tubes well isolated. h — G a u t h e r e t's hanging drop, g — glass square, v — vaseline ring. Above is microscope immersion lens with water jacket.

Material and methods

Material. *Hymenophyllum tunbridgense* Sm. from the Botanical Garden of the Jagellonian University was used as material. The leaves of this fern are composed of one layer of cells and the course of mitosis is well visible in it. H e i t z (1942) was the first to observe mitosis in vivo in this plant. He did not however describe the course of mitosis in detail and suggest *Hymenophyllum* as material suitable for investigations. Young cut off leaves were kept, as advised by H e i t z, in a Petri dish lined with water saturated blotting paper. Leaves so preserved can be used for several days.

M e t h o d s. A special microscope table (Textfig. 1) was constructed for observations. On this table observations during the sudden and rapid temperature changes were possible.

G a u t h e r e t's hanging drop was used. The temperature could be lowered to -16° and raised $+45^{\circ}\text{C}$ within less than one minute and so the changes in temperature came as sudden shocks. During observations the objective of the microscope was warmed or cooled constantly. Rubber tubes leading water or water salt solution to the microscope table were well isolated. For cooling a mixture of ice and salt (NaCl) were used. The vessel in which the cooling mixture was kept was thermically well isolated. The cooling mixture used allowed to lower the temperature of the microscope table to -16°C without difficulty. By regulating the rapidity of the flow of the cooling mixture through the microscope table the temperature in it could be easily regulated within limits of -16°C to $+5^{\circ}\text{C}$ with an accuracy of $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. (temperature of hanging drop might be somewhat higher due to objective lens). The high temperatures were obtained with the aid of H ö p l e r's (Type N) ultrathermostat and then the changes of temperature did not exceed $0,1^{\circ}\text{C}$. The temperature of the G a u t h e r e t's hanging drop during shocks was controlled at 45°C with the aid of thermocouple and the differences were less than $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

The medium used to observe the course of mitosis was liquid paraffine and not water' solutions and so the effects of water freezing were eliminated.

The microscope used was L u m i p a n Z e i s s. Observations and microphotos were done with a 60x N. A. 10 apochromate immersion lens and 10x and 15x compensating eyepieces.

The drawings were made in the course of observations with a Z e i s s drawing prism. From markings of the chromosome distance, made with a Z e i s s drawing prism graphs were plotted. On the graphs the ways of the two anaphase chromosome groups were plotted and the resultant ones.

O b s e r v a t i o n s

At the ends of young leaves cell divisions are numerous, though they are best visible in somewhat older cells, which are placed a few cells away from the margin of the leaf. In *Hymenophyllum* it is easy to find mitosis at any time of the day and night and there is no noticeable periodicity in its occurrence in the course of the day which was noted by P e k a r e k (1932) in rhizoids of *Chara* and also by W a d a (1944). The number of mitoses diminishes several days after the leaf is cut off which is in accordance with H e i t z 's (1942) observations. Cell division can be observed during 3-4 days and even 5 days after the leaf was cut off. Mitoses are most numerous on the second and third day, on the fourth day they are fewer and on the sixth it is very difficult to find them. The course of cell division is the same on the first day as it is several days after the leaf was cut off and on the 5-th day no pathological changes in mitosis were noted. Mitosis can also be observed during at least 36 h without changes in leaf strips placed in a hanging drop of liquid paraffine.

Such demixing as observed by Bělař (1930) in consequence of mechanical injury was noted only very few times. Mechanical, stimuli if not very strong, do not cause demixing which is contrary to what was observed in staminal hairs of *Tradescantia* and most other material.

Course of division at 20°C

The resting nuclei are well visible and their diameter is 15-17 μ , their structure is the same as, and even better visible, than in staminal hairs of *Tradescantia*. In prophase this structure becomes more and more visible until chromosomes can be distinguished. They are long thin and numerous (according to Litardièrre (1921) $2n = 24$). The formation of the spindle can be observed exceptionally distinctly since early prophase. As the result of the formation of the spindle and of the phototactic movements caused by the illumination, the chloroplasts move mostly to the side walls of the cell and usually do not interfere during the observations of the spindle. Often however the chloroplasts are grouped at the spindle poles and then poles are not well visible. It seems probable that in *Hymenophyllum* the whole spindle is enveloped by a membrane which encloses it in prophase when the polar caps are formed, in metaphase, and in anaphase. The shape of the spindle is very distinctly marked because of the chloroplasts grouping round it and also because of the vacuoles adhering often to it. However even in these cases when neither chloroplasts nor vacuoles are in close proximity of the spindle, the membrane is often well visible. The spindle is here seen not as a negative as happens in many zoological objects in vivo (*Stenobothrus*, Bělař 1929 a, snails *Cepea hortensis*, *Helix pomatia*, Bajer 1951 unpubl.) where the spindle is outlined on the background of chondriosomes grouped round it, but as a body separated from the cytoplasm by the membrane behind which no chondriosomes could be found. It is necessary to add that in *Haemanthus* where mitotic spindle is large (to 70 μ) and all details of mitosis are well visible such membrane seems not to exist (Bajer 1952).

Division was observed at $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ and also several divisions in lower temperatures were noticed ($+5^\circ$ and $+7^\circ\text{C}$). In low temperature the membrane surrounding the spindle is far more distinct than in higher ones, which was already noted by Wada (1950). The refraction coefficient of the spindle seems to be somewhat different than the refraction coefficient of the cytoplasm.

The polar caps are quickly formed (usually in less than in 30 mins.) and can be more or less elongated and pointed. Their poles are either pointed or more or less rounded. In this stage however the spindle is far more elongated than in metakinesis and in metaphase. It can often be seen that there are several attempts to form the polar caps and the formation of both polar caps is often not simultaneous. It happens sometimes that at one end of the nuc-

leus a small polar cap is being formed while at the other pole there is not polar cap yet, or it is being formed not exactly on the opposite side of the nucleus but a little to one side of it. Small polar caps disappear sometimes, and then are formed on another place or after some time in the same place again. It is hard to establish the exact moment at which prophase ends and metakinesis begins and so it is difficult to estimate exactly the duration of prophase, however this stage does not last very long (approximately 2-4 h) in comparison to other stages. In late prophase just before metakinesis, when the spindle is partly formed, a stage can often be noticed in which the chromosomes are very crowded and most of them are near the centre rather than in the outer part of the nucleus. This stage resembles the contraction stage found usually in animals (cf. Schrader 1946). It is only some time after this stage that metakinesis occurs. It is impossible to establish exactly the beginning of metakinesis and it also is very difficult to distinguish late metakinesis from metaphase. The duration of metakinesis and metaphase is together 1 to 1,5 h. Before anaphase the metaphase plate is very regular and the kinetochores seem to lie exactly in one plane. This very regular plate is visible during 10—30 mins. before anaphase begins however, not less than 20 mins. earlier, the plate is already regular.

The length of the spindle is shorter in metaphase than in metakinesis. The beginning of anaphase is easy to establish, which is the opposite to what is found for instance in staminal hairs of *Tradescantia*. It is well visible that in anaphase the chromosomes are thinner than in metaphase. This enables to distinguish immediately the anaphase from all the remaining stages, and to start observations from its very beginning. In the plane of the plate the separation of each chromosome is well visible and their movements can be observed in detail. It seems that the maximum velocity of kinetochores is reached almost immediately and not as in the case of *Tradescantia* after some time. Only very occasionally all the chromosomes begin to move simultaneously, usually the movement begins at one or two points of the plate, and spreads gradually to the whole plate. This kind of anaphase beginning was observed also on fixed material mainly in the case of short, small and numerous chromosomes and was often noted in vivo in snails (Bajer 1951 unpubl.). During anaphase in *Hymenophyllum* some chromosomes seem to change their velocity and either precede or are retarded. In most cases a few arms precede kinetochores in their movement

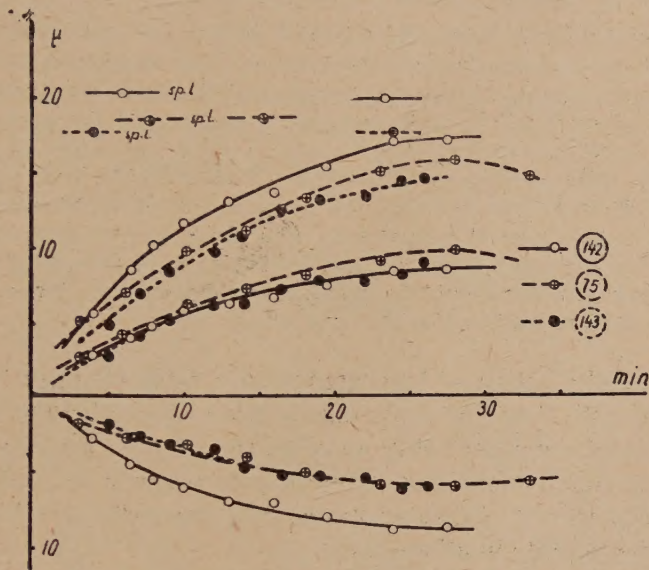
toward the pole. Such cases can be found in most mitoses and depend on the size and number of chromosomes (cf. Bajer 1951). The maximum separation of chromosomes lasts 20-30 mins. In different cells the course of anaphase is very similar (the velocity of movement, the time when the velocity change and distance passed cf. Table I). The changes of velocity in time i. e. the curves of chro-

TABLE I
Cell division at 20°C. 13 celles from 35 observed

No of cell	Duration in mins.		Distance of max. separation of chromosomes in μ	Spindle length in μ		Notes
	metakinesis and metaphase	anaphase		metakinesis	metaphase	
100	48	18	17	25	23	formation of polar caps not synchronised
101	—	18	20	—	22	
144	—	18	16	—	18	
146	—	20	16	—	18	
148	60	22	19	23	21	
145a	—	22	16	—	18	
140	50	22,5	15	19	17	
141	more than 40	23	19	24	20	
147	„	24	17	—	19	
142	more than 55	24	19	—	23	
143	—	25	15	—	17	
143a	—	25	17	—	18	

mosome movement (Textfig. 2) are far more in a mutual agreement than in the case of *Tradescantia virginica* (Bajer 1950). Similarly to what was found in *Tradescantia* two distinct types of movements of the two anaphase chromosome groups were noted. The first type i. e. the one, in which there is absolute symmetry and the two groups of chromosomes move exactly in the same manner, is met very seldom, and the other in which chromosome movement is more or less asymmetrical (the curves of 2 groups of anaphase chromosomes are not inverted reflections of each other) can be found in most cases. Nearly symmetric and asymmetric curves are given in Textfig. 2. During the whole anaphase the length of the spindle does not increase and the differences in measurement do not

exceed $0,5 \mu$ and lie within the limits of permissible error. In telophase the nuclei are often moved a little towards the newly formed cell membrane and so the separation of chromosomes in late telophase is shorter than in late anaphase. When anaphase ends the formation of the phragmoplast begins. The phragmoplast has a mem-



Textfig. 2. Graphs of chromosome movement at $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. sp. 1. — spindle length. No of cell in ring. Cell No 142 — asymmetrical movement of two anaphase chromosome groups, less asymmetrical in No 75, almost symmetrical in No 143. The upper curves of three chromosome groups very similar — resultant curves differ considerably. Distance of max. separation of chromosomes shorter than spindle length.

brane; the existence of this membrane is perfectly evident and it is best visible in low temperatures. The new cell wall formed within the phragmoplast spreads toward its sides and then it can be seen how the newly formed cell wall pushes on the membrane of phragmoplast. In the place where it is touched by the newly formed cell wall the phragmoplast membrane swells and the sides of the phragmoplast are as if pushed towards the cell walls (Plate I, Figs. 12-15, Textfig. 4). It often happens that the vacuoles which are between the phragmoplast and the cell wall get into the way of this movement, however in such cases the vacuoles are broken in two parts. After the new cell wall is formed there takes place a strong vacuoli-

sation of the phragmoplast, though it often happens that vacuolisation occurs earlier i. e. in late anaphase. The formation of the cell wall is very difficult then, but no disturbances while it forms were noticed.

Influence of low temperature

Shock changes of temperature from $+20^{\circ}\text{C}$ to -5° and -16°C were used and the low temperatures were applied during from 10 mins. to 1,5 h.

Even the lowest of these temperatures, if its action does not much exceed 1,5 h does not kill the cell, moreover it seems that the harmful effects of such a shock are not serious and within a short time after the cooling is interrupted, both phototactic movements of chloroplasts and cell division itself come back to normal. Also new prophases were found soon after the leaf came back to normal temperature. The above is true even, if a leaf is subjected 4-5 and more times at 1-2 h intervals, to low temperature during 30 mins. New prophases could be found not only soon after low temperature action was interrupted but also the next day.

Under the action of low temperature some changes take place within the cell. Some of these changes are independent of the stage of mitosis and are observed in all cells; they consist mainly in a sudden and strong vacuolisation of cytoplasm (mainly the old vacuoles become larger), and also in an increase in the visibility of the membrane of the spindle in all stages.

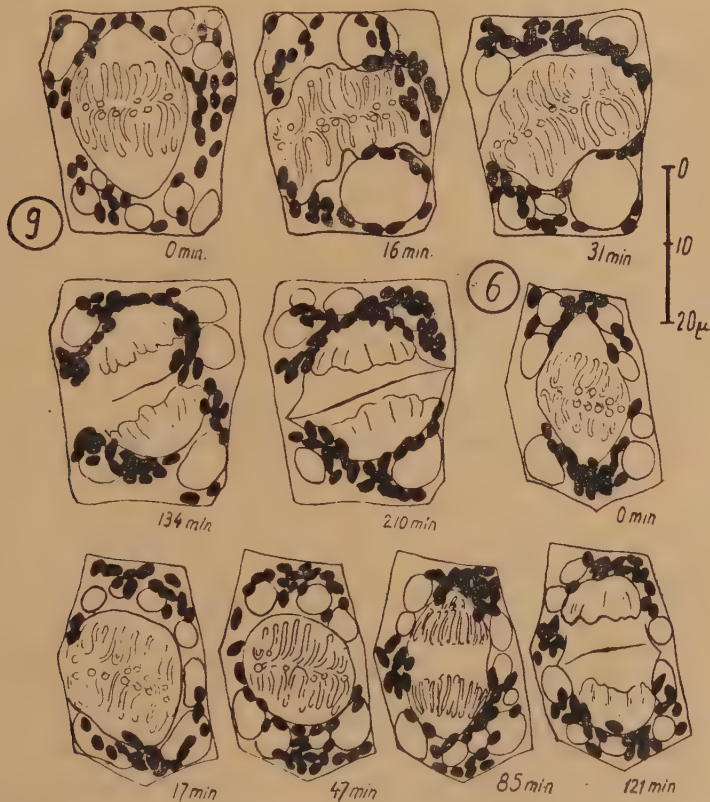
Shock changes to the higher of the low temperatures ($+5^{\circ}$, 0°C) have no visible influence on the course of different mitosis stages. Division is not stopped and the chromosome movement in anaphase is more or less normal, but of course all processes are slowed. It is not till the low temperatures (-3° to -16°C) are attained that visible changes in chromosome movements and the morphology of the spindle take place. It is important however to stress that these changes are temporary and reversible. -7° and -8°C were the temperatures used most often.

Influence on early prophase. If a cell is subjected to the action of low temperature when it is in the early prophase no other changes besides those described previously are observed. When the cell comes back to normal temperature the course of division is quite normal though it seems that the duration of prophase is slightly prolonged.

Influence on prophase during the polar caps formation. Low temperature causes at this stage a partial disappearance of polar caps. When the cooling ceases they are formed again and division develops as usual.

Influence on metakinesis and metaphase. The influence of low temperature on cells in both these stages of mitosis is very similar and although the different cells react differently to cooling, two main kinds of changes can be noticed at both stages.

a. Soon after cooling begins and simultaneously to the increasing vacuolisation of the cell there occurs a fairly quick rounding of the spindle, which so far was more or less elongated. This process is rapid and within several minutes the spindle becomes spherical, or nearly spherical. The spindle resembles the resting nucleus with a fully formed metaphase plate (Textfigs. 3-4). Often the spindle membrane is dented and ruffled by vacuoles (Textfig. 3) and often

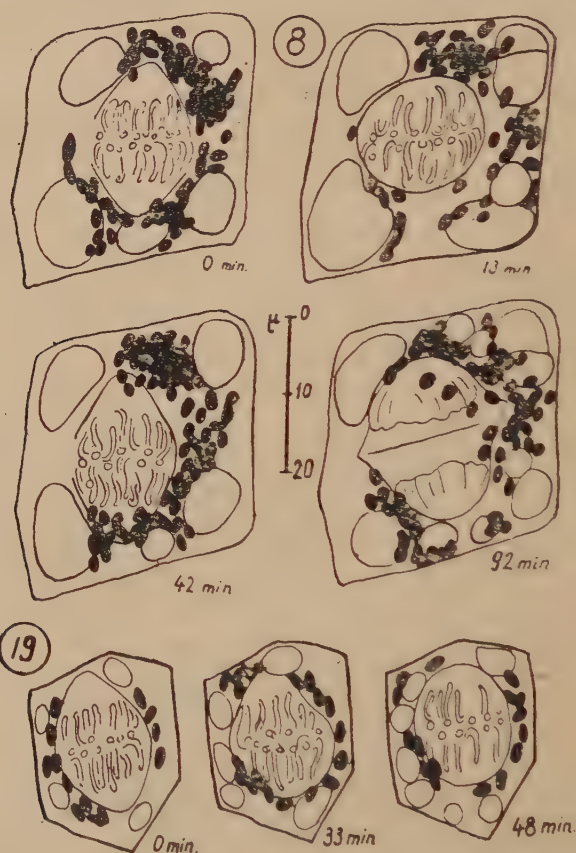


Textfig. 3. Influence of low temperature on spindle morphology. In rings No of cells. Cell No 9, temperature -8°C acts during 3 to 33 mins. Spindle is deformed by outgrowing vacuoles. After return to normal temperature spindle is reconstructed and the course of cell division is normal. Cell No 6 temperature -5 to -8°C act from 2 mins. to 35 mins.

their growth also displaces the whole division figure. During all those changes the metaphase plate is usually not much deformed. On the other hand it seems that in metakinesis there occur greater disturbances in the displacement of chromosomes and in this stage the process of the spindle becoming spherical is less pronounced.

If the structural changes in the spindle do not occur soon after the action of cooling begins a subsequent even very prolonged cooling will not usually induce this process to develop further.

b. In the second kind of changes the rounding of the spindle poles under the action of temperature is only slight, sometimes ho-



Textfig. 4. Influence of low temperature on spindle morphology. In rings No. of cells. Cell No 8, temperature -5°C acts during 3 mins. to 33 mins. Spindle rounded and metaphase plate nearly regular. After return to 20°C the spindle is reconstructed and cell division is normal. Well visible membrane on phragmoplast. Cell No 19, low temperature (-7°C) slightly influenced the spindle. Spindle slightly rounded.

wever if the cooling is repeated two or three times the spindle becomes more rounded than after the first cooling.

Those differences in behaviour are undoubtedly caused by the different resistance of each cell. It seems however that the mechanical conditions in the particular cells and also the exact moment at which cooling begins (early or late metaphase) have some influence here.

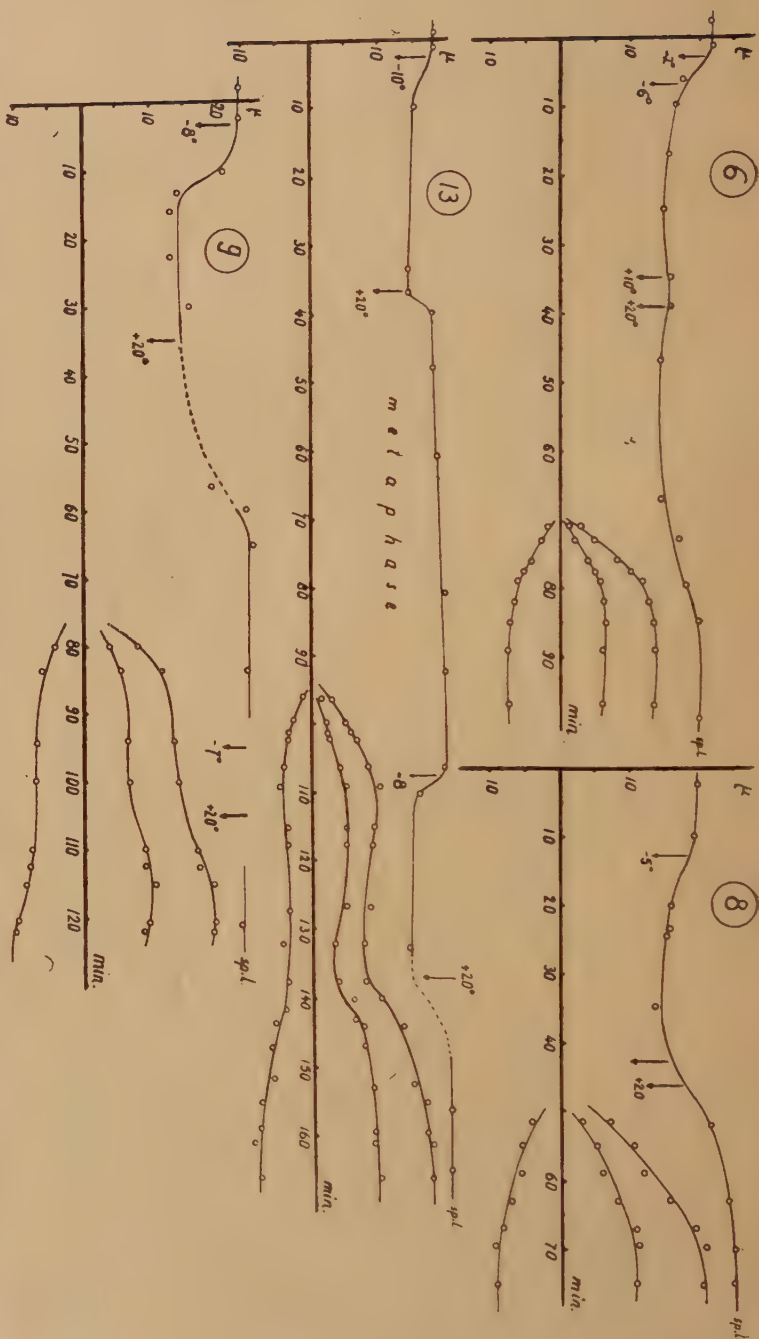
In both kinds of reactions described above, the chromosome movement is made impossible while cooling continues. After the return to normal temperature (in case a) the spindle is slowly reconstructed. It seems to be formed anew and the proof of this is found in that its new length is often different, longer or shorter, than it was before. While the rounding of the spindle and the disappearance of the half spindles progress rapidly their reconstruction is much slower (it lasts 30-60 mins. that is often ten times longer). Some time after the spindle is reconstructed the metaphase passes to anaphase.

In the second case (b) this reconstruction is very rapid and often several minutes after return to normal temperature anaphase begins.

Influence on anaphase and telophase.
The changes caused by low temperature in early and middle anaphase are very similar to what was described in metaphase and metakinesis. Here also half spindles become more or less rounded and the whole spindle can be displaced by vacuoles. The chromosome movement is stopped altogether and even sometimes the chromosomes are pushed back a little (cf. Textfig. 5). After the spindle is reconstructed the chromosome movement is quite normal and its velocity is approximately the same as it is in normal division. Also the further course of mitosis is quite normal.

Low temperatures have less influence on late anaphase and telophase than on previous stages. The sequence of changes occurring in chromosomes is delayed but otherwise develops regularly. However the formation of the cell wall is made more difficult which is mainly due to mechanical reasons (vacuoles forced into and formed inside the pragmoplast). The cell wall which is being formed must push them aside, and this process is lengthy (1-2 h).

As it was previously mentioned the membrane of the spindle is very well visible in low temperatures which enables a very good observation of it being pushed aside and bulged out by the newly forming cell wall.



Textfig. 5. Influence of low temperature on spindle length and chromosome movement in anaphase. In rings No of cells, sp. 1. — spindle length, dotted line indicates probable spindle length, interruptions (cell No 9) indicate not measured spindle length. Arrows indicate the time at which the temperature was changed. Cells No 6, 8, normal anaphase after low temperature action in metaphase (No 6) and metaphase (No 8). Cell No 13, influence of low temperature in metaphase and anaphase, in anaphase chromosomes are pushed in the direction of the metaphase plate. Cell No 9, influence on metaphase and anaphase.

TABLE II

Low temperature action. 11 cells from 45 observed*.

No of cell	Spindle length in μ at temperature 20°C			Low temperature action			Distance of max. separation of chromosomes in μ	Duration in mins.		Notes
	metakinesis	metaphase	anaphase	stage of cell division	temperature °C	duration in mins.		metaphase	anaphase	
9	—	—	20,5	$P_{I,II}$	—7	60	19	25	30	cell division after 2 low temp. shocks
11	22,5	22,5	24	$P_{I,II}$ $M_{I,II}$	—5, —10	60 90	21	150—170	28	sp. l. in low temp. in M_I approx. 14 μ
12a	—	—	20	$P_{I,II}$ $M_{I,II}$	—8	60	17	150—170	20	sp. l. in low temp. in M_I — 17 μ , in M_{II} , 14 μ (rounded)
12b	—	—		$P_{I,II}$ $Mk_{I,III}$	—8	30	15	25	19	sp. l. after low temp. in Mk_I , 16 μ (elipsoid), reconstruction 45 mins, in Mk_{II} almost spherical
13	18	17,5	15	Mk_{III} A_{II}	—7	30 30	17	50	65	sp. l. after low temp. in Mk_{III} , 15 μ , in A_{II} 15 μ .
109	—	—	23	M	—3	30	19	60	—	sp. l. in low temp. 18 μ
115	—	20	—	M	—5	50	19	90	—	sp. l. in low temp. 18 μ
6	—	22,5	20	M_{II}	—7	30	14	85	17	sp. l. after low temp. 15 μ , reconstruction at least 30 mins.
8	—	20	25	M_{III}	—5	30	20	65	27	sp. l. in low temp. 15 μ
9	—	23	25	M_{III} A_I	—7	30 10	20	75	40	sp. l. in low temp. in A_I , 15 μ
32	—	—	23	A_{II}	—5	30	19	—	65	sp. l. in low temp. 17 μ

*P — prophase

Mk — metakinesis

A — anaphase

I, II, III early, middle, late

sp. l. — spindle length

Influence of repeated cooling. The effect of lowering temperature repeatedly are the same every time. The changes observed are similar when temperature is lowered the first time to what they are when it is lowered several times, the only exception is that the rounding of the spindle is usually more marked when cooling is repeated (cf. Table II). This corroborates **Ris's** (1949) experiments who obtained a repeated disappearance and formation of the spindle in one and the same grasshopper cell.

Influence of high temperature

The temperatures used were from $+38^{\circ}$ to $+45^{\circ}\text{C}$, in most cases $+43^{\circ}$ to $+45^{\circ}\text{C}$; temperatures lower than 42°C were raised above 42°C during observations. The time during which the high temperatures were applied was 10-120 mins. (cf. Table III). These temperatures do not kill the cells if they act on it for a short time, but they are usually deadly to it, if applied for 60 mins. ($+45^{\circ}\text{C}$). In all cells within the first few minutes that high temperature is applied vacuolisation takes place, the existing vacuoles grow larger and new ones are formed. Vacuolisation begins immediately the high temperature begins to act and once the big vacuoles are formed, they do not grow much larger. The refraction coefficient of chromosomes increases but due to changes which take place within the spindle the observation of chromosomes is made more difficult. The spindle membrane is less distinctly visible than in low and normal temperatures, or it is not discernible.

Influence on prophase in stage of polar cap formation. Within the first few minutes the polar caps elongate and become more pointed, this change is however not very marked. As a result of the high temperature cell division is interrupted for a long time, i. e. for at least 6 h. The spindle is then reconstructed and cell division continues as usual.

Influence on metakinesis and metaphase. The elongation of the half spindles is now far more visible and is greater than in prophase and also greater in metaphase than in metakinesis. Most observations done, concern metaphase. Changes inside the spindle begin within the first few minutes after high temperature is applied. The spindle elongates by $1/5$ to $1/2$ of its initial length, and at the same time the spindle poles become less clearly visible. The spindles not only elongate but also their points become suddenly much sharper, while simultaneously long folds

TABLE III
High temperature action. 27 cells from 75 observed*.

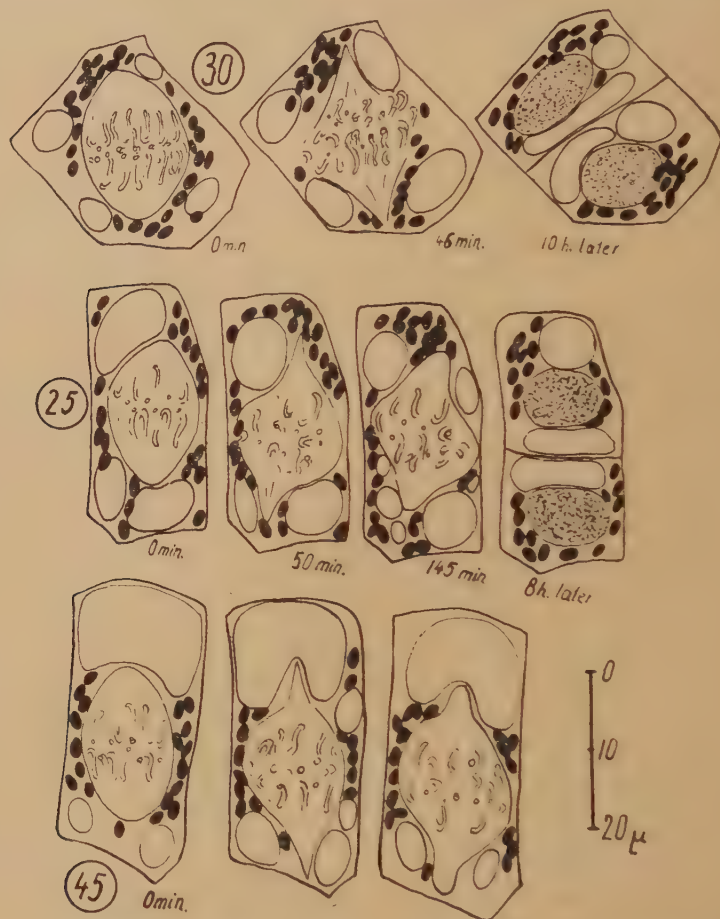
No of cell	High temperature action			Spind. length in μ		Distance of max. separation of chromosomes in μ	Cell length in μ	Notes
	stage of cell division	temperature in $^{\circ}\text{C}$	duration in mins.	in μ				
				in 20°C	in high temp.			
123	Mk	43	95	22	32	—	—	after 12 h cell not yet divided
124	Mk	43	95	20	23	—	—	
43	M	44	20	16	24	22	—	after 8 h new cell wall was found
20	M	42	30	23	35	—	—	
35	M	45	10	19	29	—	—	" "
17	M	44	24	16	27	—	—	
106	M	38	60	20	25	—	—	anaphase not continued
73	A early (2)	41	25	18	28	—	—	
121	A early (2)	43	35	—	28	—	—	" "
16	A early (3)	42,5	24	—	28	—	—	
132	A early	45	60	21	32	—	—	" "
51	A middle (6)	45	29	22	—	23	—	
50	A middle (7)	45	20	—	—	22	—	" "
54	A middle (7)	45	30	18	25	11	—	
45	A middle (10)	44	20	20	29	16	—	spindle bent
44	A middle (10)	43	30	21	40	33	36	
69	A middle (11)	38	30	22	25	20	—	" "
68	A middle (12)	38	30	19	23	20	20	
129	A middle	44	30	20	23	16	—	" "
131	A middle	45	60	19	27	15	—	
127	A late (14)	42	26	25	32	27	35	" "
71	A late (14)	45	30	19	27	25	28	
66	A late (14)	45	36	21,5	27	24	24	" "
65	A late (15)	45	30	22	37	29	41	
27	A late (18)	45	10	22	30	28	32	after 8 h new cell wall was found
126	A late	45	60	19	30	25	29	spindle bent
72	A late	41	25	19	27	24	30	

*Mk — metakinesis

M — metaphase

A — anaphase, time in mins. from anaphase beginning given in brackets.

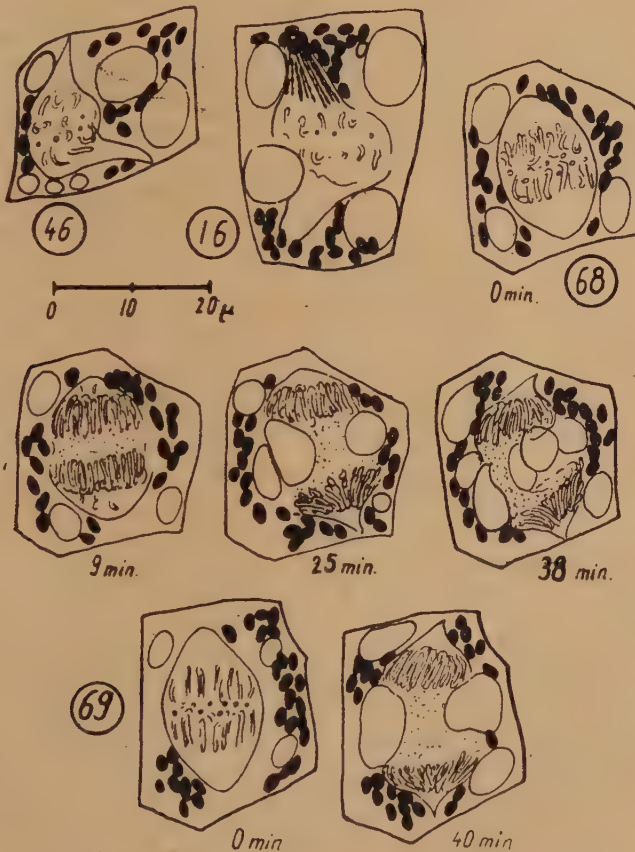
appear on their surface, i. e. the cross section is now not as usually a circle or an ellipse but an irregular many-armed star. The elongating half spindles are stiff which is well visible in cells No. 45 and 46. In cell No 45 the sharp elongating spindle is pushed into



Textfig. 6. Influence of high temperature on spindle morphology in metaphase. Elongation of the spindle, sharpening of spindle poles, deformation of metaphase plate. In cell No 45 the pointed half spindle dents the vacuole.

and dents a vacuole and the spindle is not bent at all. In cell No. 46 the elongating spindle met with cell walls and was bent as a result of the resistance. Extreme elongation of the spindle was also observed; then the spindle become S shaped. It is important to stress that as a result of high temperature the cytoplasm surrounding the spindle also become streaky which makes the exact measuring of the

spindle length very difficult. Often after or during the action of high temperature long fibers running from the metaphase plate to the poles seem to appear inside the spindle. The fibers are arranged convergently to the poles, they are very thin, and their thickness is within the limits of revolving power of the microscope and does not surpass $1/3 \mu$. They are long but their structure is not uniform but is composed of regular elongated spindles the length of which is 0,7 to 0,9 μ (Textfig. 7). Such structure of the fibers has been found also on fixed material in *Lupinus* and *Haemanthus* (Bajer 1952 unpubl.).

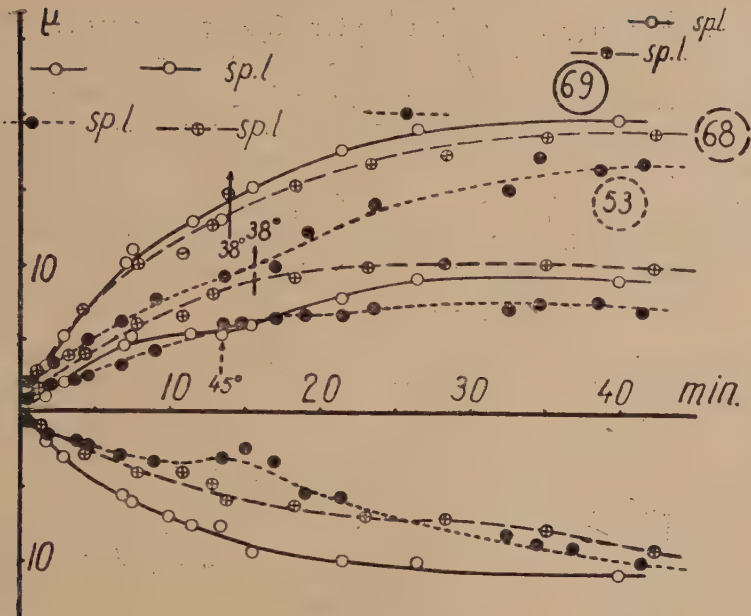


Textfig. 7. Influence of high temperature on metaphase and anaphase. In rings No of cells. Cell No 46, half spindles are bent. Cell No 16, reconstruction of the spindle, fibers of which structure is not uniform are visible. Cells No 68, 69, influence of high temperature on middle anaphase. Chromosome move but their max. distance is not prolonged (cf. Textfig. 8).

Simultaneously to the changes of the spindle the metaphase plate is deformed and crumpled. The deformation is such, that after the action of high temperature during some time the chromosomes are crowded and arranged so irregularly, that the metaphase plate cannot be distinguished. The greatest disturbances are probably caused when high temperature is applied in early anaphase.

Several hours after the action of high temperature ceases the spindle returns to its normal conditions. The first sign of this return can be seen in the rounding of spindle poles (Textfig. 7). Next a more or less regular spindle is formed. The reconstruction of the spindle lasts at least 6 but usually 8-12 h. After the spindle reconstruction anaphase is usually very irregular. It can be seen how the chromosomes move toward the poles, but it was not possible to follow through the movements of two groups and it seems that each chromosome mostly travels independently of the others and that their movements are not synchronised. More than 30 already divided cells were observed after the action of high temperature but anaphase was observed only in 9 of them. However not in one case the division observed was such that the curve of chromosome movement could be plotted from it.

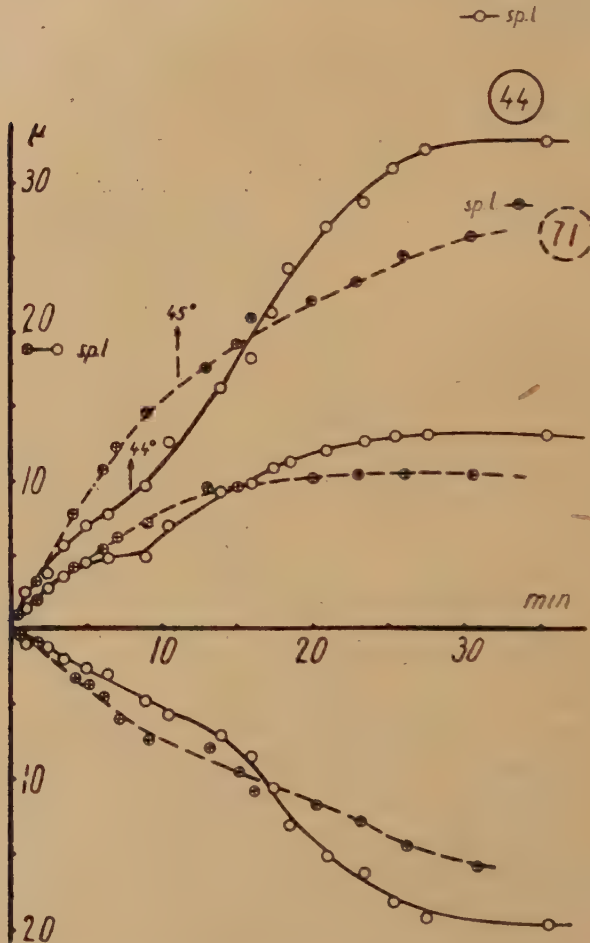
Influence on anaphase and telophase.
The influence of a shock change to high temperature on anaphase depends on the stage of anaphase at which the shock is applied (early, middle, late anaphase). As it was mentioned previously, the influence of high temperature on early anaphase (within 2-4 mins. after it begins is very similar to the influence on metaphase. The influence on middle anaphase can be of two kinds (the same as in the case with early and late anaphase) and the different cells respond differently. As the result of heat the cell is suddenly vacuolised, the half spindles elongate and in most cases the chromosome movement continues. The way of chromosome movement is usually shorter than the length of the spindle before the temperature is raised. In late anaphase the poles of the spindle very often touch the cell walls (Textfig. 7), and in later stages the whole spindle can be bent. This bend is usually in the pushing body while the two anaphase chromosome groups are flattened. This suggests that there is a force which acts from the centre of the pushing body. Anaphase is not much prolonged (not more than 5-10 mins.). However in some very rare cases, far less common than those described above, not only does anaphase continue but the chromosomes continue on their way, (contrary to what they do in normal division at 20°C)



Textfig. 8. Influence of high temperature on middle anaphase. Graphs of chromosome movement. sp. l. — spindle length. In rings No of cells. Arrows indicate the beginning of high temperature action. Anaphase is continued, graphs are similar to that in normal division, except in cell No 53 where lower chromosome group is retarded. Max. separation of chromosomes is shorter than spindle length before high temperature action.

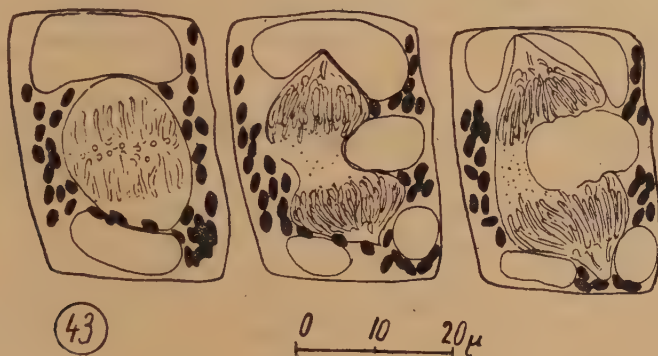
and move further on even after travelling through the distance somewhat shorter than the length of the spindle. They are then displaced together with the half spindles which are thin and pointed. There are two possible developments of the above: 1. The chromosomes do not change their position within the half spindles and so the half spindles do not shorten, but on the contrary elongate all through the duration of the high temperature action; 2. Here on one hand the anaphase chromosome groups are pushed apart and on the other they move within the half spindles (this can be seen in cell No 44, Textfig. 9) and there results the shortening of the half spindles. The two developments of this movement are illustrated in Textfig. 9 (cells Nos 44 and 71). The acceleration of the chromosome motion causes bends in the curve of the chromosome movement (cell No. 44). In the second case the curves resemble the curves of chromosome movement in normal division. It should be stressed here that the duration of anaphase does not differ much from normal

i. e. not very much prolonged. If the temperature is raised in middle anaphase the separation of chromosomes further away than the normal spindle length is rare, and in the greatest number of cases the effect is such as already described (cells N o s. 53, 68, 69). If the temperature is raised in late anaphase, 14 or more minutes after anaphase begins, there occurs in most cases the pushing apart of the two chromosome groups similar to what was observed in cells N o s. 44 and 71. The acceleration of the chromosome



Textfig. 9. Graphs of chromosome separation in consequence of high temperature action on middle anaphase. No of cells in rings. Arrows indicate the beginning of high temperature action. Pushing body elongates and chromosome move in each halfspindle. Spindle elongates during anaphase.

movement does not begin immediately the high temperature is applied but some minutes later. The anaphase is usually prolonged 10—20 mins. It seems that in all cases observed the movement was stopped by the poles of half spindles reaching cell walls. and it seems also that if this obstacle were not in the way of half spindles, the chromosomes would continue to move on. This is indicated by the flattening of chromosome groups just as if a force was acting on them from direction of the pushing body. This force can also bend the half spindles and the pushing body (Table III, Figs. 30-31).



Textfig. 10. Influence of high temperature (45°C), on late anaphase. Cell in metaphase stage at 20°C . Elongation and sharpening of the spindle and separation of chromosomes. Max. separation of chromosomes much longer than spindle length in normal temperature.

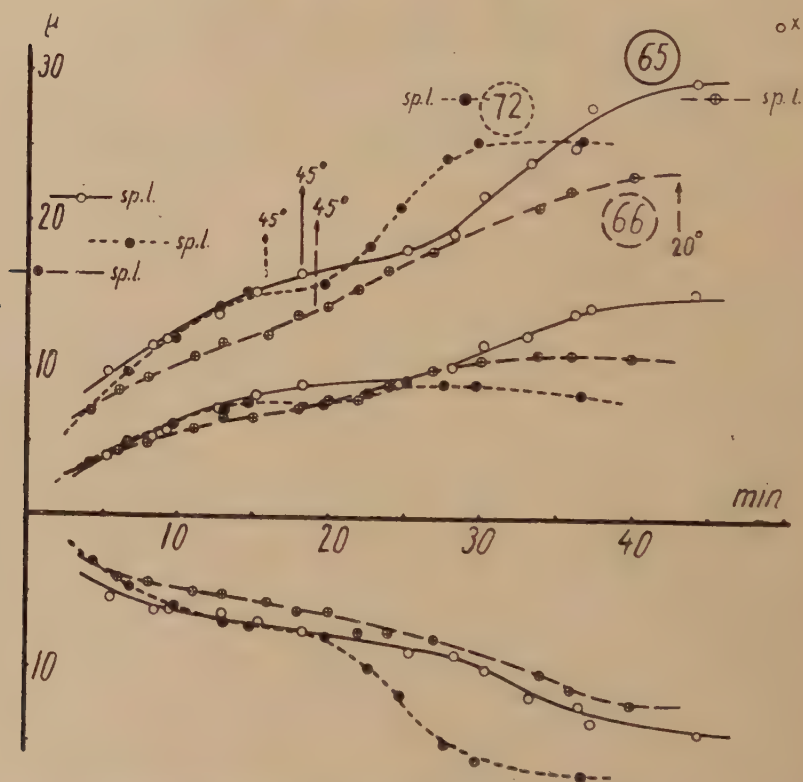
After the action of high temperature is interrupted telophase lasts a very long time (far more than 4 h), but in most cases it is achieved. The formation of cell walls is here difficult and lasts a long time. The difficulties are mainly due to the extensive vacuolisation around and inside the pushing body, nevertheless the cell wall is formed normally, though very slowly. In many cases the membrane on the phragmoplast is well visible.

Action of high and low temperatures

The influence of successive opposite extreme temperatures on cell division was investigated. Both alternatives i. e. first low and then high temperature, and first high and then low temperature, were experimented with. Time of duration of the changed temperatures was 10-60 mins.

a. Influence of first high and then low temperature. If under the influence of high temperature the above described changes take place, the action of the extreme low temperature even applied for a long time, will not alter the previous changes.

b. Influence of first low and then high temperature. After applying high temperature on a cell in which the spindle was rounded under the influence of cooling, the effects of low temperature disappear very quickly. The spindle soon elongates becomes pointed, and resembles greatly the spindle which is formed under the action of high temperature only. It seems that the time in which this shape of the spindle is obtained is longer



Textfig. 11. Influence of high temperature on late anaphase. sp. l. — spindle length. In point X sp. l. of cell No 65 is 50 μ . In rings No of cells. Arrows indicate the beginning of high temperature action. Some minutes after beginning of high temperature action pushing body begins to elongate and in consequence the distance of chromosome separation increases. Most plainly it is visible in cells No 65 and 72.

and the spindle itself somewhat shorter than when only a high temperature was applied. Exact measurements however were not undertaken.

D i s c u s s i o n

In investigations on the mechanism of mitosis the role and significance of the very important element — the nuclear membrane was so far unsufficiently stressed.

Investigations carried out on fixed material seemed to indicate that the nuclear membrane disappeared during prophase and the first stages of the spindle formation, the polar caps, are formed in cytoplasm. This course of the process was in fact thought to be proved.

However investigations on plant material *in vivo* did not verify these results. W a d a ' s (1934) micrurgical experiments on mitosis in staminal hairs of *Tradescantia* seem to indicate that the membrane persists throughout mitosis, and the polar caps are formed inside an enlarged nucleus. W a d a ' s further investigations on cell division in *Osmunda* (1941) and specially his experimental and analitical work on mitosis *in vivo* in *Tradescantia* (W a d a 1950), show the persistance of the membrane on the mitotic spindle throughout mitosis. This membrane is of same kind as the membrane that on the two phase boundiers and when well fixed it is not noticeable in an electron microscope (R o z s a and W y c k o f f 1949). Its invisibility on the spindle in fixed material is no argument against its existence, as these kinds of membranes are destroyed during fixation (e. g. tonoplast on vacuoles), nevertheless there is no reason to doubt their existence.

This kind of membrane undoubtedly exists in *Hymenophyllum* and is well visible in normal temperatures and still better in low ones. This would indicate its partly lipoid nature. Such a membrane exists probably also on the spindles of some animals. Its existance is suggested by the drawing and microphotos in B ě l a ř ' s (1929a) paper. It can be noticed that during division of primary spermatocytes of snailles the action of a mechanical stimulus causes the spindle to become quite spherical, within a few minutes (2-5 mins.), the spindle is then limited with a well visible membrane (B a j e r 1951 unpubl.). However these facts are no proof that such a membrane exists in most other material.

The assertion of the existence of a membrane is a great help in the understanding of the facts described in the present paper.

It has been found that when during division the temperature is lowered rapidly a few °C below 0° the whole spindle becomes quickly rounded and the half spindles shorten while the metaphase plate is very slightly deformed. Similar rounding was noted by W a d a (1938) under the action of butyl alcohol vapours, though in this case the arrangement of chromosomes in metaphase is strongly disturbed. W a d a explains these facts by changes of viscosity of cytoplasm which supposedly governs the shape of the spindle. The different character of changes observed in the course of present investigations is indicated among other things by the different behaviour of the metaphase plate.

There are many factors responsible for the changes occurring in *Hymenophyllum*, though two main of them can be distinguished: in the first group would be those changes, which occur inside the spindle and in the other changes occurring outside i. e. a considerable growth of vacuoles. It seems however in spite of some appearances that the growth of vacuoles has only a secondary effect on the rounding and contraction of the spindle. It is indicated by, a) the different appearance of the spindle observed by W a d a (1938) when it contracted under the influence of the growing vacuoles when ether or chloroform vapour were acting on it, b) the regular plate in low temperature, c) elongation of spindle in high temperature in spite of the growth of vacuoles.

According to two hypotheses of spindle structure i. e. the polypeptide chain (S c h m i d t 1939, W a d a 1950, S w a n n 1951a, b) and the tactoid hypothesis (Ö s t e r g r e n 1949, 1950), it is composed of polypeptide chains. Their structure is probably between fibrillar and globular proteins (framework and reserve proteins). The capacity of polypeptide chains to change their shape (coil, bend, straighten, and shorten) is according to F r e y - W y s s l i n g (1947 a, b) the main characteristic of living cytoplasm.

It seems that the rounding of the spindle under the influence of low temperatures, can partly be caused by at least partial coiling of the polypeptide chains, while simultaneously some of the bonds are broken, and consequently the structural viscosity of the spindle is lessened. As a result the role of the surface tension becomes more important and the spindle assumes a more or less spherical shape. Changes in cytoplasm and probable ones in the spindle membrane also, have an effect on the shape of the spindle.

The regular metaphase plate indicates that changes of polypeptide chains (such as bending, coiling and etc.) begin at the poles

and move towards the metaphase plate and not away from it. This is also indicated by observations during shocks in anaphase: the chromosomes are pushed back a little (towards the equator of the spindle) which means that bonds joining the kinetochores to the poles are loosened. Usually these bonds are extremely strong which is best indicated in *Beams'* and *King's* (1936) experiments with an ultracentrifuge.

The changes which take place in *Hymenophyllum* under the influence of low temperatures seem to be in agreement with the observations on the curve of the outline of the spindle drawn from fixed material at normal temperature (*Ehrenberg* 1946). According to *Ehrenberg* when temperature is lowered the curve of the outline of the spindle becomes more curved and the length of the spindle shortens.

The influence of high temperature on metakinesis, metaphase and early anaphase can be explained by the uncoiling or straightening of the polypeptide chains (partly denaturation) while simultaneously the spindle is strongly dehydrated. In high temperatures some kinds of bonds are broken up. i. e. sensitive to temperature homopolar cohesive bonds between the lipophylic groups, some of the hydrogen bonds, which undoubtedly facilitates the uncoiling or straightening of chains. On the other hand the new arrangement of molecules and their mutual dislocation can lead to the formation of closer and stiffer bonds which makes the breaking up of the structure difficult.

Denaturation of each of the chromosome fibers can be different and the results are the disturbances in the metaphase plate. The fibers of the spindle are fairly stiff and pointed poles of the spindle can be pushed into vacuoles. In normal division spindle fibers are certainly in some cases stiff and can not only pull but even push the chromosomes. Such cases were observed by *Schrader* (1947) in normal division in *Mecistorhinus* and *Brachystetus*.

The process of the elongation of the spindle is reversible, though the return to normal conditions lasts a long time (at least 8 times longer than after low temperature). This would corroborate *Frey-Wyssling's* (1947a, b) supposition that if the fibrillar proteins change into globular ones, there would take place the breaking up of the protein molecules which has not so far been found in vitro. Undoubtedly changes in the spindle structure under the influence of temperature are much more complicated than described by *Frey-Wyssling*, nevertheless the nature of the changes

which the spindle proteins undergo can be similar (e. g. the change to normal stage of denaturised proteins by high temperatures is difficult and long lasting as the framework of the spindle must be in some way broken up).

A process difficult to explain is the prolongation of the way that the chromosomes move through, if the high temperature is applied in late or sometimes middle anaphase. In early anaphase this fact does not occur. This can indicate that in normal division in anaphase, changes which take place, must reach a certain stage of development before high temperature causes this process. Measurements of the spindle length and the distance of the separation of the chromosomes indicate that the chromosomes under the action of the high temperature move not only because of a force pulling them to the poles, but also because of one pushing them apart.

In normal division in most plants the spindle length in anaphase seems to undergo no or very slight changes, this is the case both in *Tradescantia* and *Hymenophyllum* mitosis. However elongations similar to those observed by Hughes and Swann (1942) in chick tissue culture, were found in *Haemanthus* (Bajer 1952). An elongation however does take place in animals and Bělář (1929a) from his observations on *Stenobothrus* suggested the pushing body (Stemmkörper) hypothesis.

Bělář (1929 b) states that the elongation occurs also in plants. Riš (1943) on the basis of the measurements done in Bělář's (1929 b), work thinks that the spindle does not elongate in plants. It should be pointed out that in Bělář's object, i. e. staminal hairs of *Tradescantia*, the spindle is not normally visible (it can be seen in lower temperatures c. f. Wada 1950). From measurements done from Bělář's (1929 b) drawings (Figs. 13, 15, 17, 19) and microphotos it appears that the elongation observed by him is either very small (Figs. 17 and 19) and is only as the result of hypertonic medium, or does not take place (Fig. 13). In some cases it can appear as if the spindle was elongated though that is not the case, this happens in cells with the obliquely placed metaphase plate (Fig. 15), or when the arms move before the kinetochores (Table III, Figs. 11-21):

Statistical measurements of the length of the spindle in metaphase and different stages of anaphase in different plants (Bajer 1951) indicate that a very small elongation of the spindle in anaphase takes place. Observations on *Hymenophyllum* are in agreement with the above. Observations of cell division in older cells (4-6 from the top) in staminal hairs of *Tradescantia* (Bajer 1950) can suggest that the pushing body is active (in these cells the spindle seems to dent into the vacuole during anaphase). However this can here be explained by, that the ends of the spindle move apart during the

course of anaphase and as the cells are narrow, part of the cytoplasm is pushed into the vacuoles. The elongation of the spindle in the plant *Impatiens* in pathological meiosis was observed by S m i t h (1934) but in this case it also does not seem that it was the action of the pushing body. As far as it can be ascertained there is no good evidence in the literature of the subject proving the action of the pushing body in plants during normal mitosis (but *Haemanthus* endosperm, B a j e r 1952). A very good argument against this hypothesis is the so far overlooked fact that in plants the two chromosome groups do not move in anaphase synchronically and symmetrically (less than 5%) and this could be expected if there was a force acting from the metaphase plate and if the cytoplasm around the spindle was uniform which seems to take place very often.

In *Hymenophyllum* when the spindle elongates during high temperature action, the anaphase chromosome groups are bent or flattened. It results from this, that the force causing this movement acts from the center of the pushing body, and the separation would be far greater if there were no cell walls.

Hydration and the consequent increase in volume of the pushing body proteins offers a simple explanation of the observed elongation of the spindle. L e c o m t e d u N o ü y (1945) states that the proteins of blood serum are strongly hydrated in high temperatures (e. g. 900 times) and as a result the volume of the molecules increases 4 times (pp. 81-86). The increase in volume of the pushing body in *Stenobothrus* was also observed by B ě l a ř (1929 a) in hypertonic solutions. From observations on *Hymenophyllum* it is impossible to state whether the increase in volume of the pushing body does occur, though there is no proof to the contrary. It seems that if there is an increase of the volume it is very slight. Instead of the increase in volume a change in the arrangement of molecules can probably cause the elongation of the spindle. As the spindle elongates, and also in the course of normal mitosis, the pushing body becomes very thin mainly in its center. Within the pushing body itself new vacuoles appear and grow all the time the high temperature lasts. These vacuoles and also the growing ones from the cytoplasm sometimes bend the pushing body and can press a little on the chromosomes. This however can have only a secondary effect. If active elongation of the pushing body existing in animals may be compared to that induced in *Hymenophyllum* then perhaps the mechanism of spindle elongation in *Hymenophyllum* is the same as in animals. It must be stated however that the explanation of the pushing body mechanism which appears in *Hymenophyllum* under the influence of high temperature is very difficult and cannot be satisfactory now.

A c k n o w l e d g m e n t

The authors wish to express their gratitude to the Director of the Laboratory Prof. Dr F. Górski for the kind interest in the course of this work. We are also very much indebted to Prof. Dr W. Szafer Director of the Botanical Garden for material and to Prof. Dr H. Niewodniczański the Director of Physical Institute for allowing us the use ultrathermostat.

SUMMARY

The influence of shock changes to low (0° to -16°C) and to high ($+38^{\circ}$ to $+45^{\circ}\text{C}$) temperatures on mitosis *in vivo* in *Hymenophyllum tunbridgense* Sm. were investigated. Change temperatures were applied for 10-120 mins.

1. In normal mitosis the spindle is usually well visible and it can be seen that it has a membrane. The membrane is on the half spindles, on the pushing body (Stemmkörper of Bělař 1929) and also on the phragmoplast. This membrane is of the kind of phases boundary and is best visible in low temperatures.

2. The length of the spindle diminishes from the stage of the polar cap formation till anaphase and in anaphase it remains constant.

3. The chromosome are well visible and the metaphase plate is remarkably regular. Anaphase is very distinct and it is easy to establish its beginning and to observe the movement of each of the kinetochores.

4. In low temperatures (-4° to -16°C) occur:

a. strong vacuolisation of cytoplasm, pushing body and phragmoplast.

b. Rounding and contraction of the spindle though the metaphase plate is not deformed.

c. Complete interruption of mitosis.

After return to normal temperature ($+20^{\circ}\text{C}$) mitosis is continued and its course is quite normal. Similar changes may be repeated in the same cell several times.

5. In high temperature ($+38^{\circ}$ to $+45^{\circ}\text{C}$) occur:

a. Vacuolisation of cytoplasm;

b. Elongation, thinning and sharpening of half spindles and a simultaneous strong deformation of the metaphase plate,

c. Increase of chromosome separation (to twice the original

separation) if the high temperature action begins in late and sometimes in middle anaphase. In this case two factors responsible for chromosome movement can be active: pushing apart (action of pushing body), pulling to the poles (shortening of the half spindles), or one of them. Dependent on this is the shape of the chromosome movement curve. The action of high temperature since middle anaphase does usually cause the elongation of chromosome separation in comparison to normal separation. In these last cases the course of anaphase is similar to that found in most animals.

After the return to normal temperature the spindle is reconstructed (if high temperature is applied in prophase, or in metaphase) and the course of cell division is normal. The reconstruction lasts a long time (6-8 h).

After the action of high temperature in anaphase the formation of the cell wall is very retarded (it lasts 4 times longer i. e. 2-4 h).

6. The results of investigations on submicroscopical structure of the spindle and cytoplasm were discussed and an attempt was made to explain some of changes observed.

REFERENCES

- B a j e r A., 1950. Electrical forces in mitosis. I. Acta Soc. Bot. Pol.: 20: 709—737.
- B a j e r A., 1951. Studies on spindle and chromosome movement. Acta Soc. Bot. Pol. 21: 95—111.
- B a j e r A., 1952. Absolute viscosity and living mitotic spindle structure Acta Soc. Bot. Pol. 22: 231—248.
- B a r b e r H. N., 1939. The rate of movement of chromosomes on the spindle. Chromosoma, 1: 33—50.
- B e a m s H. W., and R. L. K i n g, 1936. The effect of ultracentrifuging upon chick embryonic cells, with special reference to the „resting“ nucleus and the mitotic spindle. Biol. Bull. 71: 188—198.
- B ě l a ř K., 1929 a. Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Untersuchungen an den Spermatozyten von *Chorthippus lineatus* Panz. Arch. Entwmech. 118: 359—484.
- B ě l a ř K., 1929 a. Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Untersuchungen an den Staubfadenhaarzellen und Blatmeristemzellen von *Tradescantia virginica*. Z. Zellf. 10: 71—134.
- B ě l a ř K., 1930. Über die reversible Entmischung des lebenden Protoplasma. Protoplasma 9: 209—244.
- E h r e n b e r g L., 1946. Morphology and chemistry of the metaphase spindle. Hereditas. 32: 15—35.
- F r e y - W y s s l i n g A., 1947 a. Das Plasmagel. Acta Physiologica Cell. 3: 33—42.

- Frey - Wyssling A., 1947 b. Über den Feinbau des Zytoplasmas. *Chimia*, 1: 224.
- Gautheret R. J. 1942. Manual technique de culture des tissus végétaux. Masson. Paris p. 172.
- Heitz E., 1942. Lebendbeobachtung der Zellteilung bei *Antoceros* und *Hymenophyllum*. *Ber. d. Bot. Gesell.* 60: 28—36.
- Lecomte du Noüy., 1945. Studies in biophysics: The critical temperature of serum (56°). Reinhold Publ. Corp. London. p. 185.
- Litardièrè R., 1921. Recherches sur l'élément chromosomique dans la cariocinèse somatique des Filicinées. *La Cellule* 31: 1-225.
- Östergren G., 1949. *Luzula* and the mechanism of chromosome movements. *Hereditas*, 35: 444—468.
- Östergren G., 1950. Consideration of some elementary features of mitosis. *Hereditas*, 36: 1—18.
- Pekarek J., 1932. Ein vergessenes Object für das Studium Kern- und Zellteilungsvorgänge in Leben. *Planta* 16: 778—800.
- Ris H., 1943. A quantitative study of anaphase movement in the aphid *Tamalia*. *Biol. Bull.* 85: 164—178.
- Ris H., 1949. The anaphase movement of chromosomes in the spermatocytes of the grasshopper. *Biol. Bull.* 96: 90—106.
- Rozsa G., and R. W. G. Wyckoff, 1950. The electron microscopy of dividing cells. *Bioch. Biophys. Acta*, 6: 334—339.
- Schrader F., 1946. Mitosis. Columbia Univ. Press. N. Y. p. 110.
- Schrader F., 1947. Data contributing to an analysis of metaphase mechanics. *Chromosoma*, 3: 22—47.
- Schrader F., 1951. A critique of recent hypotheses of mitosis. *Symp. on Cytol.* 37—51. Michigan.
- Schmidt W. J., 1939. Doppelbrechung der Kernspindel und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung. *Chromosoma*, 1: 253—264.
- Smith F. H., 1934. Anomalous spindles in *Impatiens pallida*. *Cytologia*, 6: 165—176.
- Swann M. M., 1951a. Protoplasmic structure and mitosis. I. *J. Exp. Biol.* 28: 417—430.
- Swann M. M., 1951b. Protoplasmic structure and mitosis. II. *J. exp. Biol.* 28: 334—444.
- Wada B., 1935. Mikrurgische Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. II. Das Verhalten der Spindelfigur und einige ihrer physikalischen Eigenschaften in den somatischen Zellen. *Cytologia* 6: 381—406.
- Wada B., 1939. Experimentelle Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. III. Die Einwirkung der Dämpfe verschiedener Substanzen auf die Mitose bei den Tradescantia-Haarzellen. *Cytologia* 9: 460—476.
- Wada B., 1941. Über die Spindelfigur bei der somatischen Mitose der Prothalliumzellen von *Osmunda japonica* Tunb. *in vivo*. *Cytologia* 11: 353—368.
- Wada B., 1944. Studien Kausalanalysis der Mitose. I. Die Mitoseablaufskurve bei den Tradescantia-Haarzellen. *Cytologia* 13: 323—336.
- Wada B., 1950. The mechanism of mitosis based on studies of the submicroscopic structure and of the living state of *Tradescantia* cell. *Cytologia* 16: 1—26.

EXPLANATION OF PLATES

Magnification of all microphotos approximately 1000X

Plate I

- Figs. 1—11. The same cell division at 20°C. Cell No 103.
1. Prophase (0 min.) in stage of polar caps.
 2. Very early metakinesis (23 mins.).
 3. Metaphase, plate is very regular, almost all kinetochores are in one plane (108 mins.).
 4. The very beginning of anaphase. On the left side of the plate chromosomes begin to move, while on the right they lie still in the plane of the equatorial plate (124 mins.).
 - 5—6. Early (138 mins.) and middle anaphase (142 mins.). The spindle is well visible. Chromosomes are thinner than in metaphase.
 7. Late anaphase (149 mins.).
 8. Early telophase (157 mins.).
 - 8—10. Cell wall partly formed in phragmoplast (172, 197 mins.).
 11. Late telophase, vacuolisation of the phragmoplast. (210 mins.).
- Figs. 12—13. Two stages of telophase with membrane visible on the phragmoplast.
- Fig. 14. Late anaphase with membrane visible on the pushing body.
- Fig. 15. Late telophase, membrane on the phragmoplast. The membrane is swollen on the right by new a cell wall.

Plate II

- Figs. 16—21. The same cell, cell division after low (—7°C) temperature action in time 0—35 mins. Cell No 115.
- 16—17. Rounded spindle, on both sides of the spindle large vacuoles, regular metaphase plate, (40 and 42 mins.), two planes.
 18. Spindle almost reconstructed (69 mins.).
 - 19—20. Anaphase after reconstruction of the spindle (90, 91 mins.).
 21. Telophase, formation of new cell wall in phragmoplast.
- Figs. 22—24. The same cell. (No 115).
22. Metaphase at + 20°C (0 min.).
 23. Cell in temperature —7°C, spindle slightly rounded, strong vacuolisation of the cell (8 min.).
 24. Cell after high temperature action (88 mins.) elongated and pointed spindle.

Low temperature acts 0—60 mins. high (+ 42°C) begins to act at 60 mins.

- Figs. 25—27. Elongation of the spindle in metakinesis as the consequence of high temperature (42°C) action. High temperature acts 18—69 mins.
- 25 — cell at 20°C (0 min.), 26—19 mins., 27 — 59 mins.

Plate III

- Figs. 28—31. Elongation of half spindles and pushing body in consequence of high temperature (+ 45°C) action, temperature acts 0—23 min.
28. Early anaphase before high temperature action (0 min.).
 29. Elongation and pointing of the spindle, enlarging vacuoles (11 min.).
 - 30—31. Bending of the spindle (29, 80 mins.).

Figs. 32—37 and 38—43. Influence of high temperature (+ 45°C) on late anaphase. Lengthening of anaphase separation of chromosomes. Flattening of anaphase chromosome groups very well visible in 34, 41, 42. 32 (0 min.), 39 (17 min.), 34 (21 min.), 35 (28 mins.), 26 (46 mins.), 27 (60 mins.), high temperature acts 14—40 mins. 38 (0 min.), 39 (13 mins.), 40 (18 mins.), 41 (27 mins.), 42 (45 mins.), 43 (46 mins.), high temperature acts 8—34 mins.

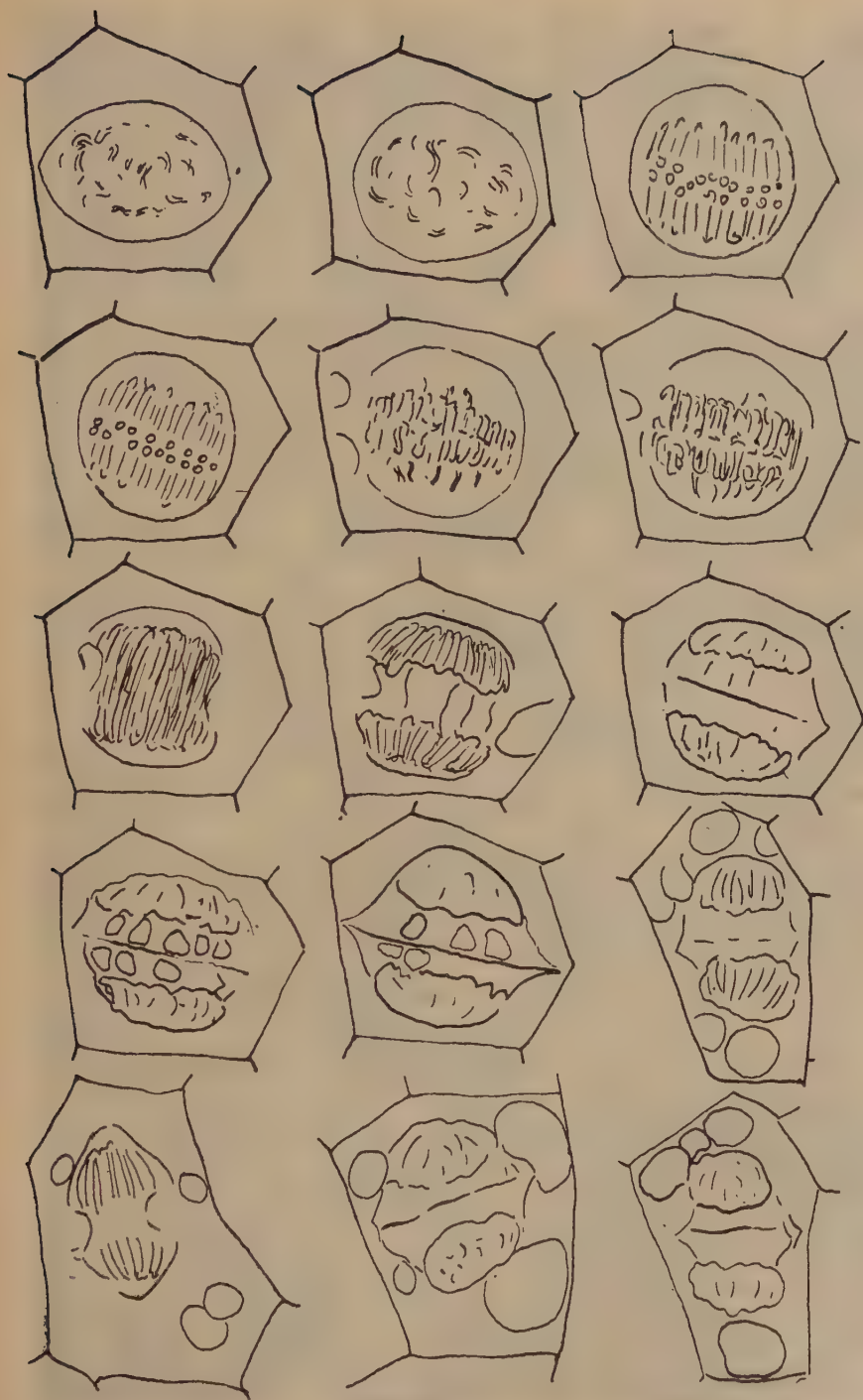


Plate I.

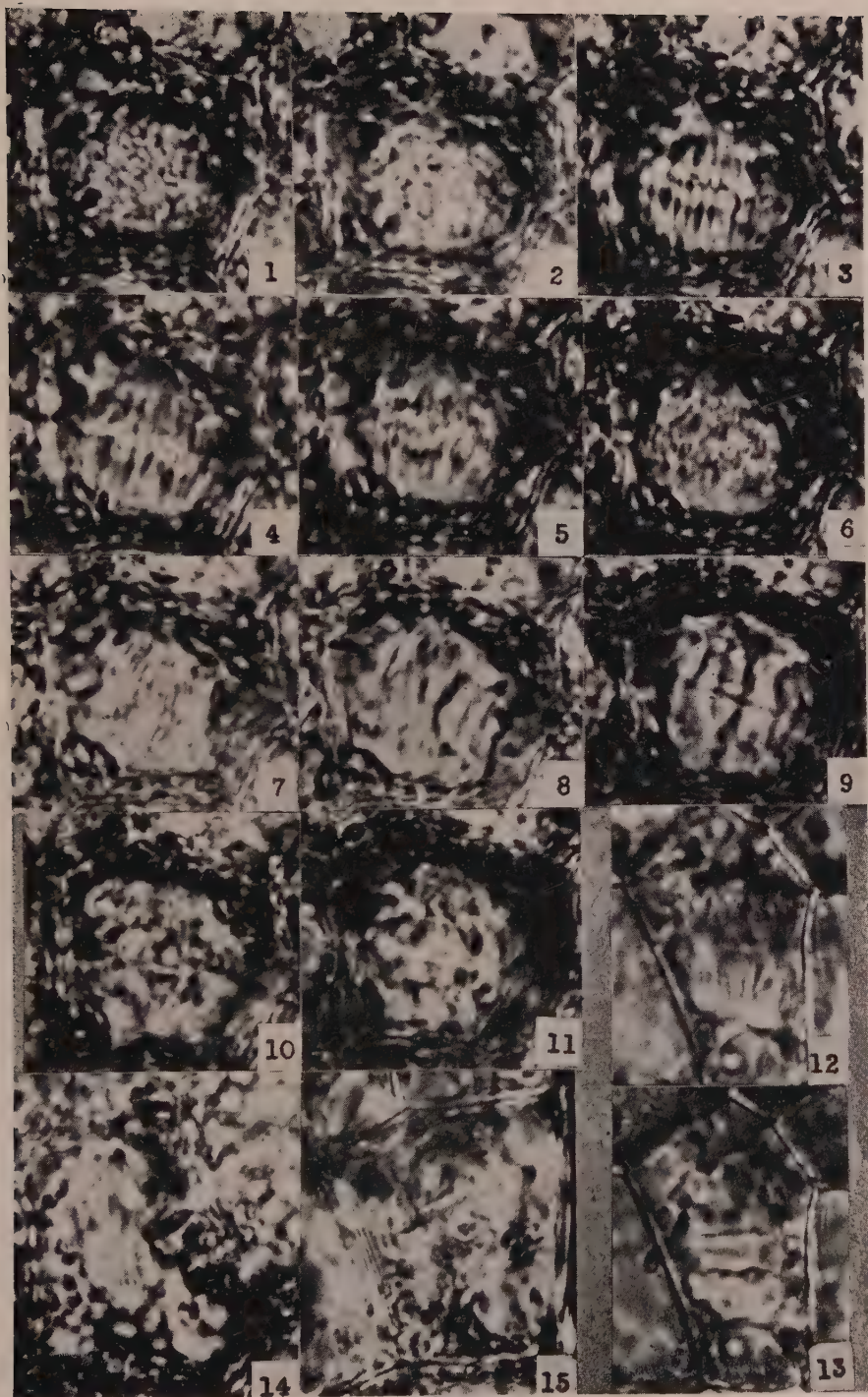


Plate I.



Plate II.



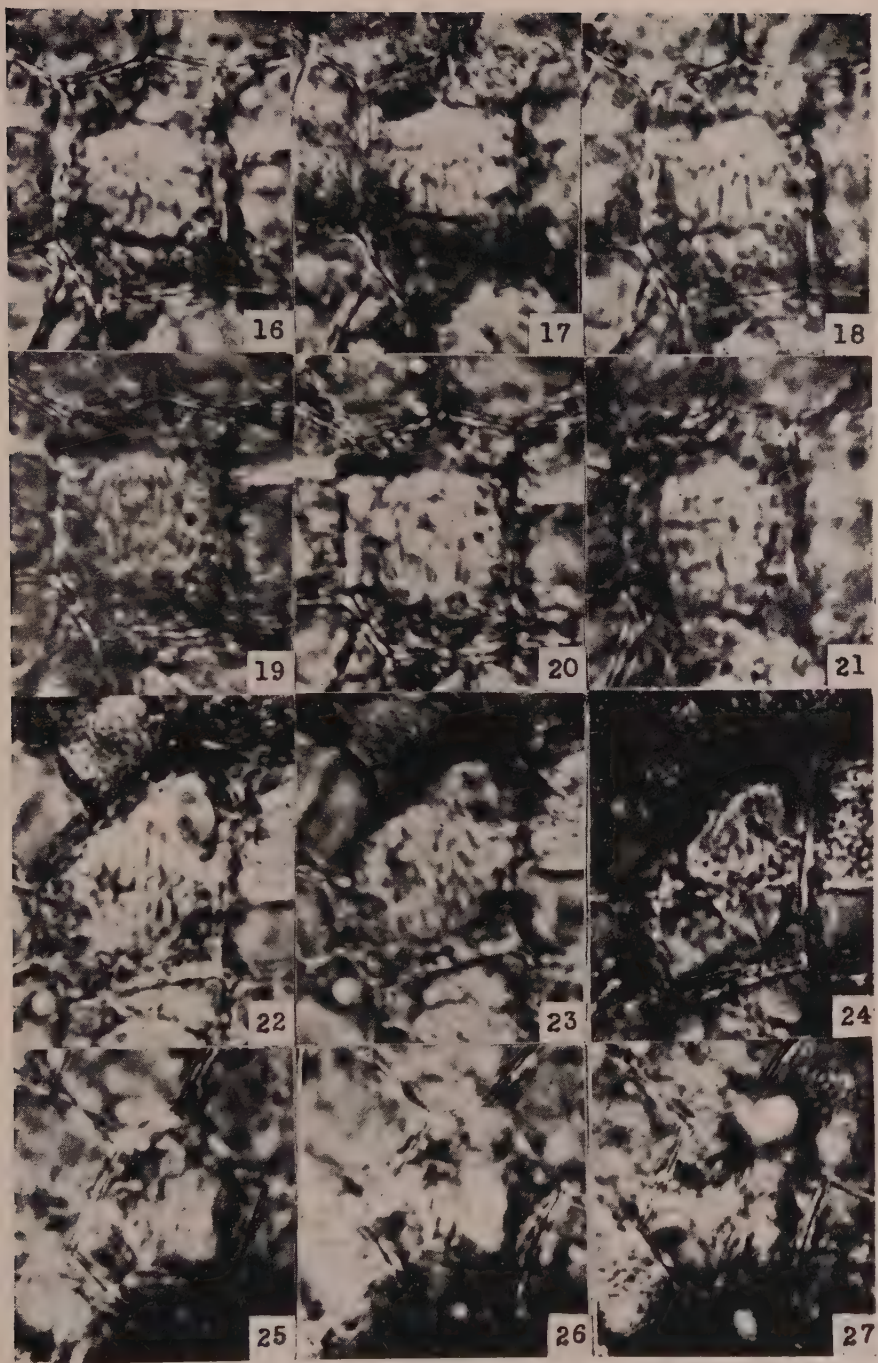


Plate II.



Plate III.

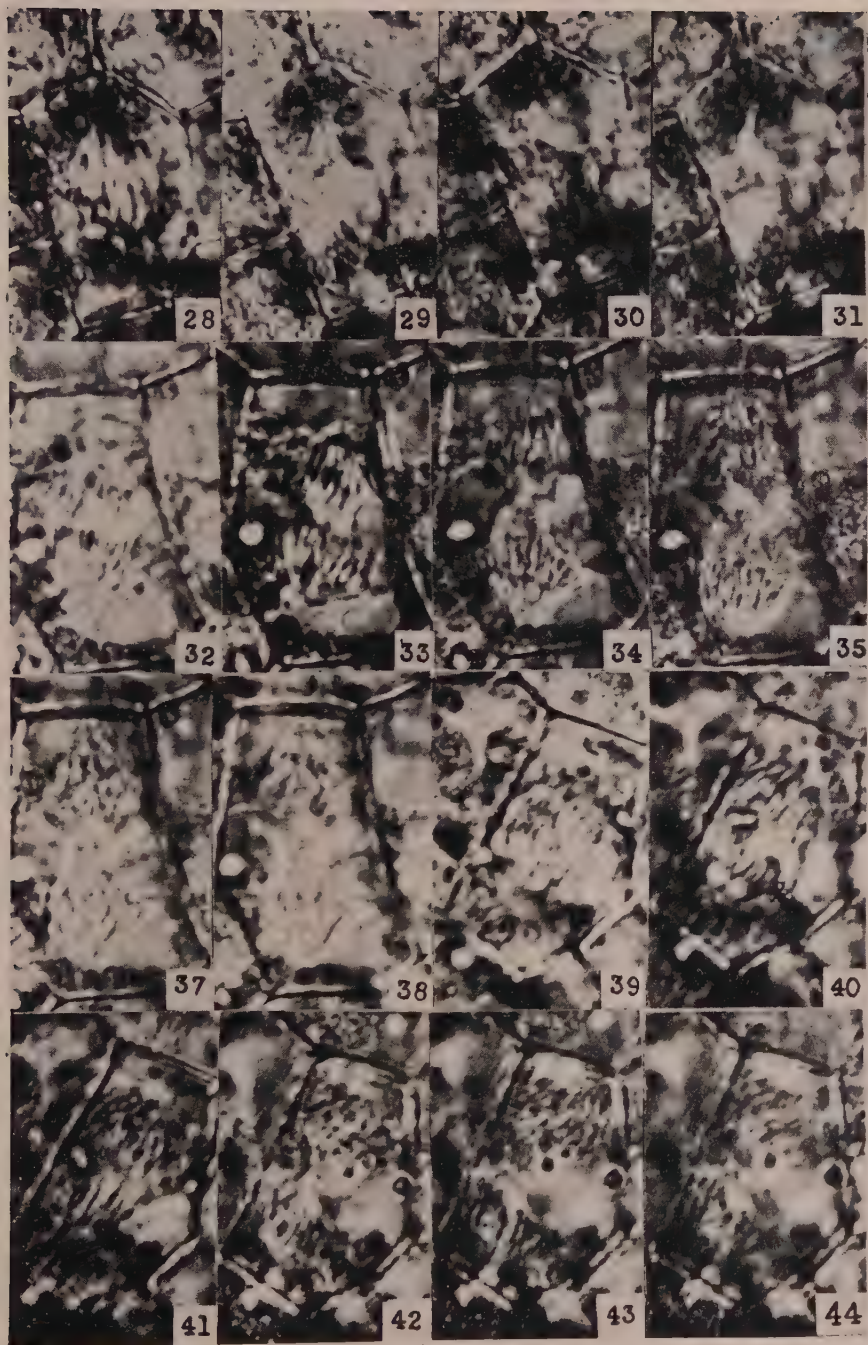


Plate III.

Arrangement of chloroplasts and light absorption in plant cell.

J. ZURZYCKI

(entered 13. VI. 1952 r.)

I n t r o d u c t i o n

The biological meaning of the phenomenon of chloroplasts movements within the cell is not well understood though these movements are very common. As the varying intensities of light are the main cause of the movement it is probable that these changes in position are the mechanism by which the plant adjusts itself to the light conditions of the environment (S e n n 1908), and on one hand they enable the possibly maximum absorption of weak light for photosynthesis while on the other they guard the chloroplasts from the damaging effects of too strong light.

In his monograph S e n n (1908) shows on numerous examples that the displacement of chloroplasts occurs as a rule between those parts of the cell which are illuminated more brightly (due either to direct light or to concentration of light rays) and those which are less illuminated (due to local absorption or refraction). This however does not explain all cases (e. g. the *Mesocarpus* type). It also seems that in leaves infiltrated and immersed in water the differences in light intensities in the different parts of cells are too weak to be taken as the only cause of the phototactic phenomenon.

When comparing the arrangement of chloroplasts in cells which are in optimum light conditions (epistrophe) to those in maximum light conditions (parastrophe)* it appears that in parastrophe the directly illuminated surface of chloroplast diminishes while at the

* Terms epistrophe parastrophe are used not in the sense of a specific morphological arrangement (F r a n k 1872, S e n n 1908) but as the arrangement which corresponds to the optimum and maximum intensities of light.

same time the layer of chloroplast becomes thicker and a considerable part of the cell is emptied of them and becomes transparent to light.

Such changes in the arrangement of chloroplasts can influence profoundly the amount of light energy absorbed within the cell.

The purpose of the present paper is to investigate the changes in the amount of light absorbed in dependence on the arrangement of chloroplasts.

Theory

When looking on a cell in the same direction in which light falls it appears that in the optimum intensity of light all or nearly all the surface of cell is covered by chloroplasts, while when in bright light the part of the surface covered with chloroplasts is much smaller and at the same time their layer becomes thicker (Plate I). This phenomenon is illustrated on Fig. 1.

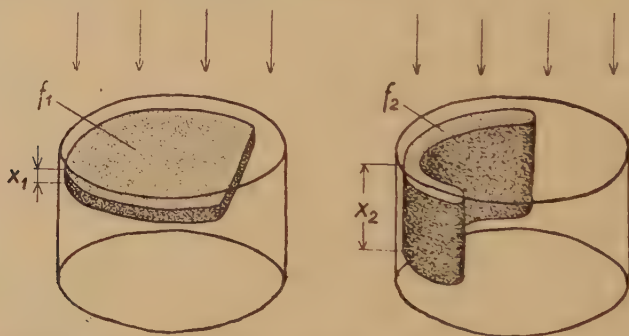


Fig. 1. Diagram illustrating changes in arrangement of chloroplasts under the influence of light. Left — arrangement in optimum light conditions (epistrophe) and right — in strong light (parastrophe).

What are the changes in energy absorbed when the chloroplasts displace themselves from one position to another?

Let i be the intensity of light falling on a unit of the surface area

f — the area of the surface of chloroplasts directly illuminated (or rather the area of the projection of that surface on a plane perpendicular to the rays of light)

x — the average thickness of the chloroplast layer measured in the direction of light rays.

Assuming that²

² The equity of the assumptions will be dealt with in the course of the discussion.

- (a) light is absorbed only by chloroplasts and passes through the remaining parts of the cell without loss
- (b) the chloroplasts is optical homogenous
- (c) the absorption of light in chloroplasts follows the Beer-Lambert law

the amount of energy absorbed can be expressed by

$$I_a = I_0 - I_t$$

where I_a is the amount of energy absorbed

„ I_0 „ „ „ „ „ entering the cell

„ I_t „ „ „ „ „ leaving the cell

as

$$I_0 = i \cdot f$$

$$I_t = I_0 e^{-Ecx} = i \cdot f e^{-Ecx}$$

where E is the coefficient of extinction for given wave length and given concentration of the absorbing matter

c is concentration of the absorbing matter

then

$$I_a = i \cdot f \cdot (1 - e^{-Ecx})$$

in this equation f and x are correlated to each other. Assuming that

- (d) the volume of the chloroplast does not change when the chloroplast is displaced or changes its shape

we obtain

$$f \cdot x = \text{const} = a$$

$$x = \frac{a}{f}$$

$$I_a = i \cdot f \cdot \left(1 - e^{-Ec \frac{a}{f}}\right).$$

In this expression I_a is only a function of f .

Considering that

$$\frac{d e^{-Ec \frac{a}{f}}}{d f} = \frac{Eca}{f^2} \cdot e^{-Ecaf}$$

derivative of this equation is

$$\frac{d I_a}{d f} = i \left(1 - \frac{Eca}{f} \cdot e^{-\frac{Eca}{f}} - e^{-\frac{Eca}{f}}\right)$$

It can easily be shown that the value of this result is always positive because if

$$i \left(1 - \frac{Eca}{f} \cdot e^{-\frac{Eca}{f}} - e^{-\frac{Eca}{f}} \right) > 0$$

then as $i > 0$

$$1 - \frac{Eca}{f} \cdot e^{-\frac{Eca}{f}} - e^{-\frac{Eca}{f}} > 0$$

or

$$e^{-\frac{Eca}{f}} > 1 - \frac{Eca}{f}$$

This in fact is so because

$$e^{-\frac{Eca}{f}} = 1 - \frac{Eca}{f} + \frac{(Eca)^2}{f^2 \cdot 2!} - \frac{(Eca)^3}{f^3 \cdot 3!} + \dots + \frac{(Eca)^n}{f^n \cdot n!}.$$

The limiting value of the function I_a when $f=0$ is $I_a=0$
when $f=\infty$ is $I_a=iEca$

The diminution of the area f with the simultaneous increase of the thickness of the absorbing layer x , is always followed by the diminution of energy absorbed. If an arrangement of a constant concentration of the absorbing matter (chlorophyll) is considered then the dependance of the changes in energy absorption on changes in area f is dependent on the extinction coefficient. Fig. 2 demonstrates an example of relative changes in light energy absorbed in a plate measuring initially $100 \mu^2 \times 1 \mu$ and diminishing gradually its directly illuminated surface (initially $100 \mu^2$) while simultaneous no decrease in volume and a consequent growth in its thickness takes place.

Moreover the following assumptions were made:

- (e) that chlorophyll concentration was 6%
- (f) the extinction coefficient was such that its logarithms were 3,5, 4,0, 4,5, 5,0.

It was also assumed that the plate of the initial shape absorbs 100% of energy. It appears from the graph that when the extinctions are small even a considerable diminution of the surface area and of thickening of the absorbing layer has only slight influence on the change in light absorption. It is not till the area becomes very small that the amount of light absorbed diminishes and then it does so abruptly. The greater the extinction the greater is the influence of

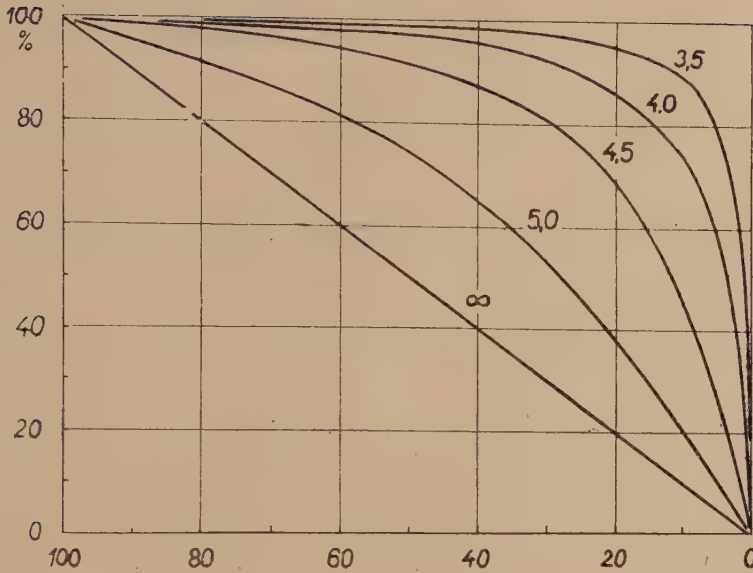


Fig. 2. Relative changes in absorption by a plate the surface area of which was originally $f = 100\mu^2$ and the thickness $x = 1\mu$ while its volume remains constant. Numbers indicate the logarithm of extinction.

the decrease in area. In the case of $E = \infty$, i. e. in the case of the substance which is wholly not transparent, the amount of energy absorbed would be directly proportional to the decrease in area.

So far it was assumed that the intensity of light i falling on the cell is constant. However when the chloroplasts are in the epistrophe arrangement the intensity of light is weaker then it is when they are in parastrophe.

Let

I_e, i_1, f_1, x_1 be the values of I, i, f, x in epistrophe

I_p, i_2, f_2, x_2 „ „ „ „ I, i, f, x in parastrophe

Then the amount of light absorbed in epistrophe is

$$I_e = i_1 \cdot f_1 \cdot (1 - e^{-E_e x_1})$$

and in parastrophe

$$I_p = i_2 \cdot f_2 \cdot (e^{-E_e x_2})$$

The amounts I_e and I_p are dependent not only on the extinction coefficient but also on the values of i_1, i_2, f_1, f_2, x_1 und x_2

If the energy absorbed both in epistrophe and parastrophe was the same, i. e. if the ratio

$$\frac{I_p}{I_e} = 1$$

or nearly equal one then it would be permissible to say that the system regulating the absorption of energy is perfect. On the other

hand the more is the ratio $\frac{I_p}{I_e}$ greater than one and the more it

approaches the value of the ratio $\frac{i_2}{i_1}$ the less efficient is the mecha-

nism regulating the absorption of energy. When the chloroplasts do not change their position within the cell then

$$\frac{I_p}{I_e} = \frac{i_2}{i_1}$$

Experiments

To check what is the degree of efficiency of mechanism regulating by the movement of chloroplasts the absorption of light energy

1. the changes of f and x in 10 typical cells in epistrophe and parastrophe were investigated.

2. the intensities of light in which epistrophe and parastrophe occurs were established

3. this efficiency i. e. the ratio $\frac{I_p}{I_e}$ for several values of extinction was calculated.

Investigations were done on 4 different species i. e. *Mougeotia* sp., *Selaginella Martensii* Spring, *Funaria hygrometrica* Sibth, and *Lemna trisulca* L.

1. Measurement of the surface area f were made by drawing with an Abbe's apparatus under a microscope (objective 45 x and eyepiece 15 x) outlines of the cell and chloroplasts was estimated and calculated in μ^2 . The thickness of the chloroplast layer was either obtained from direct measurement in every cell (*Mougeotia*) or the average thickness calculated from more than twenty chloroplasts on a cross-section of a leaf (*Selaginella*) was accepted or finally

by measuring the average thickness of chloroplasts and allowing for necessary corrections (*Funaria, Lemna*).

Mougeotia. In every cell of this alga there is one plate shaped chloroplast, which both in weak light and in optimum light conditions is placed perpendicularly to the light rays. In bright light the plate shaped chloroplast makes a turn of 90° and places itself paralelly to the light rays (S t a h l 1880, S e n n 1908). The breadth of the chloroplast in one position is its thickness in the other and vice versa, consequently an accurate estimation of x_1 and x_2 is very simple. The data on the area f and the thickness x for cells of *Mougeotia* in epistrophe and parastrophe and also the percentage the surface area changes in parastrophe in relation to the surface area in epistrophe are given in Table I. As it can be seen from this table when the chloroplast turns by 90° the surface area f diminishes to approximatly $1/4$ of what it was before, at the same time the thickness of chloroplast increases approximatly four times. In comparison to the other plants investigated the changes of f and x resulting from the change in the arrangement of chloroplasts is the greatest in *Mougeotia*.

TABLE I

Mougeotia sp.

$$\begin{array}{l} i_1=25000 \\ i_2=80000 \end{array} \quad \frac{i_2}{i_1} = 3,2$$

No of cell	Epistrophe		Parastrophe		$f_2 \%$	I_p/I_e			
	f_1 in μ^2	x_1 in μ	f_2 in μ^2	x_2 in μ		$\log E=4.5$	$\log E=4.0$	$\log E=4.5$	$\log E=5.0$
1	2106	5.0	479	22.0	22.8	2.72	1.97	1.11	0.76
2	2180	4.4	480	20.0	22.0	2.77	2.02	0.99	0.74
3	2410	4.6	505	22.0	21.0	2.29	1.96	1.09	0.70
4	2308	5.2	492	24.4	21.4	2.54	1.87	0.90	0.70
5	4100	4.8	957	20.5	23.9	2.74	2.01	1.16	0.78
6	2275	4.6	518	20.0	22.8	2.73	2.02	1.16	0.76
7	2035	5.0	518	19.6	25.5	2.74	2.08	1.22	0.84
8	2470	4.9	545	22.2	22.1	2.55	1.95	1.09	0.74
9	3410	5.3	850	22.0	24.4	2.14	2.09	1.23	0.82
10	3252	4.6	745	20.5	22.8	1.83	2.06	1.16	0.77

Selaginella Martensi. In *Selaginella* the movements of chloroplasts in the epidermis were investigated (Prillieux 1874, Senn 1908, Zurzycki and Zurzycka 1951). In each cell of this plant there is one chloroplast which in weak light lines its cup shaped bottom. In bright light the chloroplast move to one of the side walls of the cell. The surface area of the chloroplast was obtained from diagrams made with Abbe apparatus while its thinckness in epistrophe was taken to be the average thickness of chloroplasts from 20 cells in a cross section of a leaf. The thinckness of the chloroplasts in parastrophe was calculated from the obtained values of f_1 , f_2 and x_1 by assuming its constant volume. E. g. $f_1 = 594 \mu^2$, $f_2 = 310 \mu^2$, the average thickness of the chloroplasts in epistrophe is $7,3 \mu$ then

$$x_2 = \frac{f_1 \cdot x_1}{f_2} = \frac{594 \cdot 7,3}{310} = 14,0 \mu.$$

In Table II are given the values in epi- and parastrophe of f and x calculated for 10 cells of *Selaginella*. From this table it appears that the diminution of surface area in parastrophe is far smaller in this plant than in *Mougeotia* and on the average it is one half of the surface area in epistrophe. Correspondingly the thickness of the chloroplasts in parastrophe is twice as big.

Funaria hygrometrica. In leaf cells of this moss there are numerous disc like chloroplasts the shape and the size of which is characteristic also for higher plants. In epistrophe they place themselves on the top and the bottom walls of the leaf cells, while in strong light they move to the side walls and arrange themselves parallely to the light rays (Famintzin 1867, Senn 1908, Vorkel 1934). The difficulty in estimating f and x is that in epistrophy the chloroplast are arranged in two layers one over the other of which one partly covers the other. When drawing in the arrangement of chloroplasts in the outline of the cell first the upper layer was drawn in and than after lowering the tube of the microscope the arrangement of the bottom chloroplast layer was sketched on the same drawing. Planimetry of the surface of the chloroplasts illuminated directly and the surface of the bottom chloroplasts shaded by the upper plasids was made separately. The area of the surface illuminated directly was taken to be f , while the area of the shaded surface served to calculate the corrections of x . The thickness of one layer was calculated from the average thick-

TABLE II
Selaginella Martensi
 $i_1 = 500$ $i_2 = 30$
 $i_2 = 15000$ $i_1 =$

No of cell	Epistrophe		Parastrophe		$f_2 \cdot 10^3$	I_p/I_e			
	f_1 in μ^2	x_1 in μ	f_2 in μ^2	x_2 in μ		$\log E=3,5$	$\log E=4,0$	$\log E=4,5$	$\log E=5,0$
1	594	7.3	310	1.40	52.3	28.40	24.55	18.89	15.78
2	580	7.3	317	1.34	54.7	28.64	25.10	20.07	16.52
3	634	7.3	243	1.91	41.8	27.13	21.45	24.37	11.58
4	513	7.3	203	1.85	39.5	27.26	21.75	14.79	11.96
5	486	7.3	202	1.76	41.6	26.71	22.30	15.38	12.56
6	513	7.3	229	1.64	44.7	27.89	23.05	16.50	13.50
7	445	7.3	283	1.15	63.6	29.06	26.48	23.00	19.24
8	405	7.3	216	1.37	53.3	28.75	24.86	19.27	16.12
9	418	7.3	217	1.41	51.7	28.30	24.54	18.78	15.68
10	358	7.3	203	1.29	56.6	28.65	25.44	20.22	17.17

ness of 20 chloroplasts. In order to simplify the calculations the bottom shaded area was treated as if it spread evenly with uniform thickness under the whole of the surface f and increasing its thickness. E. g. the area of directly illuminated chloroplasts is $783 \mu^2$, the area of the shaded surface is $103 \mu^2$ the average thickness of chloroplasts was calculated to be $1,8 \mu$. The volume of the shaded layer of chloroplasts will therefore be $103 \cdot 1,8 = 185 \mu^3$. If this layer was spread evenly under the directly illuminated chloroplasts

layer the thickness of such a layer would be $\frac{185}{783} = 0,24 \mu$. In this example results are $f = 783 \mu^2$ and $x = 1,8 + 0,24 = 2,04 \mu$. Such an approximation is not free from error, but as some of the other assumption on which the calculation is based are also not very exact, this error can be neglected. In Table III are given the quantitative values obtained for 10 cells in the manner described above. The value of f_2 was obtained by direct measurement and of x_2 from the equation $x_2 = \frac{f_1 x_1}{x_2}$. As it appears from data obtained the diminution of the surface f in *Funaria* is smaller then in *Selaginella* and is as a rule $1/2$.

TABLE III
Funaria hygrometrica

$$\begin{aligned} i_1 &= 5000, & \frac{i_2}{i_1} &= 13 \\ i_2 &= 65000 \end{aligned}$$

No of cells	Epistrophe			Parastrophe			I_p/I_e			
	f_1 in μ^2	f_{II} layer	x_1 in μ	f_2 in μ^2	x_2 in μ	$f_{2/0}$	$\log E=3,5$	$\log E=4,0$	$\log E=5,0$	$\log E=5,0$
1	783	103	2.04	392	4.08	50.0	12.60	12.21	10.97	8.86
2	720	61	1.95	425	3.30	58.8	12.76	12.45	11.62	10.53
3	898	109	2.02	459	3.95	51.1	12.80	12.24	10.85	8.33
4	817	159	2.15	452	3.88	55.3	12.78	12.26	11.04	8.76
5	1000	162	2.09	587	3.56	58.8	12.48	12.15	11.28	8.94
6	695	101	2.06	331	4.33	47.6	12.90	12.13	10.50	7.84
7	851	170	2.16	500	3.68	58.7	12.63	12.32	11.38	9.33
8	412	54	2.04	263	3.19	63.9	12.95	12.62	11.64	9.85
9	439	97	2.20	317	3.05	72.3	12.60	12.51	11.95	10.60
10	574	85	2.07	344	3.46	60.0	12.91	12.30	11.23	9.37

TABLE IV
Lemna trisulca

$$\begin{aligned} i_1 &= 800, & \frac{i_2}{i_1} &= 15 \\ i_2 &= 12000 \end{aligned}$$

No of cells	Epistrophe			Parastrophe			I_p/I_e			
	f_1 in μ^2	f_{II} layer	x_1 in μ	f_2 in μ^2	x_2 in μ	$f_{2/0}$	$\log E=3,5$	$\log E=4,0$	$\log E=4,5$	$\log E=5,0$
1	473	117	2.37	338	3.32	71.5	149.9	145.7	135.8	120.5
2	676	128	2.26	392	3.90	58.0	147.4	141.7	129.0	103.4
3	446	173	2.63	216	5.43	48.5	145.7	127.9	116.2	85.4
4	729	190	2.39	351	4.97	48.2	145.8	138.8	118.2	87.3
5	783	212	2.42	351	5.40	44.9	148.1	136.0	114.7	81.7
6	784	204	2.39	446	4.20	56.9	146.1	142.5	125.2	100.5
7	594	181	2.48	364	4.05	52.3	148.3	140.7	128.5	105.2
8	540	72	2.15	311	3.73	57.5	146.5	142.6	128.9	104.1
9	553	138	2.47	364	3.77	65.8	148.2	144.6	133.7	112.6
10	551	108	2.29	297	4.25	53.7	147.2	141.7	124.5	97.4

Lemna trisulca. The shape, the arrangement and the displacement of chloroplasts are in this plant the same as in *Funaria* (Stahl 1880, Senn 1908, Zurzycka 1950), the same were also the methods used for measurement and calculation of f and x . The data are given in Table IV. The diminution of the surface area f relatively to the surface area in epistrophy is here as in *Funaria* $1/2$.

2. To investigate the dependence of the arrangement of chloroplasts on the intensity of light the apparatus described in a previous paper (Zurzycki and Zurzycka 1951) was used. The plant material were placed in a drop of water in a humidity chamber according to Gautheret's method. As a source of light either a low voltage 35W 12V electric lamp or a projection 300W 110V lamp were used. The intensity of light was measured with a photometer. The arrangement of chloroplasts was drawn in the same cells before and after the cell was subjected to each of the investigated intensities of light. The area of the surface of chloroplasts in epistrophy was taken to be 100% and to this value was related the area after illumination. The results are illustrated by fig. 3. The sensitivity of chloroplasts to light varies greatly in the

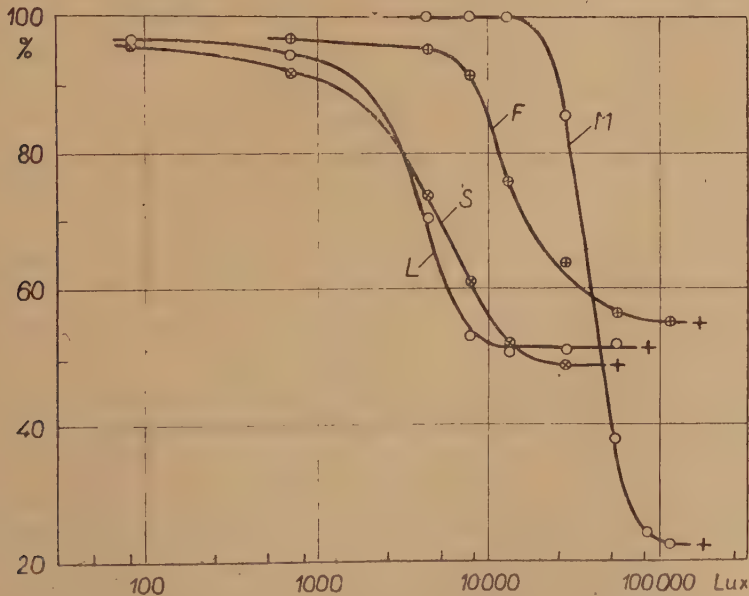


Fig. 3. The dependence of surface area f expressed in % (ordinates) on the intensity of light in lux (abscissae). The cross indicates the harmful action of light on chloroplasts.

different plants. The most sensitive are *Lemna* and *Selaginella*, considerably less sensitive is *Funaria* and the least sensitive is *Mougeotia*. In *Lemna* light intensity of 12 000 lux is sufficient to cause complete parastrophe while in *Mougeotia* this same intensity induces no movement of chloroplasts. In Table V are given the highest intensities of light in which the epistrophe still exists in the cell (i_1) and the lowest intensities which can induce parastrophe (i_2).

TABLE V

	i_1	i_2
Mougeotia	25 000	80 000
Selaginella	500	15 000
Funaria	5 000	65 000
Lemna	800	12 000

This method of estimating the sensitivity of chloroplasts to light can probably be used in ecological researches as one of the objective methods of photophilous and photophobic requirements of plants.

3. From (1) the data obtained about f and x in epistrophe and parastrophe and from (2) data denoting intensities of light proper to epistrophe and parastrophe the efficiency of the mechanism of light energy absorption was calculated i. e. the relation between the ratio of the energy absorbed in parastrophe to the energy absorbed in epistrophe for various extinctions. The results are tabulated in separate columns of Tables I—IV. In each table the ratio of the intensities of light causing parastrophe and epistrophe is also given. This ratio denotes how many times the absorption would increase if the arrangement of chloroplasts did not change.

As it should have been foreseen from the introductory considerations a notable change in the absorption of energy when the chloroplasts change their position occurs only in those waves which are much absorbed (marked extinction), while the absorption of waves which are little absorbed remains almost the same regardless of the arrangement of chloroplasts. In green cells therefore the phototactic movements can cause a greater or a lesser absorption mainly of blue and red light while the rays of green light regardless of the arrangement of chloroplasts are always absorbed almost proportionally to the intensity of light.

It is only in *Mougeotia* that the mechanism regulating the amount of energy absorbed is really efficient. Those rays of which the absorption is greatest in parastrophe absorbed less than in epistrophe even when the intensity of light is three times stronger. The absorption in parastrophe of the waves somewhat less absorbed does not increase or increases only slightly. The efficiency of this mechanism is conditioned both by the small increase in the intensity of light which induces parastrophe as compared to the intensity of light proper to epistrophe and by the considerable changes in f and x when the arrangement of chloroplasts changes. The values of $\frac{I_p}{I_e}$ for all cells are nearly the same which is due to the considerable uniformity of the investigated material.

In three other plants the amount of light absorbed increases inspite of the movement of chloroplasts caused by the increase of light intensity. This increase in absorption is for waves little absorbed nearly as great as the increase in light intensity and for waves much absorbed far smaller than the increase of intensity. E. g. in *Selaginella* the intensity of light to cause the change from epistrophe to parastrophe must increase thirty times, while the absorption (for extinction $\log E = 5,0$) increases only 12—15 times, in *Funaria* when the intensity of light increases 13 times the absorption increases 8—10 times; in *Lemna* those values are: the increase in light intensity 15 times, increase in absorption 8—12 times. The results obtained for different cells often vary considerably. The greater is the increase whith — in the cell of the surface area f and the thickness x — the more marked is the regulation of the energy absorbed.

Fig. 4. illustrates schematically the changes in the amount of light energy absorbed (waves of which $\log E = 4,5$) in relation to the changes in the arrangement of chloroplasts in average *Mougeotia* and *Funaria* cell. At first and till the chloroplasts begin to move the absorption increases almost proportionally to the increase of intensity of light. Within the limits of intensities of light in which the transposition of chloroplasts is not complete the increase in absorption is lesser or nearly ceases in dependence on the efficiency of the mechanism regulating the absorption. When complete parastrophe is reached the absorption again becomes proportional to the increase in the intensity of light. However as according to

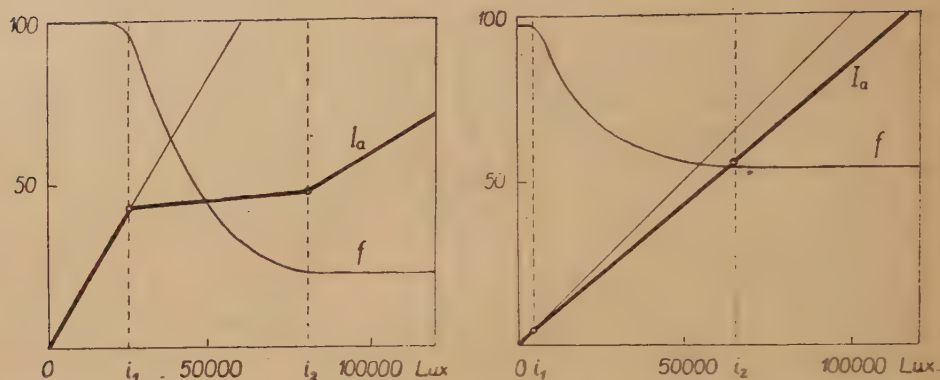


Fig. 4. Changes in absorption of light in relation to intensity of light, left — *Mougeotia*, and right — *Funaria*. Abscissae — intensity of light in lux, ordinates — changes in absorption and in surface area f .

the introductory reasoning

$$f_1 \cdot (1 - e^{-Ec x_1}) > f_2 \cdot (1 - e^{-Ec x_2})$$

the coefficient of proportionality is smaller in parastrophe than it is in epistrophe. If it is considered that maximum extinction values for live chloroplasts are probably approximately such that $\log E_{max} = 4.5$ and that average extinctions are far smaller then it follows that mechanism regulating the amount of energy absorbed by the transposition of chloroplasts is little effective. *Mougeotia* would be an exception as its mechanism is quite efficient.

Discussion

The first experimental data on the influence of the arrangement of chloroplasts on the absorption of light in a plant cell are given by Stahl (1909) who copied leaves on light sensitive paper and found that those leaves in which the chloroplasts are arranged vertically let through far more photochemically active light than leaves the chloroplasts of which are in the flat position. An attempt to deal with this problem quantitatively by thermoelectric measurements was made by Schanderl and Kaempfer (1933) in their investigation on the transparency of leaves to white and coloured light. Unfortunately they worked only leaves with numerous cell layers (*Tradescantia*, *Pelargonium*, *Adiantum* and *Coleus*) in which the changes in the arrangement of chloroplasts are less marked and probably have less influence on the absorption of

light than in leaves with only one or few cell layers. Also the wide range of transparency of filters used make the interpretation of their results difficult. However the results obtained by S c h a n d e r l and K a e m p f e r t show that, when chloroplasts move from epistrophe to parastrophe, the absorption of the leaf diminishes (in the leaves experimented with by 2—15%, and on the average by approxim. 8%) and this diminution in absorption is most marked in blue light and far less in yellow-green and red light. This in principle is in accordance with the present considerations.

It was possible to calculate the relation between energy absorbed in epistrophe and energy absorbed in parastrophe only when several assumptions were made. The correctness of these assumptions will now be discussed:

(a) The assumption that light passes through the cell without any loss of energy is not strictly true. If however we consider only the visible range of the spectrum and disregard its infrared and ultraviolet wave lengths then the absorption of this radiation by the parts of the cell with no pigment is extremely small in comparison to the light absorbed in chloroplasts. S e y b o l d (1932) estimates, on the basis of measurements made with the epidermis of *Allium*, that one layer of cells absorbs approximately 3% while one chloroplast of *Sagittaria* absorbs approximately 30% of the light falling on it. The absorption of light by the protoplasm and vacuole throughout the cell is therefore only 1/10 of what is absorbed in one chloroplast only. As in a cell there usually are either one or more layers of chloroplasts, or the chloroplasts is very thick (*Mougectia*, *Selaginella*), this ratio is probably less than 1/10. It follows that the absorption of light within the cell can be overlooked in the reasoning and the resulting error will be negligible.

(b) The assumption that chloroplasts are optically homogeneous — necessary for enabling the application Beer-Lambert's law — is the most optional of all the assumptions made. The data obtained so far on the structure of chloroplasts show that 1° the chloroplast is composed of albuminous stroma and of grana in which probably are located all the chloroplast pigments. (D o u t r e l i g n e 1934, H e i t z 1934, G r a n i c h and P o r t e r 1947). To determine the concentration of chlorophyll in chloroplasts it is assumed that the pigment is distributed evenly throughout the plastid, though actually the concentration in the grana is greater; the pigments are more concentrated, but the thickness of the layer they form is correspondingly thinner. This concentration of pigments has

no fundamental influence on the amount of light absorbed because as c increases x diminishes proportionally and so the expression e^{-Ecx} remains constant. 2^o The lamellar arrangement of albumin and lipoid strata and also the directive arrangement of lipoid particles (Frey - Wyssling and Steimann 1948) cause the chloroplasts to birefract light rays (for literature see Frey - Wyssling 1948). The birefrigeance however has no influence on the absorption of coloured and not polarized light and so the capability of chloroplasts to birefract light is no source of error in the present considerations. 3^o. According to Hubert's (1935) and Frey - Wyssling's (1937) schema the mutual arrangement of chlorophyll and carotene particles is strictly defined. The porphyrin part of the chlorophyll is stuck onto the albumin layer while the phytol chain reaches perpendicularly to the porphyrin ring into the hydrophobic layer. Such a mutual relation in the arrangement of pigments would have an important influence on the absorption of light. In the flat position (epistrophe) the absorption would mainly be caused by chlorophyll particles and less by carotenes while in the profile position (parastrophe) the opposite would be the case, and absorption would be due mainly to carotenes and only partly to chlorophyll. This schematic structure of chloroplasts is only hypothetic, though investigations on the influence of coloured light on phototactic chloroplast movements seem to corroborate it (Zurzycka 1950). The lack of any quantitative evidence on the possible difference in absorption of light by the inner structure of chloroplasts made it impossible to take this structure into account when the absorption of light was calculated. However it should be stressed that if such differences were existant they could cause fundamental changes both in the quantitative and qualitative relation of light absorbed in the flat and profile arrangements.

(c) To calculate the energy absorbed by chloroplasts the Beer - Lambert's law was applied to the light absorption of chloroplasts. The application of this law to chlorophyll solutions in different disolvents of various concentrations and also to chloroplast suspensions was often investigated (for literature see Hubert 1935, Sapożnikow 1951) and on the whole it has been found to be applicable to weak concentrations of chlorophyll. Wakkie 1934 (cited after Frey - Wyssling 1937) found divergences from this law for strong chlorophyll concentrations, which were caused by the maximum of absorption exceeding

6800 Å. However in chloroplasts in which the chlorophyll concentration remains constant and only the absorbing layer thickens this cannot happen. Seybold (1932) investigating the absorption of light in a different numbers of leaf layers of *Sagittaria montevidensis* found that the absorption of light of different colours was in agreement with Beer-Lambert's law. These results make admissible the assumption that as in several layers of leaves light is absorbed according to Beer-Lambert's law it will also be so absorbed by one layer of chloroplasts and the possible error will be very slight.

(d) Calculations of the thickness of the absorbing layer in parastrophe (*Selaginella*, *Funaria* and *Lemna*) were based on the assumption that the volume of chloroplasts does not change when they change their position. The few observations of the influence of light on the shape of chloroplasts (Senn 1908, Gicklhorn 1932) indicate that strong light causes sometimes what is called a contraction i. e. a change in shape of the chloroplast. As these observations are dealt with only descriptively it is impossible to ascertain whether this change of shape is followed by change in volume. Even if such were the case a change in volume would introduce no error in the calculations, because intensities which could cause contraction were estimated as harmful and measurement were done only with weaker intensities of light.

(e) Euler, Bergmann and Hellstrom (1934) calculated the amount of chlorophyll contained in leaves of *Elodea densa* of which the surface area was known and after calculating from this result the amount of chlorophyll in one medium size chloroplast came to the conclusion that the concentration of chlorophyll varies from 5—6,5% — on average 6% — of the fresh chloroplast mass. Godniew and Kaliszewski (1940) obtained very similar results and estimated the average concentration of chlorophyll in chloroplasts of the leaves of *Mnium medium* moss to be 5,85%. The results obtained from chemical analysis of isolated chloroplasts (Menke 1939, 1940, Comar 1942) are difficult to interpret as they are obtained from dry not fresh material.

From the above results the concentration of chlorophyll in chloroplasts was taken to be 6%.

(f) It is hard to estimate the degree of extinction in chlorophyll of living chloroplasts though some informative data can be obtained from investigations on the absorption of light in chloro-

phyll solutions. Data concerning a chlorophyll solution in ether obtained from two sources are given in Table VI. The logarithm of the coefficient of extinction in a 1 cm deep molar solution (molecular weight 900) was taken as unit of extinction.

TABLE VI

	Log of extinction	Wave lenght λ	Source
<i>E</i> maks.	5,0 (chl. <i>a</i>)	~ 430	Heierle 1935
	5,1 (chl. <i>b</i>)	~ 450	
	5,4 (chl. <i>a</i>)	428	Comar i Zscheile 1942
	5,5 (chl. <i>b</i>)	455	
<i>E</i> min.	3,5 (chl. <i>a</i>)	~ 480	Heierle 1935
	3,5 (chl. <i>b</i>)	~ 500	
	3,4 (chl. <i>a</i>)	470	Comar i Zscheile 1942
	3,4 (chl. <i>b</i>)	500	

Any conclusion on the absorption in chloroplasts can be drawn only from the work of Rabideau, French and Holt (1946) who investigated among others the absorption spectrum of a suspension of chloroplasts calculating at the same time the amount of chlorophyll in the suspension. Data based on the work of the above writers and calculated in the same manner as for Table VI are given in Table VII. Four coefficients of extinction the logarithms of which were 3,5 4,0 4,5 5,0 were taken into account when the absorption by chloroplasts was calculated. On the basis of the results obtained by Rabideau, French and Holt it can be accepted that the minimum extinction in chloroplasts is such that its logarithm is approximately 3,5 and the logarithm of the maximum extinction is between 4,0 and 4,5.

When comparing in the four plants the efficiency of the mechanism regulating — by means of chloroplasts movements — the absorption of energy it appears that this mechanism — with one exception i. e. *Mougeotia* — is not very effective. This is probably due to the fact that in *Selaginella*, *Funaria* and *Lemna*, chloroplasts move to the side walls of the cell they find themselves in the parts of the cell which are lighted less brightly (Senn 1908). It follows that the amount of light absorbed is influenced not only by

TABLE VII.

	Log of extinction	Wave lenght λ	Material
<i>E</i> Maks.	4,23	436	Spinacia
	4,25	691	
	4,33	~ 420	Spinacia
	4,22	~ 676	
	4,38	~ 420	Dolichos
	4,38	~ 680	
<i>E</i> min.	3,66	578	Spinacia
	3,48	~ 540	Spinacia
	2,73	~ 750	
	3,75	~ 540	Dolichos
	2,81	~ 750	

the change of the shape of the absorbing layer but also by the lesser intensity of light which reaches the chloroplasts when they are on the side walls of the cell. In *Mougeotia* the chloroplast moves about the center of the cell and the intensity of light which reaches it both in epistrophe and parastrophe is the same as the intensity which reaches the cell. It is therefore only the change in shape of the absorbing layer that can regulate the energy absorbed, and as it has been calculated such a system in the case of *Mougeotia* is quite sufficient.

If after complete parastrophe is obtained the intensity of light further increases then the light absorption will increase proportionally to the increase of its intensity. In spite of this the plant can usually stand even a considerable increase in the intensity of illumination. If the mutual arrangement of chlorophyll and carotene particles is in accordance with Hubert's (1935) and Frey-Wyssling (1937) hypothesis, then light absorbed in parastrophe is of a different nature than light absorbed in epistrophe and so it is possible that in spite of its intensity it is less harmful to the plant.

I wish to express my most sincere gratitude to Prof. Dr F. Górski for the most valuable help and kind criticism he offered me in the course of this work.

SUMMARY

1. The absorption of light by chloroplasts in different positions in the cell was discussed from the physical point of view.

2. Quantitative data characteristic for the arrangements of chloroplasts in four plant i. e. *Mougeotia*, *Selaginella*, *Funaria* and *Lemna*, were given, and it was found that the surface of chloroplasts illuminated directly diminishes by as much as approximately 75% of the area in *Mougeotia* and by approximately 50% in the case of the remaining plants. In the four plants the changes in the arrangement of chloroplasts dependent on light intensity were examined and it was found that chloroplasts of *Lemna* and *Selaginella* are the most and of *Mougeotia* the least sensitive to light.

3. From the above data the relative changes in absorption of light energy for different coefficients of extinction were calculated.

4. The influence of phototactic movements of chloroplasts on the mechanism regulating the absorption of light energy in plant cells was discussed.

Laboratory of Plant Physiology
of Jagellonian University
Kraków

EXPLANATION OF THE TABLE I:

Table. I. Arrangement of chloroplasts in epistrophe and parastrophe. Objective 40 x, eyepiece 7 x, blue filter.

Top left — *Mougeotia* $\times$ 360.

Bottom left — *Selaginella* $\times$ 510

Top right — *Funaria* $\times$ 430.

Bottom right — *Lemna* $\times$ 510.

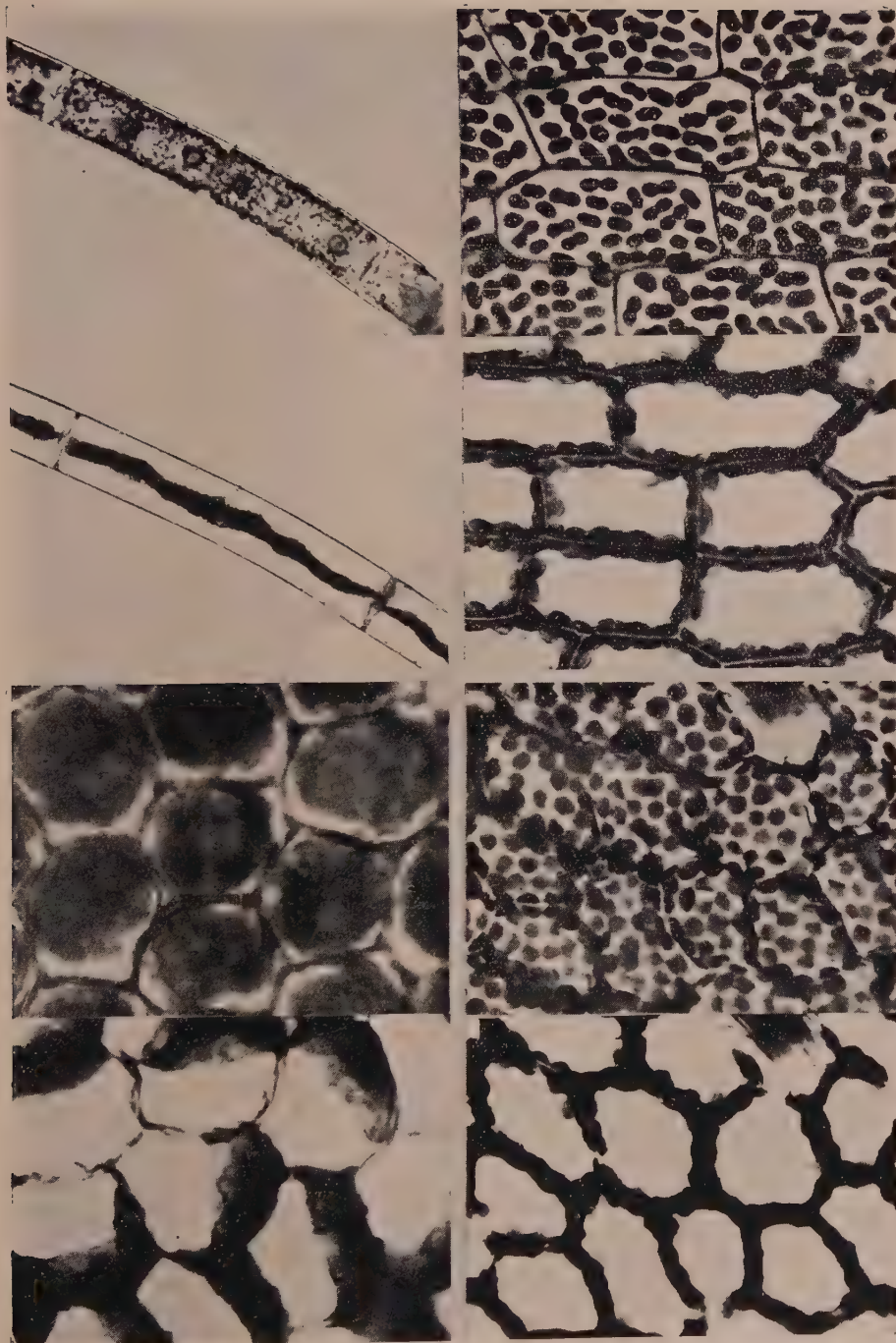


Table I.

LITERATURE CITED

1. C o m a r C. L. 1942. Chloroplast substance of spinach leaves. Bot. Gaz. 104. 122-127.
2. C o m a r C. L. and F. P. Z s c h e i l e 1942. Analysis of plant extracts for chlorophylls a and b by a photoelectric spectrometric method. Plant Physiol. 17. 198-209.
3. D o u t r e l i g n e J. 1935. Note sur la structure des chloroplasts. Proc. Acad. Wetensch. Amsterdam 38. 886.
4. E u l e r H., B e r g m a n n B. und H e l l s t r o m H. 1934. Über das Verhältnis von Chloroplastenzahl und Chlorophyllkonzentration bei *Elodea densa*. Ber. d. D. Bot. Ges. 52. 458-462.
5. F a m i n t z i n A. 1867. Die Wirkung des Lichtes und der Dunkelheit auf die Verteilung der Chlorophyllkörner in den Blättern von *Mnium* sp. Jahrb. f. wiss. Bot 6. 45-49.
6. F r a n k 1872. Über die Veränderung der Lage der Chlorophyllkörner und des Protoplasmas in der Zelle und deren innere und äussere Ursachen. Jahrb. f. wiss. Bot 8. 216-303.
7. F r e y - W y s s l i n g A. 1937. Aufbau der Chlorophyllkörner. Protoplasma 29. 279-299.
8. F r e y - W y s s l i n g A. 1949. Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. New York Elsevier.
9. F r e y - W y s s l i n g A. und E. S t e i n m a n n 1948. Die Schichtendoppelbrechung grösser Chloroplasten. Biochim. Biophys. Acta 2. 254-259.
10. G a u t h e r e t R. J., 1942. Manuel technique de culture des tissus végétaux. Paris Masson et Cie.
11. G i c k l h o r n J. 1932. Über aktive Chloroplastkontraktion bei *Spirogyra* und den Aggregatzustand der Spiralbänder. Protoplasma 17. 571-592.
12. G o d n i e w T. N., S. W. K a l i s z e w i c z 1940. O koncentracji chlorofilla w listjach *Mnium medium*. D. A. N. 838-838.
13. G r a n i c k S. and K. R. P o r t e r 1947. The structure of the spinach chloroplast as interpreted with the electron microscope. Am. J. Bot. 34. 545-550.
14. H a n s o n E. A. 1939. Some properties of the chlorophyll in relation to its biological function. Rec. trav. bot. neerl. 36. 180-267.
15. H e i e r l e E. 1935. Blattfarbstoffuntersuchungen an einer grün- und gelbblättrigen Tabak-Varietät. Diss. E. T. H. Zurich.
16. H e i t z E., 1936. Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten. Planta 26. 134.
17. H u b e r t B. 1935. The physical state of chlorophyll in the living plastid. Rec. trav. bot. neerl. 32. 323-390.
18. M e n k e W. 1938. Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen I. Isolierung von Chloroplasten aus Spinatblättern Zeitschr. physiol. Chem. 257. 43-48.

19. M e n k e W. 1940. Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen. II. Der Chlorophyllgehalt der Chloroplasten aus Spinnatblättern. Zeitschr. physiol. Chemie. 263. 100-103.
20. P r i l l i e u x E. 1874. Mouvements de la chlorophylle dans les Selliginelles. Comp. rend. Acad. Sc, 78. 506-528.
21. R a b i d e a u G. S., C. S. F r e n c h and A. S. H o l t 1946. The absorption and reflection spectra of leaves, chloroplast suspensions and chloroplast fragments as measured in an Ulbrich sphere. Am. J. Bot. 33. 769-777.
22. S a p o ż n i k o w D. I. 1951. Razdielenie i koliczestwennoje opredelenie fitochromow plastid. Eksp. Bot. 8. 140-163.
23. S c h a n d e r l H. und W. K a e m p f e r t 1933. Über die Strahlungsdurchlässigkeit von Blättern und Blattgeweben. Planta 18. 700-750.
24. S e n n G. 1908. Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen Chromatophoren. Leipzig. Engelmann.
25. S e y b o l d A. 1932. Über die optischen Eigenschaften der Laubblätter II. Planta 18. 478-508.
26. S t a h l E. 1880. Über den Einfluss von Richtung und Stärke der Beleuchtung auf einige Bewegungserscheinungen im Pflanzenreiche. Bot. Ztg. 38. 297.
27. S t a h l E. 1909. Zur biologie des Chlorophylls. Jena.
28. V o e r k e l H. 1934. Untersuchungen über die Phototaxis der Chloroplasten. Planta 21. 156-205.
29. W a k k i e J. G. 1935. Notes on the possible structure of the chlorophyll granules in the plastid. Proc. Acad. Wetensch. Amsterdam 38. 1082-1086.
30. Z u r z y c k a A. 1951. The influence of the wave length of light on the movements of chloroplasts in *Lemna trisulca* L. Acta Soc. Bot. Pol. 22. 17-37.
31. Z u r z y c k i J. and A. Z u r z y c k a 1951. Investigation on phototactic movements of chloroplast in *Selaginella Martensi* Spring. Bull. Acad. Sc. Cracovie. B I. 235-251.

Nasiona *Digitalis* L. i ich cechy rozpoznawcze

The specific characters of Digitalis L. seeds.

KRYSTYNA OLECHOWSKA-BARAŃSKA

(wpłynęło 13. VI. 1952 r.)

W Polsce występują trzy gatunki naparstnicy, z których tylko jedna jest rośliną rodzimą, dziko rosnącą. Jest nią *Digitalis ambigua*, która stanowi piękną ozdobę śródleśnych łąk, zwłaszcza lasów dębowych. *D. lutea* jest rośliną dziczą na Pomorzu. *D. purpurea* jest rośliną uprawianą ze względu na właściwości lecznicze oraz sianą w ogródkach dla pięknych purpurowych kwiatów. Pochodzi z zachodniej Europy, a u nas prawdopodobnie dziko nie rośnie. Została ona we wielu miejscach pd.-zach. Polski podsiana, jak np. w Beskidzie Zachodnim i Karkonoszach.

D. lanata, pochodząca z Węgier i pd. wsch. Europy, gdzie rośnie w stanie dzikim, jest coraz częściej uprawiana w celach doświadczalnych. Ze względu na zawartość ciał czynnych w liściach zdaje się mieć przed sobą leczniczą przyszłość.

Naparstnice posiadają 2-komorowe słupki zawierające liczne anatropowe zalążki. Owocem jest torebka pękająca 2-ma klapami, z której wysypują się liczne drobne (od 0,5 do 1,5 mm) brązowe nasiona. Barwę ceglasto-brązową posiadają nasiona *D. ambigua*, *lutea* i *lanata* przy czym najżywszą barwę posiada *D. ambigua*. Natomiast barwa nasion *D. purpurea* jest popielato-brązowa.

Z załączonych rycin: 1—8 widać, że różnią się one pomiędzy sobą wielkością tak, że można je ustawić w szereg. Nasiona najmniejsze posiada *D. purpurea* zaś największe *D. lanata*. Miejsca pośrednie zajmują *D. ambigua* o nasionach mniejszych i *D. lutea* o nasionach większych. Porównując je ze sobą widzimy, że *D. purpurea* ma nasiona do $3 \times$ mniejsze od nasion *D. lanata*, do $2 \times$ mniejsze od *D. lutea* i o $1/3$ mniejsze od *D. ambigua*. *D. ambigua*

ma nasiona o $\frac{1}{3}$ mniejsze od *D. lutea* a do $2\times$ mniejsze od *D. lanata*. Wreszcie *D. lutea* ma nasiona o $\frac{1}{3}$ mniejsze od nasion *D. lanata*. W szeregu tym każdy gatunek następny ma więc nasiona o $\frac{1}{3}$ większe od gatunku poprzedniego.



Rys. 1. *Digitalis purpurea* L.
Pow. $78\times$



Ryc. 2. *Digitalis purpurea* L. (Nasionie od strony szwu). Pow. $78\times$

Już B a c h m a n n w roku 1881 podał budowę łupiny nasiennej rodzaju *Digitalis* (1), jednak na podstawie jego opisu nie można sobie przedstawić należytego anatomicznego obrazu nasion omawia-



Ryc. 3. *Digitalis ambigua* L.
Pow. $78\times$



Ryc. 4. *Digitalis ambigua* L. (Nasionie od strony szwu). Pow. $78\times$

nych przez niego gatunków. Budowa łupin nasiennych, jak autor wspomina, jest rzeczywiście bardzo podobna zarówno z zewnątrz jak i anatomicznie. Komórki epidermy zewnętrznej łupiny nasiennej są ogólnym kształtem do siebie podobne, a jedynie wzdłuż szwu

(ryc. 2, 4, 6, 8) są mniejsze i wydłużone w kierunku długiej osi nasienia. Najmniejsze komórki posiada *D. ambigua* a największe *D. lanata*, pozostałe zajmują miejsce pośrednie. Wszystkie one w widoku z góry posiadają ściany boczne równe, bez falistych wgłębień, co zasadniczo różni je od nasion z rodziny *Solanaceae* (4). Przekroje poprzeczne (ryc. 13 a—d) wykazują zarodek otoczony bielmem.



Ryc. 5. *Digitalis lutea* L.
Pow. 78 ×

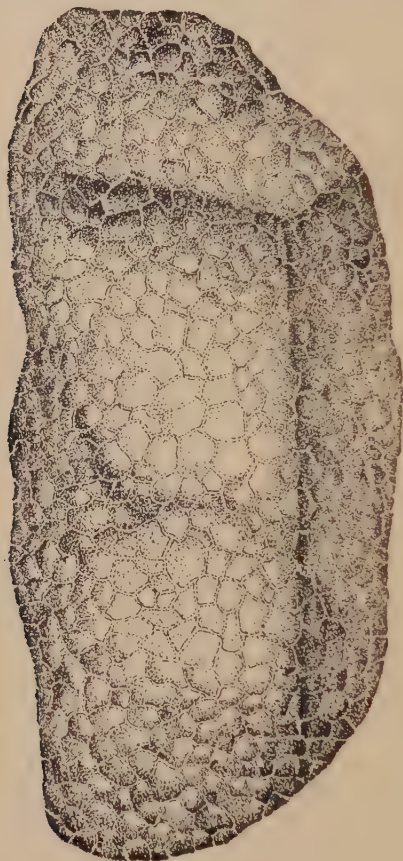


Ryc. 6. *Digitalis lutea* L. (Nasienie
od strony szwu). Pow. 78 ×

Blizsze badanie budowy anatomicznej wykazuje jednak różnice, które łącznie z wielkością nasion pozwalają na oddzielenie i wyróżnienie tych czterech gatunków od siebie. Może to mieć duże znaczenie przy ocenie czystości nasion i rozpoznaniu zanieczyszczeń nasion *D. purpurea* czy *lanata* używanych do wysiewów w celach produkcji surowca leczniczego (*Folia Digitalis*).

DIGITALIS PURPUREA L. — Naparstnica purpurowa posiada nasiona bardzo drobne. Długość ich dochodzi do 0,5 mm a szerokość do 0,2 mm. Barwa nasion jest popielato-brązowa. Posiadają one kształt nieco wydłużony, niewyraźnie czworograniasty, na obu końcach nieco przytępiony (ryc. 1,2). Kształty nasion są jednak dość zmienne. Mają one podłużne wgłębienie, którym przebiega szew (ryc. 2). Barwa szwu jest jasno brunatna i przechodzi w żółtą. Po-

wierzchnia nasienia posiada wyraźne dołkowane wgłębienia. Rzeźba powierzchni łupiny nasiennej u *D. purpurea* jest pośród omawianych czterech gatunków *Digitalis* najregularniej wykształcona. Ponieważ jedna z powierzchni nasienia jest wgłębiona — przekrój poprzeczny ma zarys nerkowaty lub sercowaty (ryc. 13 a).



Ryc. 7. *Digitalis lanata* E h r h.
Pow. 78 ×

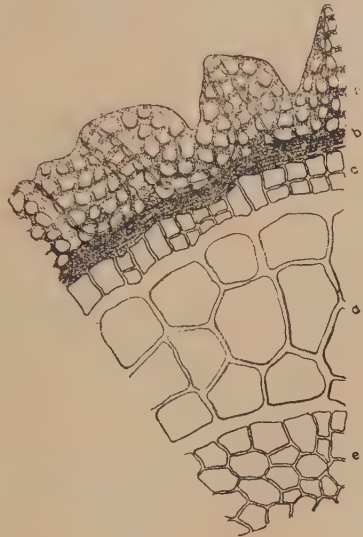


Ryc. 8. *Digitalis lanata* E h r h.
Nasienie od strony szwu. Pow. 78 ×

Na przekroju poprzecznym (ryc. 9) widać łupinę nasienną (a—c), bielmo (d), zarodek (e). Komórki epidermy łupiny nasiennej (a) są stosunkowo duże, posiadają charakterystyczne zgrubienia ścian wewnętrznych i bocznych. Zgrubienia te tworzą siatkę, której oka — jamki kolistego kształtu, są drobne i regularne. Ściana zewnętrzna jest cienka i wgłębiona do wnętrza komórki, często słabo widoczna,

gdyż przykleja się do bocznych ścian. Komórki skórki pokrywającej szew są wydłużone równolegle do kierunku przebiegu szwu, wąskie czworokątne. Ich wewnętrzne i boczne ściany są również silnie siatkowato-zgrubiałe. Według B a c h m a n n a (1) pod epidermą znajduje się tkanka pośrednia złożona z trzech — czterech warstw stycznie wydłużonych komórek. Warstwa ta jednak na dojrzałych nasionach jest zgnieciona i słabo widoczna. Bezpośrednio pod tą zgniecioną warstwą pośrednią leży warstwa komórek parenchymatycznych (c). Jest to epiderma wewnętrzna o komórkach prostokątnych promieniście wydłużonych. Są one cienkościennie, miejscami podzielone ścianą styczną na dwie pochodne komórki zupełnie pozbawione treści, podobnie jak komórki epidermy zewnętrznej.

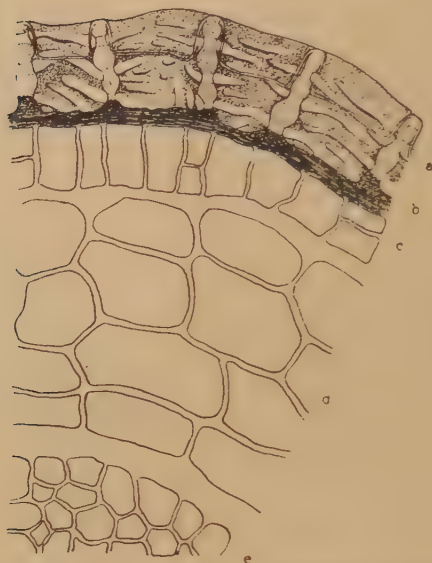
Bielmo (d) zawiera ziarna aleuronu i skrobię. Zarodek tkwi w bielmie — na przekroju widoczne są dwa liścienie (9 e i ryc. 13 a).



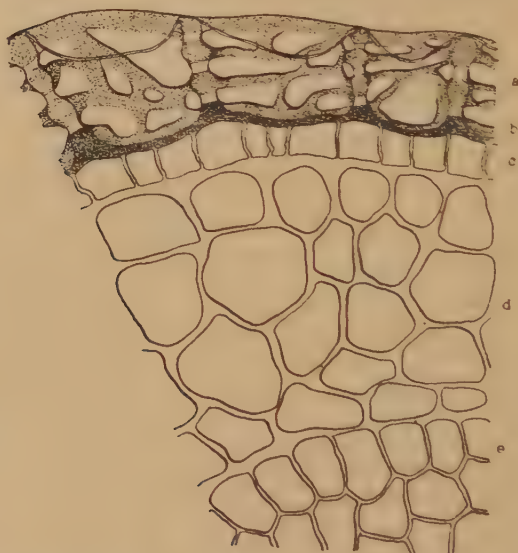
Ryc. 9. Przekrój poprzeczny nasienia *Digitalis purpurea* L.
Pow. 270 X

DIGITALIS AMBIGUA L. — Naparstnica zwyczajna ma nasiona małe. Długość ich dochodzi do 0,7 mm a szerokość do 0,3 mm. Są przeważnie wydłużone, posiadają krawędzie, na jednym końcu są bardziej zaostrome niż na drugim (ryc. 3, 4). W części ostrzejszej nasienia znajduje się okienko (micropyle). Trafiają się nasiona, które mają kształt elipsoidalny (na 20 oglądanych nasion widziałam 4 o takim kształcie). Nasienie ma ceglasto-brunatną barwę i posiada zagłębienie podłużne, w którym biegnie szew. Łupina nasienia posiada dołkowania podobne do dołkowań u *D. purpurea*.

Na przekroju poprzecznym przez nasienie widoczne są komórki epidermy z charakterystycznymi zgrubieniami błon (ryc. 11). Zgrubienia te tworzą nieco inny obraz niż u *D. purpurea*. Mianowicie układają się one w siatkę o dużych okach nieregularnego kształtu, mniej więcej wydłużonych stycznie do obwodu nasienia, a szerokość poszczególnych zgrubień jest większa (a). Na wewnętrznych ścianach komórek zgrubienia są niewidoczne. Ścianki zew-



Ryc. 10. Przekrój poprzeczny nasienia *Digitalis lutea* L. Pow. 270 $\times$

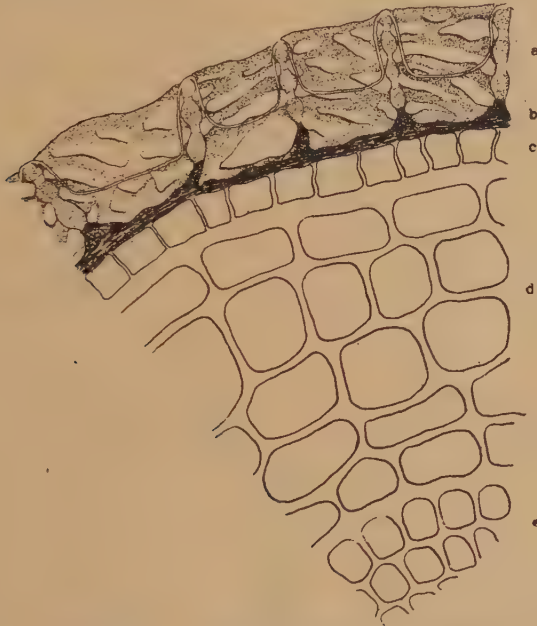


Ryc. 11. Przekrój poprzeczny nasienia *Digitalis ambigua* L. Pow. 270 $\times$

nętrne komórek są cienkie i wgłębione do wnętrza komórek. Często brak ich na przekroju. Pod epidermą znajduje się pośrednia warstwa komórek prawie niewidocznych (b). Są one silnie spłaszczone.

Ostatnia warstwa łupiny nasiennej tj. epiderma wewnętrzna zbudowana jest z komórek prostokątnych wydłużonych stycznie do obwodu nasienia lub komórek kwadratowych. Warstwa ta zaznacza się wyraźnie, a ścianki boczne są czasem lekko pofałdowane. Wnętrze nasienia zajmuje bielmo (d) i tkwiący w nim zarodek (e), którego komórki są cienkościenne i większe niż komórki zarodka u *D. purpurea*.

DIGITALIS LUTEA L. — Naparstnica żółta ma nasiona większe niż u obu poprzednich gatunków a długość ich waha się w granicach od 0,8 mm do 1,0 mm — szerokość 0,3 do 0,4 mm. Są one



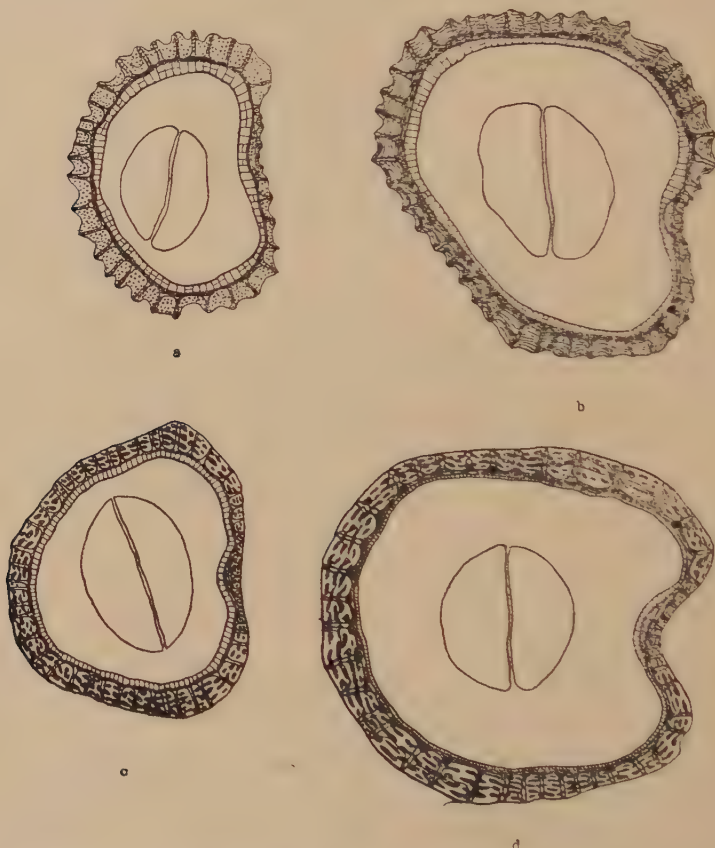
Ryc. 12. Przekrój poprzeczny nasienia *Digitalis lanata* E h r h. Pow. 270 ×

przeważnie kanciaste różnorodnego kształtu, najczęściej wydłużone, rzadziej elipsoidalne, spłaszczone o brzegach lekko zaokrąglonych (ryc. 5, 6). Na jednym końcu są nieco rozszerzone, na drugim węższe. W części węższej znajduje się okienko. Barwa nasion ceglasto-brunatna. W podłużnym wgłębieniu leży szew. Powierzchnia łupiny nasiennej jest dołkowana.

Na przekroju poprzecznym nasienia (ryc. 10) widać komórki epidermy (a), których błony zewnętrzne są cienkie i wgłębione do wnętrza komórek. Często na przekroju są zniszczone. Błony boczne posiadają siatkowate zgrubienia. Mają one obraz siatki o okach wy-

dłużonych przeważnie stycznie, spłaszczonych i wąskich. Pod epidermą leży ciemna warstwa pośrednia komórek spłaszczonych o konturach zupełnie niewyraźnych (b).

Pod tą warstwą biegnie warstwa epidermy wewnętrznej zbudowanej z komórek dużych o kształtach prostokątnych ułożonych promieniście, lub kwadratowych (c). Są one często podzielone błonami stycznymi. Spośród omawianych gatunków *D. lutea* posiada komórki tej warstwy najwyższe i największe. Komórki bielma (d) zawierają ziarna skrobi i ziarna aleuronu.



Ryc. 13. Przekroje poprzeczne nasion: a — *Digitalis purpurea* L., b — *D. lutea* L., c — *D. ambigua* L., d — *D. lanata* Ehrh. Pow. 62 ×

DIGITALIS LANATA Ehrh. — Naparstnica wełnista ma nasiona największe (ryc. 7, 8) spośród omawianych gatunków. Długość ich dochodzi do 1,5 mm a szerokość do 0,6 mm. Posiadają bardzo zmienny kształt. Są kanciaste o krawędziach bardziej lub mniej

ostrych, owalne, nieregularne. Barwa nasion jest ceglasto-brunatna. We wgłębieniu, które biegnie wzdłuż nasienia, znajduje się szew. Powierzchnia nasion jest grubo dołkowana.

Na przekroju poprzecznym przez nasienie *D. lanata* (ryc. 12) widać komórki epidermy (a), których ściany wewnętrzne i boczne posiadają zgrubienia. Zgrubienia te tworzą siatkę o dużych niejednakowych okach. Forma zgrubień jest podobna do zgrubień *D. ambigua*. Zewnętrzna ściana komórek jest cienka i wgłębiona do wnętrza. Często brak jej na przekrojach.

Pod skórą u nasion dojrzałych ciemna warstwa pośrednich komórek parenchymatycznych (b) jest niewidoczna. Warstwa epidermy wewnętrznej jest zbudowana z komórek prawie kwadratowych (c). Komórki bielma są duże i grubościennie (d). Komórki zarodka mniejsze (e).

Klucz do oznaczania

o mówionych czterech gatunków *Digitalis*.

1. Ściany komórek epidermy zewnętrznej pokryte siecią drobnych kolistych jamek. Komórki epidermy wewnętrznej drobne, często w dwu warstwach. Nasiona do 0,5 mm długie
D. purpurea L.
- 1*. Ściany komórek epidermy zewnętrznej o jamkach wydłużonych nieregularnych 2
2. Jamki komórek epidermy zewnętrznej wąskie, wydłużone przeważnie stycznie do obwodu nasienia. Komórki epidermy wewnętrznej wydłużone promieniście, czasem podzielone na dwie komórki mniejsze. Nasiona do 1 mm długie
D. lutea L.
- 2*. Jamki komórek epidermy zewnętrznej nieregularnie ułożone . 3
3. Komórki epidermy wewnętrznej kwadratowe lub prostokątne, wydłużone stycznie do obwodu nasienia. Nasiona do 0,7 mm długie
D. ambigua L.
- 3*. Komórki epidermy wewnętrznej prawie kwadratowe. Nasiona do 1,5 mm długie
D. lanata Ehrh.

Do niniejszej pracy posłużył mi materiał nasion Ogrodu Roślin Lecznich Akademii Medycznej we Wrocławiu. Przekroje robiłam ze suchych nasion jak również z nasion dojrzewających konserwowanych w alkoholu. W czasie pracy korzystałam z cennych uwag Prof. Dra Józefa Mądalskiego za co składam mu podziękowanie.

Z Zakładu Botaniki Farmaceutycznej
 Akademii Medycznej
 we Wrocławiu

Streszczenie

Autorka, po przeanalizowaniu wielkości nasion i budowy anatomicznej łupiny nasiennej czterech gatunków *Digitalis* L. spotykanych w Polsce w stanie dzikim i w uprawie oraz zilustrowaniu tych stosunków, ułożyła klucz do ich oznaczania.

SUMMARY

Having investigated the size of the seeds and the anatomical structure of the seed-coat of the four *Digitalis* L. species found in Poland both in the wild and cultivated state the author worked out the key to their identification.

LITERATURA

1. B a c h m a n n E. T. 1881. Darstellung der Entwicklungsgeschichte und des Baues der Samenschalen der Scrophularineen — Nova Acta d. Kol. Leop.-Carol. Deutsch. Akad. d. Naturforscher. Bd. XLIII Nr 1 str. 1—179 tab. I—IV — Halle.
2. E n g l e r A. 1897. Die natürlichen Pflanzenfamilien... IV Teil 3 Abteilung b., str. 47, 88 — Leipzig.
3. H e g i G. Illustrierte Flora von Mittel-Europa... Bd. VI. 1 Hälfte. str. 66—70 München.
4. N e t o l i t z k y F. 1926. Anatomie der Angiospermen-Samen Bd. X. str. 283 i 284, Berlin — in. K. Linsbauer — Handbuch der Pflanzenanatomie.
5. S z a f e r W., K u l c z y ń s k i S., P a w ł o w s k i B., 1924. Rośliny Polskie. str. 473—474, 489—492, 508 — Lwów-Warszawa.

Absolute viscosity and living mitotic spindle structure

by

A. BAJER

Laboratory of Plant Physiology, Jagellonian University, Kraków

(entered: 3. XII. 1952)

I n t r o d u c t i o n

The importance of viscosity problems in cell division is indicated by: 1. studies made by different methods which prove the change of viscosity coefficient of cytoplasm in the different stages of mitosis and meiosis (C a r l s o n 1946, H e i l b r u n n and W i l s o n 1948 and others), 2. experimental decreasing of viscosity in dividing cells caused by K ion action, which accelerates the movement of anaphase chromosomes, or if the viscosity is further decreased, the movement is retarded and even stops altogether (M o l è - B a j e r 1951, 1952). Values of viscosity coefficient of the spindle are so far unknown, though most of the experiments seem to show that the spindle is a rigid body. It is also probable that in some objects the spindle is rigid, while in others it is more or less liquefied, which was demonstrated by C h a m b e r s (1925) in his micrurgical studies.

In the course of the present work the writer was interested in changes of absolute viscosity of the spindle and pushing body („Stemmkörper“ of B ě l á ř 1929 a) in metaphase and anaphase and the structure of the spindle.

M a t e r i a l a n d m e t h o d s

As a material endosperm of *Haemanthus Katherinae* Bak. was used. As a medium 0,5 percentage agar in 6—7 percentage sach-

rose or 3 percentage glucose solution was used (details on the methods of handling material are given in my previous work B a j e r 1952).

For observations Z e i s s phase contrast equipment was used (oil immersion lens 90×, eyepieces: 10× and 20×). Heat rays were checked by means of a 20 percentage M o h r salt water solution.

Observations were carried out at 18°—22°C.

P e k a r e k ' s method (1931) for measurements of viscosity coefficient was applied. Viscosity coefficient[†] η in cm, g, sec, system (poise) was calculated from the formula:

$$1) \quad \eta = 0,145 \cdot 10^{-16} \cdot \frac{T t}{a l^2 n}$$

where:

T = absolute temperature,

t = time in sec,

a = diameter of particle in cm,

l = distance between lines of eyepiece micrometer in cm (in my aparature $1,08 \cdot 10^{-4}$),

n = number of two sides first passage(doppelsetige Erst-passage); in formula (3) statistical weight.

Explanation of this formula is given in P e k a r e k (1931) or in S t r u g g e r (1949). In using this method η ought to be the mean of numerous measurements. Particular measurements differ often by more than 100 per cent even in the case of measurements of water viscosity coefficient. To calculate the mean value it is necessary to make numerous measurements of η in the same medium. If a cell in mitosis is considered, it is impossible to make even one measurement in unchanged conditions, as the cell division developes and viscosity coefficient may change. For this reason, measurements must be arranged in time; as the 0 point in time the beginning of anaphase was chosen, and the time before and after the anaphase beginning was considered as minus and plus respectively. For calculations of mean values measurements, made in different cells, must be considered.

The mean value of viscosity coefficient $\bar{\eta}$ was calculated from the formula:

$$2) \quad \bar{\eta} = \frac{\sum \eta n}{n}$$

The middle of each measurement was taken to be the time of measurement (i. e. if a measurement lasted 6 mins. and ended at 0 time, the time of measurement was considered to be — 3 mins.).

The influence of individual measurements on the mean value depends on their statistical weight (i. e. on the mean value η a measurement where $n = 20$ has much more influence than when $n = 5$). Because of this the mean square error k was calculated, with consideration of the statistical weight, from formula:

$$3) \quad k = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m v_i^2 n_i}{m(m-1) \sum_{i=1}^m n_i}}$$

where:

m = number of measurements

v_i = deviations from value $\bar{\eta}$

n_i = n in formula 1

Notes on method and its application

In applying P e k a r e k ' s method to the mitotic spindle, following objections may be raised.

The temperature ought to be constant. In the present work the temperature was $18^{\circ} \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, but most (at least 70 per cent) measurements were carried in $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. So the temperature has no great influence on the obtained data.

According to S t r u g g e r (1949) there is however an other more serious objection, i. e. the medium of which the viscosity coefficient is measured ought to be structurless and the particles during oscillation ought not to collide with either element of this structure (cell walls, tonoplast of vacuole, and so on), nor with each other. Though the cytoplasm has a structure, P e k a r e k ' s method can be applied to it but with some restrictions. At any rate, such a conclusion can be drawn from F r e y - W y s s l i n g ' s book (1948 p. 110): „In P e k a r e k ' s viscosity measurements (1930, 1932) which is based on amplitude of oscillation of particles in Brownian movement, the inhomogenity of cytoplasm finds expression in a much lesser extent, because the oscillatory motion does not cover a large distance through the cytoplasm but can be studied at a fixed point“. It may be also raised that some experiments on the physical properties of cytoplasm (C r i c k and H u g h e s

1950) do not support Frey - Wyssling's theory of cytoplasm structure.

Mitotic spindle differs from cytoplasm by a regular arrangement of particles, the best proof of which is the birefringence of the spindle (Schmidt 1939, Swann 1951 a, b). This regularity of the structure makes the oscillation of the particle more difficult in one direction than in the other, and the viscosity coefficient is greater perpendicularly to the spindle axis than parallelly to it. Because of the structure the true value of the viscosity coefficient is smaller than what is obtained from calculations. To get the real values, it would be necessary to multiply the obtained values by a proportionality coefficient. The calculation of such a coefficient is at present impossible, though it will be possible, when the spindle structure will be known exactly. In my opinion, objection in application Pekarek's method to the mitotic spindle are not very serious and in the case of the pushing body are of little importance, but only if η is measured parallelly to the spindle axis.

The mutual collisions of particles may be dealt with by choosing suitable particles.

These objections will either not or only slightly influence the shape of the curves obtained on Textfig. 2.

OBSERVATIONS

Course of mitosis

The course of mitosis was observed from late metakinesis to resting nuclei (some observations are given by Bajer 1952).

Mitotic spindle is, in most cases, well visible on the background of chondriosomes containing cytoplasm. In numerous cases mitosis is observed in almost bare spindles surrounded by a small quantity of cytoplasm (Plate I, Fig. 3). As mitosis in these spindles is quite normal — such observations do not support Wada's (1950) supposition of spindle poles fixation by „polar plasmic strands“. Also in *Tradescantia* cells mitosis is normal without such plasma connections (cf. Plate I, Fig. 13 Bajer 1950). In *Haemanthus* a normal spindle is quite structurless. Spindle poles are however much better visible in anaphase than in metaphase, in which they often cannot be seen at all. No such membrane as envelopes the mitotic spindle in some plants (*Tradescantia*, Wada 1950, *Hymenophyllum*, Bajer and Molè-Bajer 1952) is detectible in *Haemanthus* endosperm. The arms of long chromosomes

reach very often into the cytoplasm, which seems to prove the non existence of the membrane (this is also indicated by observations on Brownian movement). The nuclear membrane in prophase can be seen very plainly (Plate I, Fig. 1a), and it disappears in the later stages.

From early or middle stages of anaphase the action of pushing body („Stemmkörper of Bělař 1929a) usually is pronounced. Changes in character of pushing body action are well known in animals (Ris 1943). In *Haemanthus* this action is most similar to that described by Hughes and Swann (1948) in chick tissue culture, i. e. both shortening of half spindles and pushing body action are simultaneous, and not separated in time as it often happens. In *Haemanthus* the whole cell elongates (in some cases by half of its original length in metaphase — cf. Bajer 1952 Plate III), it also may constrict (Plate I, Fig. 2), or the pushing body may bend. If a cell has a membrane resting to its elongation (in endosperm there are no cellulose walls) then anaphase chromosome groups flatten, but arms are not bent, which is best noticeable in the case of long chromosomes (of approximately $24\ \mu$). Action of pushing body was noted in all cells, though in different degree. Acting pushing body is very liquified and in no one case the bending of long chromosomes — which Heitz (1943) found in cells of root tips and explained as the consequence of pushing body action — was observed. During division the cell changes its shape. A similar change of shape, though less pronounced, was found in staminal hairs of *Tradescantia* (Bajer 1950).

The action of pushing body in *Haemanthus* caeses in telophase, and the cell returns to its original length in metaphase. Usually the cell wall begins to form from the edges and not from the center of the phragmoplast. First stages of middle lamella formation are exceptionally well visible: small spindles (not droplets) parallel to the long axis of phragmoplast originate in it, then they melt together, flatten, and a new middle lamella is formed.

Spindle structure

Observations on spindle structure were made in cells placed on clean glass squares, cells in demixing (Bělař's (1930) „Entmischung“) and cells after plasmolysis. In the first case cytoplasm begins to creep (cf. Bajer 1952) and usually as result of this, spindles or nuclei surrounded by a small quantity of coagulated cytoplasm can be observed (Plate II). It is necessary to stress that

these cells during preparation are quite normal, and change just after they are placed on the glass, and that the mechanism of observed changes is not quite clear. In such dead cells the nuclear membrane is well visible in prophase (Plate II, Fig. 4) and is not noticeable in metaphase. Metaphase spindles usually flatten a little, and chromosomes swell and coagulate. In metaphase half spindles are composed of strongly coagulated fibers, between which there usually is little or no structurless substance. In consequence of chromosome coagulation, it is difficult to establish whether fibers end in kinetochores. In metaphase the fibers are parallel to the long axis of the spindle or slightly convergent to it (probably it depends on the stage of metaphase e. g. early or late metaphase) and the spindle poles seem to have a different structure or be fiberless. In anaphase fibers are convergent, and seem to join in one point (spindle pole). In pushing body in late anaphase no fibers are visible (Plate II, Fig. 8).

Cells with reversible demixing are rarely observed (demixing is usually irreversible and cells die). An example of interesting demixing changes can be seen on Plate III, Fig. 10. This cell in metaphase changed quickly its shape, but looked quite normal, and the spindle was homogenous and structurless. Fibers appeared during not more than 2 mins. and the Brownian movement ceased in the spindle simultaneously. Chromosomes, though previously very plainly visible (Plate III, Fig. 10a), changed their refraction coefficient (it decreased), swelled and nearly disappeared. It was impossible to distinguish the particular chromosomes and they seemed to form a shapeless mass. Two types of fibers were easily discernible, i. e.: 1. continuous fibers (Plate III, Fig. 10b) and 2. chrosomal fibers (Plate III, Fig. 10c) — fibers seen between chromosomes and the poles were assumed to be the later ones. Approximate dimensions of these fibers were respectively: 1. breadth $0.3\text{--}0.5\ \mu$ or somewhat larger, length $35\text{--}40\ \mu$ 2. breadth $0.3\text{--}0.5\ \mu$ length $15\text{--}20\ \mu$. The number of fibers was difficult to establish, as they were slightly convergent to the poles (there seemed to be $30\text{--}60$ of them). Though they are invisible at the poles, if the lines formed by them were prolonged, nearly all would intersect at a point which might be considered as the spindle pole. This is only true if the longitudinal section through the spindle centre is considered (cf. Plate III, Fig. c₁). In this cell some hours later anaphase was observed.

Similar types of fibers (dimension and number) were found after plasmolysis in the dividing cells till telephase. As cells are

surrounded by the embryo sack liquid, and are mounted with it, it is difficult to establish the concentration of the solution which causes plasmolysis. During plasmolysis cells change their shape considerably and fibers are distinctly visible both in half spindles and — what is very strange — in pushing body, though in the later case this probably does not occur in late telophase (Plate III, Figs. 11—13). As the refraction coefficient of chromosome diminishes it is very difficult to distinguish early and late prophase, anaphase and telophase, and often even one stage from the other.

O b s e r v a t i o n s o n B r o w n i a n m o v e m e n t

In metaphase there are small particles only in a part of the mitotic spindles. These oscillating particles are much more numerous in metaphase and anaphase than in metakinesis. In normal cells in prophase the particles were not seen even once. This seem to indicate that the particles pass into the spindle from the cytoplasm. On the other hand the particles are numerous in the pushing body of all observed cells already 10 mins. after the beginning of anaphase.

Observations on the intensity of the Brownian movement, without considering exact measurements, but in full agreement with them, are as follows. In the same stages of different normal cells the intensity of the Brownian movement is not the same, through the difference is usually small. Also in the various stages the intensity of the Brownian movement undergoes changes which are similar in different cells. In all cells the half spindles are fairly stiff as compared to the pushing body, which is always liquefied. The pushing body is liquefied immediately when the particles become visible in it (approximately 10 mins. after anaphase begins); in the earlier stages, and also nearer the kinetochores of anaphase chromosomes, it seems at first to be stiffer and then it liquefies quickly. In half spindles and pushing body the particles oscillate quicker and more easily parallelly to the spindle axis than perpendicularly to it, which is in agreement with B ě l a ř ' s (1929a), and B e c k e r ' s (1935) observations on the Brownian movement inside the mitotic spindle. In *Haemanthus* these differences are very distinct in the half spidles and very slight in the pushing body. Particles in half spindles oscillate irregularly: they move quickly, stop, and then move quickly again and each one behaves differently. In metaphase the oscillation of particles at the spindle poles is easier than in the center of the half spindles and also there are marked differences in the two directions (perpendicular and parallel), though the dif-

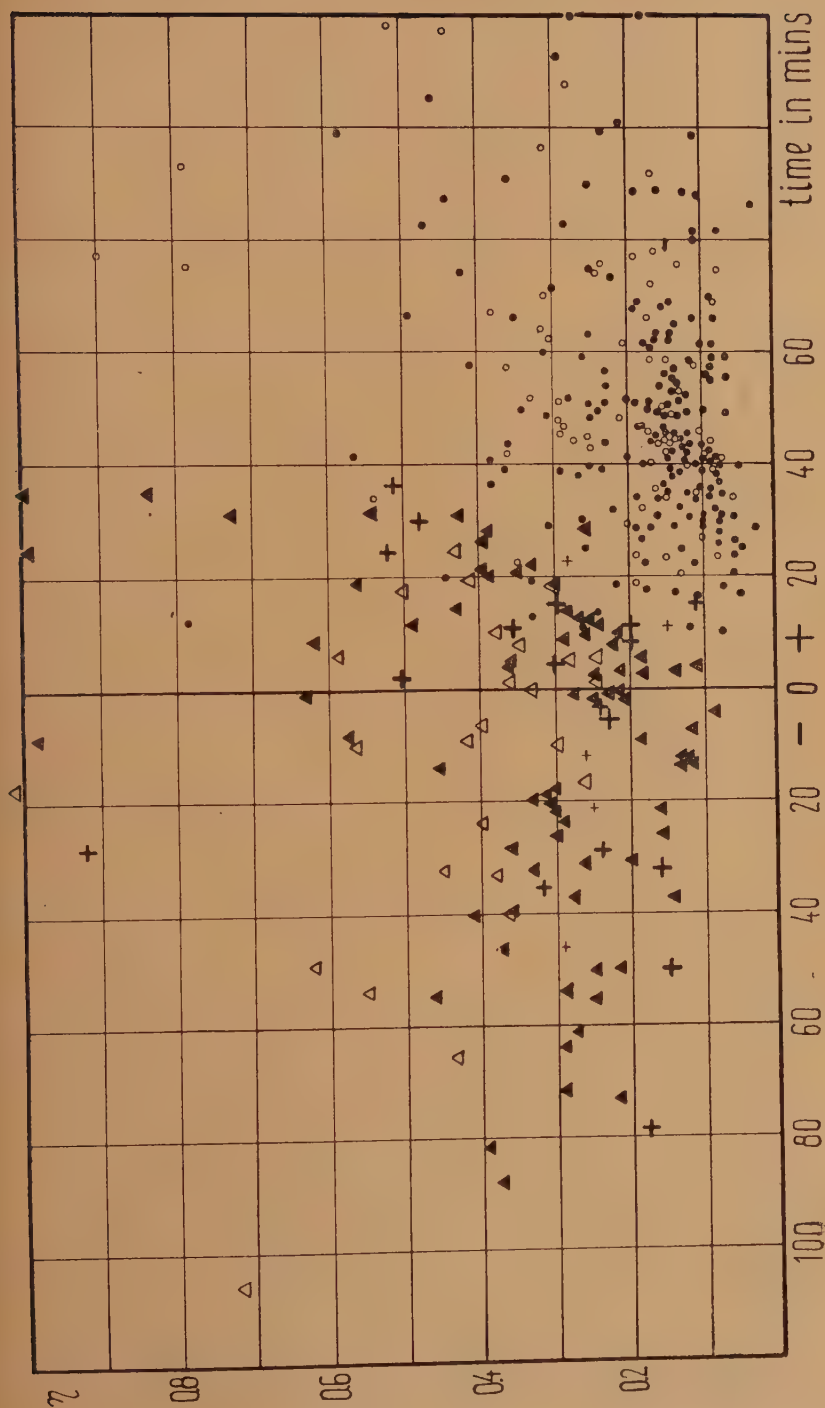
ferences are lesser here than in half spindles. In all observed normal cells in anaphase, the Brownian movement ceases in half spindles, similarly as at spindle poles.

It is interesting to compare the half spindle and pushing body liquefaction with the degree of pushing body activity. The following conclusion drawn from numerous observations seem to be certain: the more the pushing body is liquefied, the stronger is its activity. The activity of the pushing body is smaller when the half spindle is slightly liquefied, than when it is stiffer. Also chromosome movement depend on the stiffness of the spindle, and in the very liquefied spindles it is very slow; such liquefied spindles are usually found in cells which are not normal and in which often the course of anaphase is disturbed.

The results of measurements of η (in poises) are given on Textfig. 1. It is necessary to stress that the statistical weights of different measurements are not the same (cf. methods) and in most cases very deviating measurements have no great influence on the mean values.

The measurements of viscosity coefficient are in agreement with direct observations. The dispersion of measurements is caused by different factors and was discussed previously (cf. notes on the methods).

On the basis of all measurements Table I is obtained, and from it, curves on Textfig. 2 are plotted. Measurements on spindle poles and half spindles perpendicular to spindle axis are few and for these no curves are plotted. As the value of η seem to be constant in the half spindle till 10 mins. before anaphase, the mean value from all measurements prior to this are calculated. The mean viscosity coefficients of half spindle for the time — 120 mins. till — 11 mins. are: $0,267 \pm 0,008$ and $0,494 \pm 0,019$ parallelly and perpendicularly to the spindle axis respectively. In the same units the viscosity coefficient of water is 0,01, of cytoplasm of *Vicia* germ 0,24 and of *Amoeba* cytoplasm 0,06 (after Frey - Wyssling 1948). In comparison to these values the viscosity of *Haemanthus* spindle is high. The approximate relation of coefficients within the spindle is 1 : 2, i. e. the viscosity across the spindle is almost twice of what it is lengthwise. The beginning of anaphase must be considered carefully. The agglomeration of low values just before and just after anaphase begins, is evident. But in Textfig. 2 (mean values) only two mean values pertaining to the half spindle (parallel to spindle length) are lower. Therefore in view of the dispersion of other points, it



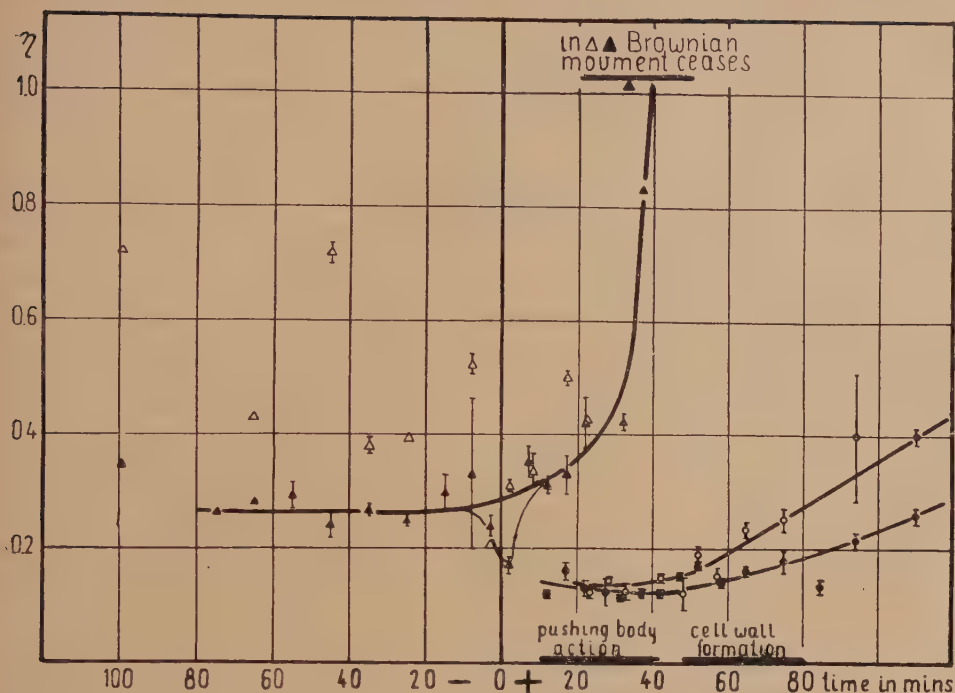
Textfig.1. Values of η (statistical weights not considered) plotted against time (0 — beginning of anaphase; minus — before, plus — after anaphase begins). Triangles — half spindle, circles — pushing body; black — parallel to spindle length, white perpendicular to it. Crosses — spindle pole, large, thick — parallel to spindle axis, small, thin — perpendicular to spindle axis. Note the agglomeration of triangles at the beginning of anaphase.

TABLE I

Time in mins.: minus before, plus — after anaphase begins; 0 — beginning of anaphase. Triangle — half spindle, circle — pushing body. Viscosity coefficients (in poises) measurements parallel or perpendicular to spindle length.

Explanation of n and m given in formulas 1 and 3 respectively.

time	Δ ○ +	$\parallel$ ⊥	$\bar{\eta}$ or η	n	m	time	Δ ○ +	$\parallel$ ⊥	$\bar{\eta}$ or η	n	m
—120—81	Δ	$\parallel$	0,383	26	3	+ 15 + 19	Δ	$\parallel$	$0,333 \pm 0,035$	24	3
	Δ	⊥	0,725	8	1		Δ	⊥	$0,539 \pm 0,105$	13	4
— 80 —71	Δ	$\parallel$	0,267	14	2		+	$\parallel$	0,113	10	1
	+	$\parallel$	0,186	10	1		○	$\parallel$	$0,163 \pm 0,013$	84	8
— 70 —61	Δ	$\parallel$	0,288	20	2	+ 20 + 24	Δ	$\parallel$	$0,421 \pm 0,043$	29	7
	Δ	⊥	0,436	10	1		Δ	⊥	0,434	3	1
— 60 —51	Δ	$\parallel$	$0,296 \pm 0,021$	35	4		+	⊥	0,282	12	1
— 50 —41	Δ	$\parallel$	$0,242 \pm 0,022$	52	5		○	$\parallel$	$0,134 \pm 0,017$	74	6
	Δ	⊥	$0,723 \pm 0,019$	23	4		○	⊥	$0,125 \pm 0,010$	109	8
— 40 —31	Δ	$\parallel$	$0,270 \pm 0,012$	47	4	+ 25 + 29	+	$\parallel$	0,636	6	2
	Δ	⊥	$0,387 \pm 0,016$	36	3		○	$\parallel$	$0,127 \pm 0,027$	146	14
	+	$\parallel$	0,239	18	2		○	⊥	$0,145 \pm 0,009$	45	4
— 30 —21	Δ	$\parallel$	$0,252 \pm 0,010$	72	9	+ 30 + 34	Δ	$\parallel$	$0,425 \pm 0,017$	28	3
	Δ	⊥	0,400	6	1		Δ	⊥	0,992	3	1
	+	$\parallel$	0,450	16	2		+	$\parallel$	0,482	6	1
	+	⊥	0,580	7	1		○	$\parallel$	$0,117 \pm 0,004$	171	14
— 20 —11	Δ	$\parallel$	$0,307 \pm 0,032$	80	10		○	⊥	$0,128 \pm 0,017$	79	7
	Δ	⊥	0,262	10	1	+ 35 + 39	Δ	$\parallel$	0,835	9	1
	+	⊥	0,246	11	1		+	$\parallel$	0,506	3	1
— 10 — 6	Δ	$\parallel$	$0,333 \pm 0,136$	18	2		○	$\parallel$	$0,123 \pm 0,005$	155	15
	Δ	⊥	$0,530 \pm 0,020$	26	5	+ 40 + 44	+	⊥	0,367	12	1
	+	⊥	0,262	11	1		○	$\parallel$	$0,124 \pm 0,008$	261	22
— 5 — 1	Δ	$\parallel$	$0,242 \pm 0,018$	92	10		○	⊥	$0,150 \pm 0,008$	135	11
	Δ	⊥	0,209	10	1	+ 45 + 49	○	$\parallel$	$0,157 \pm 0,003$	150	14
	+	$\parallel$	0,234	15	2		○	⊥	$0,124 \pm 0,031$	89	7
0 + 4	Δ	$\parallel$	$0,175 \pm 0,016$	54	5	+ 50 + 54	○	$\parallel$	$0,175 \pm 0,003$	180	18
	Δ	⊥	$0,315 \pm 0,012$	31	3		○	⊥	$0,194 \pm 0,014$	43	3
+ 5 + 9	Δ	$\parallel$	$0,358 \pm 0,029$	51	8	55 + 59	○	$\parallel$	$0,149 \pm 0,007$	135	14
	Δ	⊥	$0,343 \pm 0,033$	24	4		○	⊥	$0,157 \pm 0,015$	73	5
	+	⊥	0,246	21	3	+ 60 + 69	○	$\parallel$	$0,165 \pm 0,004$	228	22
+ 10 + 14	Δ	$\parallel$	$0,315 \pm 0,017$	37	6		○	⊥	$0,241 \pm 0,015$	56	7
	Δ	⊥	0,313	13	2	+ 70 + 79	○	$\parallel$	$0,183 \pm 0,023$	97	7
	+	$\parallel$	0,323	10	2		○	⊥	$0,254 \pm 0,022$	95	10
	+	⊥	0,153	6	1	+ 80 + 89	○	$\parallel$	$0,137 \pm 0,011$	136	11
	○	$\parallel$	$0,127 \pm 0,008$	99	9	+ 90 + 99	○	$\parallel$	$0,219 \pm 0,017$	61	6
							○	⊥	$0,405 \pm 0,115$	23	3
						+ 100 + 120	○	$\parallel$	$0,261 \pm 0,014$	60	6
							○	⊥	$0,405 \pm 0,013$	23	3



Textfig. 2. Curves of changes in viscosity coefficients plotted against time. (0 — beginning of anaphase, minus before, plus after anaphase begins). Triangles — half spindle, circles — pushing body; black — parallel to spindle length, white perpendicular to it. Curve for half spindle perpendicular to spindle length is not plotted. In half spindle thin line at the beginning of anaphase indicates the probable beginning in decrease of viscosity coefficient (cf. text).

These curves are plotted from data given in Table I.

seems that the lowering of viscosity at the beginning of anaphase, though very probable, cannot be considered as proved. In anaphase the viscosity coefficient of the half spindle rises quickly. The increase of viscosity coefficient is simultaneous with pushing body action, of which the viscosity coefficient is approximately half that in the half spindle (viscosity coefficient of pushing body, parallel to long axis is approximately 0.12). In comparison to the half spindles the pushing body is highly liquified. The differences of η in pushing body (parallelly and perpendicularly to long axis) are slight in anaphase, and they increase in telophase during middle lamella formation. In telophase viscosity coefficient of pushing body increases because of its transformation into the phragmoplast. The increasing of viscosity coefficient in phragmoplast at the beginning of telophase was found by Wada (1935).

DISCUSSION

The results obtained here are similar to the data on cytoplasm viscosity during mitosis obtained by other methods (C a r l s o n 1946, 1952, H e i l b r u n n and W i l s o n 1948 and numerous earlier papers — most cited by C a r l s o n 1946).

C a r l s o n ' s (1946) observations on changes of cytoplasm viscosity in different stages of mitosis in neuroblast cells of grasshopper are somewhat different, than those obtained in the course of this work. He reported the decrease of viscosity coefficient in the pushing body, but according to him, the half spindles are liquid. However the result of his later studies fully support the present observations on *Haemaphysalis*. C a r l s o n (1952), on the basis of his micrurgical experiments on neuroblast cells of grasshopper, reports: 1. the rigid consistence of mitotic spindle in metaphase, 2. the lowering of the viscosity coefficient in pushing body and 3. the attachment of spindle fibers to spindle poles in anaphase. He thinks that the decrease of viscosity in anaphase half spindles takes place between kinetochores and the pole. It is difficult to state whether this is the case in *Haemaphysalis*, as observations refer only to the central part of the half spindle, between the kinetochores and the pole. In endosperm of *Haemaphysalis* the viscosity coefficient of the spindle increases in anaphase, but it is very probable that it decreases just before anaphase begins. It is very interesting that the curve for pushing body viscosity (Textfig. 2) if prolonged, would begin in the probable of maximum lowering of half spindle viscosity. If such lowering would really take place, it will be possible to draw conclusions concerning the mechanism of anaphase beginning (i. e. this would indicate that anaphase begins just after changes of submicroscopical structure of metaphase spindle). The increase of viscosity in the half spindle in anaphase and its decrease in the pushing body is caused by structural changes in the mitotic spindle. Coagulated spindle fibers during creeping of cytoplasm, the appearance of fibers during demixing and especially during plasmolysis confirm the well known fact that the spindle is composed of two types of fibers: 1. continuous fibers, 2. chromosomal fibers. Fibers have different appearance, than those seen on fixed material (cf. photos of Ö s t e r g r e n 1951) and seem to be of the same breath throughout their length. There arises the question in what degree these fibers resemble those existant in normal cells. Though this cannot be answered on the basis of present investigations, it appears to me that these are real fibers (the two last latter

cases i. e. demixing and plasmolysis) of normal cells from which water has been partially removed i. e. they are slightly dehydrated fibers. Fibers may be somewhat convergent in the metaphase half spindle, but the poles are not distinctly visible. In anaphase they seem to join at the pole. According to W a d a (1950) the spindle is composed of fibers and an interfibrillar substance. It is not known whether this substance is anisotropic or isotropic (S w a n n 1951a,b). However, it seems evident that the Brownian movement takes place in it. This work does not solve this question (due to the presence of fibers differences of intensity in the Brownian movement both parallel and perpendicular to the spindle length, may be no indication of a differentiation in the substance), but two properties of this substance are noted: 1. the ability to become liquefied, which enables it to flow from the spindle, 2. reversible denature, which stops the Brownian movement in it.

The increases of viscosity coefficient in anaphase half spindle may be caused by two factors: 1. displacement of fibers from a more or less parallel (metaphase) to a convergent (anaphase) arrangement, i. e. in anaphase half spindle fibers are much closer to each other than in metaphase, and during anaphase they approach still more, 2. the decrease or change in structure of the substance between the fibers. Though, the action of both these factors is quite plausible, it is difficult to decide for certain, whether they act together or only one of them is responsible. At any rate only one of these factors (the existence of the first one is proved) is sufficient to stop the oscillatory movement of particles within the spindle during anaphase.

The viscosity of the metaphase half spindle is about twice that of the pushing body. In the pushing body the difference in viscosity coefficients measured lengthwise and crosswise to long axis is small, but in my opinion it surpasses the possible error in measurements. This difference may be caused by a small number of fibers or interzonal connections which may be present in the pushing body. It would be interesting to know, whether the substance which would remain, if the fibers from metaphase spindle were removed, would have a similar viscosity coefficient as the pushing body. Probably this would not be the case, and most authors think that the pushing body originates after submicroscopical changes in the spindle. The above confirm studies on animal cells in polarised, light, according to which the pushing body is not birefringent (S c h m i d t 1939, S w a n n 1951). In *Haemanthus* during the first stages of anaphase

particles, when seen in the pushing body, oscillate very slowly, and they behave similarly near the kinetochores. On the other hand in later stages in the center of pushing body particles move with greater freedom. This also seem to indicate that this interfibrillar substance changes in anaphase.

The viscosity coefficients of pushing body changes. These changes must be considered during: 1. anaphase, when the pushing body acts while it is most liquefied (untill 40—50 mins. after anaphase begins), 2. the changes of pushing body in telophase i. e. during phragmoplast formation. „Stemmkörper“ (pushing body) and traction fibers hypotheses were questioned by Carlson (1952), who on the basis of micrurgical experiments states: „Since the interzonal region during middle and late anaphase is fluid except for fine interzonal connections between the distal ends of sister chromosomes, the only pushing force one can visualize is that resulting from the lengthening of these fibers by either active elongation, or by accretion of new material at their ends“. Such interzonal connections I have also observed both in vivo and after acetocarmine in *Haemanthus* pollen tubes (Bajer 1952 unpubl.). In my opinion the facts known at present are unsufficient for a full elucidation of „Stemmkörper“ hypothesis. However, the presence of interzonal connections and also low viscosity of pushing body are not necessarily an evidence against this hypothesis. If interzonal connections had an active influence, the orientation of individual chromosomes in anaphase would be different, than what is observed. The fluidity of pushing body may support „Stemmkörper“ hypothesis and need not be an evidence against it. It is well known, that on the boundaries of two mediums with different surface tensions a force directed toward the medium with the higher surface tension acts. Half spindles and pushing body have different viscosity coefficients and most probbaly their surface tensions also differ, if that is so, then the pushing body would act not on individual chromosomes but on both half spindles.

During phragmoplast formation some changes in pushing body are unexpected and difficult to understand. An increase viscosity coefficient of phragmoplast in telophase may be caused by denucleinization which in *Haemanthus* is very rapid (chromosomes begin to disappear often 40 mins. after anaphase beginning). According to Jacobson and Webb (1952), ribonucleoproteins in telophase pass from chromosomes to the space between chromosome groups. Viscosity coefficient of RNA is very high and it can cause

the increase of viscosity in phragmoplast. It is very surprising that the two curves for pushing body in Textfig. 2. separate and from this the only conclusion which can be drawn is, that a structure parallel to the long axis of pushing body is being formed. In fact, on fixed material the structure is visible in the phragmoplast. This structure is not birefrigent in polarised light and on the basis of that kind of experiments the phragmoplast is structurless. The fibers visible during the earlier stages in pushing body most probably do not exist in the phragmoplast. There is a connection between changes occurring in the phragmoplast and cell wall formation. During middle lamella formation pectine substances are precipitated in the shape of small droplets (Y a s u i 1939), which are seen in electron microscope (R o z s a and W y c k o f f 1952). In *Haemanthus*, instead of droplets, small spindles are visible. It is possible that in order to transport pectine substances a structure arises, which makes the oscillation perpendicular to phragmoplast axis more difficult than the one parallel to it. The nature of the changes in the phragmoplast and the pushing body may be elucidated by further exact measurements such as changes in volume, studies of chemical properties etc.

A k n o w l e d g e m e n t s

The author wishes to express his most sincere gratitude to Prof. Dr H. Teleżyński from B. Bierut University in Wrocław and to Prof. Dr F. Górski, the Head of Physiological Laboratory for their kind critic and to my colleagues from Physical Laboratory for much help and advice.

SUMMARY

As a material *Haemanthus* endosperm was used.

Observations on spindle structure of living cell confirm the well known fact that the spindle is composed of two kinds of fibers (chromosomal and continuous fiber) and of interfibrillar substance. The existence of continuous fibers or fibers of the same character was confirmed in pushing body (B ě l a ř ' s Stemmkörper). Two properties of interfibrillar substance in metaphase half spindle are confirmed:

1. It can be liquefied, then it flows out of the spindle almost completely after which bare coagulated fibers are seen.
2. It can be denaturated reversibly (in reversible demixing) or irreversibly (coagulation) and then it hardens and all Brownian movement in it stops completely.

Viscosity coefficient in spindle and pushing body is greater in the direction perpendicular than parallel to spindle axis (in half spindles almost double and in pushing body by $1/5$ — $1/4$). Viscosity coefficient of pushing body is nearly half that of the half spindle in metaphase. The values (in poises) of these coefficients are given.

Viscosity coefficient of the spindle in metaphase does not change and increases quickly in anaphase. The increase of the viscosity coefficient values is simultaneous to the pushing body action (in endosperm of *Haemanthus* the pushing body action is similar to what was found in chick tissue culture). In late metaphase and at the beginning of anaphase viscosity coefficient of mitotic spindle probably decreases considerably. However this process cannot be considered as proved. The pushing body acts when it is most liquefied. The viscosity coefficient of the pushing body increases in telophase during phragmoplast formation which may indicate that a new structure is formed in it at this stage.

REFERENCES

- Bajer A., 1950. Electrical forces in mitosis. I. Acta Soc. Bot. Pol. 20: 709-737.
- Bajer A., 1953. Endosperm — a valuable material for experimental studies of mitosis in vivo. Ibid. (in the press).
- Bajer A. and J. Molè-Bajer, 1952. Influence of extreme temperature on mitosis in vivo *Hymenophyllum*. I. Ibid. 22: 267-298.
- Becker W. A., 1935. Über einige Streitfragen der Zellteilung. Z. Zellf. 23: 253-260.
- Bělář K., 1929a. Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Arch. Entwmech. 118: 359-484.
- Bělář K., 1929b. Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. III. Z. Zellf. 10: 71-134.
- Bělář K., Über die reversible Entmischung des lebenden Protoplasmas. Protoplasma 9: 209-244.
- Carlson J. G., 1946. Protoplasmic viscosity changes in different regions of the grasshopper neuroblast during mitosis. Biol. Bull. 90: 109-121.
- Carlson J. G., 1952. Microdissection studies of the dividing neuroblast of the grasshopper, *Hortophaga viridifasciata*. Chromosoma 5: 199-220.
- Chambers R., 1925. The physical structure of protoplasm, as determined by microdissection and injection. General cytology edited by E. V. Cowdry. Chicago.
- Crick F. H. C. and A. F. W. Hughes, 1950. The physical properties of cytoplasm. Exp. cell Res. 1: 37-60.
- Freysing A., 1948. Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. Amsterdam.

- Heilbrunn L. V. and W. L. Wilson, 1948. Protoplasmic viscosity changes during mitosis in the egg of *Chaetopterus*. Biol. Bull. 95: 57-68.
- Heitz E., 1943. Kleinere Beiträge zur Zellenlehre I. Zur Kenntnis der Stemmkörperwirkung. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 53: 193-199.
- Hughes A. F. and M. M. Swann, 1948. Anaphase movement in the living cell. A study with a phase contract and polarized light on the chick tissue culture. J. exp. Biol. 25: 45-70.
- Jacobson W. and M. Webb, 1952. The two types of nucleoproteins during mitosis. Exp. cell Res. 3: 163-183.
- Molè-Bajer J. 1951. Influence of hydration and dehydration on mitosis. I. Acta Soc. Bot. Pol. 21: 73-94.
- Molè-Bajer J. 1952. Influence of hydration and dehydration on mitosis. II. Ibid. 22: 33-44.
- Östergren G., 1951. The mechanism of co-orientation in bivalents and multivalents. Hereditas 37: 85-156.
- Pekarek J., 1931. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung. Protoplasma 13: 637-665.
- Ris H., 1943. A quantitative study of anaphase movement in the aphid *Tamalia*. Biol. Bull. 85: 90-106.
- Rozsa G. and R. W. G. Wyckoff, 1951. The electron microscopy of onion root tip cells. Exp. cell Res. 2: 630-641.
- Schmidt W. J. 1939. Doppelbrechung der Kernspindel und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung. Chromosoma 1: 253-264.
- Swann M. M., 1951a. Protoplasmic structure and mitosis. I. J. exp. Biol. 28: 417-433.
- Swann M. M., 1951b. Protoplasmic structure and mitosis. II. Ibid. 28: 334-444.
- Yasui K., 1939. On the cytokinesis in some Angiosperms, with special reference to the middle lamella initial formation and the phragmoplast. Cytologia 9: 557-574.
- Wada B., 1935. Mikrurgische Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. II. Ibid. 6: 381-406.
- Wada B., 1950. The mechanism of mitosis based on studies of the sub-microscopic structure and of the living state of the *Tradescantia* cell. Ibid. 16: 1-26.

EXPLANATION OF PLATES

Phase contrast microscope; magnification approximately 800 ×

Plate I

- Fig. 1. a—d. Mitosis in the same cell; a — note nuclear membrane on lower right part of the nucleus; b—c — two stages of anaphase; d — late telophase with almost resting nuclei. b — 44 min. after a, c — 1 h 19 min. after a, d — 4 h after a.
- Fig. 2. Action of pushing body — the cell constricts.
- Fig. 3. Late telephase, phragmoplast and nuclei almost without cytoplasm. Note long chondriosomes.

Plate II

Cells placed on bare glass squares (cf. text). Dead cells.

- Fig. 4. Prophase; note nuclear membrane.
Fig. 5. Spindle injured during preparation — coagulated spindle.
Figs. 6—7. Normal cells after preparation, flattened spindle, cytoplasm creeps.
Fig. 8. Late anaphase, half spindle flattened. Note that chromosomes arranged on circumference of circle which seems to indicate that spindle fibers are fixed at the spindle poles. In pushing body no fibers.
Fig. 9. Late telophase.

Plate III

- Fig. 10 a—e. Cell with reversible demixing as described in text. a — metaphase before demixing; b—c — cell in demixing, b — continuous, c — chromosomal fibers, c₁ — c in which most visible fibers are drawn in, — note their crossing almost in one point. Thickness of fibers markedly uniform. This is partly obliterated on photograph due to light refraction on cytoplasm structure. Chromosome form shapeless mass, their refraction coefficient is much reduced. d — e — anaphase in the same cell; note change of shape. b — 16 min. after a, c — 31 min. after a, d — 1 h 42 min. after a, e 2 h 34 min. after a.
Figs. 11—13. Plasmolysed cells. Metaphase or early anaphase; note fibers. 12 — ana-telophase, note fibers in pushing body. 13 — late telophase no fibers in pushing body. All cells changed shape owing to strong plasmolysis; refraction coefficient of chromosomes much reduced.



Plate I.

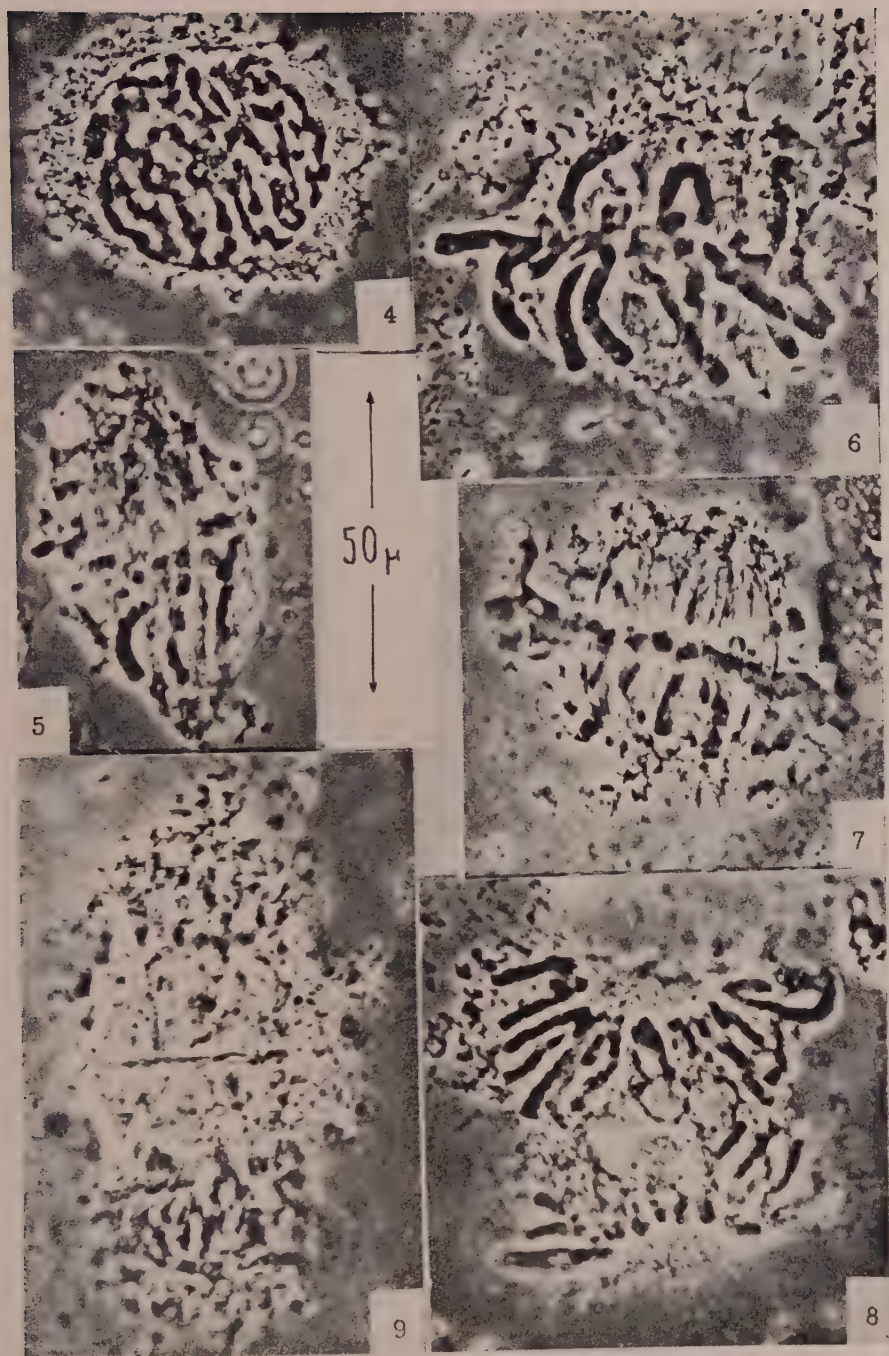


Plate II.



Plate III.

Amitotyczne podziały jąder w tkankach marchwi hodowanych in vitro.

*Divisions amitotiques de noyaux dans les tissus de la carotte,
cultivés in vitro.*

BOHDAN RODKIEWICZ

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego

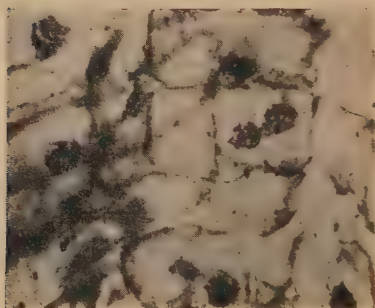
(wpłynęło 29. VII. 1952 r.)

Niewielkie kawałeczki tkanek korzenia marchwi hodowane na pożywce agarowej zgodnie z techniką G a u t h e r e t a (1942), wytwarzają obfity kalus. W kalusie tym widać, oprócz mitoz, sporo obrazów świadczących o znacznych zakłóceniach przy podziałach komórek. Zgadza się one częściowo z opisami podziałów komórek w tkankach marchwi in vitro ogłoszonymi przez B u v a t ' a (1944), który przytacza szereg odpowiednich rysunków. Nienormalne zachowanie się komórek kalusa marchwi w znacznym stopniu przypomina opisy E l l e n h o r n a, G ł u s z c z e n k i i A f a n a s j e w e j (1951) oraz E l l e n h o r n a i Ż i r o n k i n a (1951) dotyczące innego, różnorodnego materiału. W mojej poprzedniej pracy (1952) poczyniłem pewne spostrzeżenia nad jądrami w kalusie marchwi in vitro. Obserwowałem mianowicie ogromne jądra, które znajdowały się zwykle w komórkach większych niż sąsiednie. Nie zajmowałem się jednak bliżej tą sprawą. Dalsze obserwacje na tym samym, względnie takim samym materiale pozwoliły mi zebrać więcej danych o podziale jąder w kalusie oraz wysunąć przypuszczenie o losie jąder olbrzymów.

Preparaty wykonywałem z kalusa rozwijającego się przez dwa tygodnie do trzech miesięcy na wycinkach korzenia marchwi in vitro. Materiał utrwaliałem w utrwalaczach Navaszina, Bouina i FAA.

Skrawki mikrotomowe grubości 8—12 mikronów barwiłem hematoksyliną Heidenheina, safraniną i zielenią świetlistą oraz fuksyną.

B u v a t (1944) opisuje w rosnącym kalusie marchwi normalne kariokinezy, po których następują cytokinezy. Modyfikacje w cytokinezie spowodowane specjalnym charakterem komórek kalusa prowadzą niekiedy do powstania komórek 2- lub wielojądrowych, oraz bezjądrowych. Na moim materiale widziałem również różne stadia kariokinezy, przy czym wyróżnicowały się chromozomy i tworzyło się wrzeciono. Prócz normalnych kariokinez, spotyka się cały szereg obrazów, które świadczą o amitotycznym podziale jądra. Podziały takie występują zarówno w komórkach miękiszowych jak i w komórkach miazgi kalusa. Przy podziale jądro stopniowo przewęża się w płaszczyźnie równikowej, a mostek łączący



1. Amitoza w komórce miazgi kalusa. W dzielącym się jądrze widać wyraźnie ziarnistości.

1. Amitose dans l'assise génératrice du cal. Dans le noyau en division on aperçoit bien les granulations.



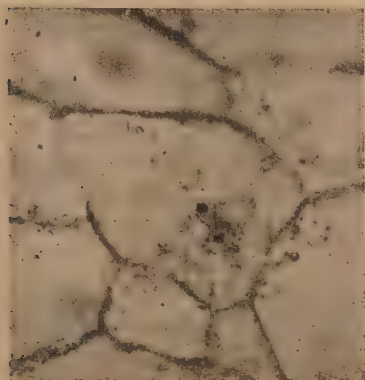
2. Daleko posunięty proces podziału amitotycznego.

2. Division amitotique avancée.

oba potomne jądra stają się coraz cieńsze (fot. 1. 2). W najwcześniejszych momentach amitozy widać w jądrze dwa jąderka. Proces przebiega w ten sposób, że każde z jąder potomnych otrzymuje jedno jąderko. W końcu jądra oddzielają się całkowicie, ale zwykle pozostają przez jakiś czas w tej samej komórce. Leżą one blisko siebie i są równej wielkości. Brak natychmiastowego podziału komórki po podziale jądra jest bardzo częsty przy amitozie. W niektórych wypadkach podział odbywa się nieco inaczej. Przewężenie następuje nie w płaszczyźnie równikowej, a bliżej jednego z biegunów. W rezultacie od jądra macierzystego oddziela się jądro znacznie

mniejsze (fot. 3). W tym wypadku podczas amitozy powstają dwa jądra potomne nierównej wielkości, każde z jednym jąderkiem.

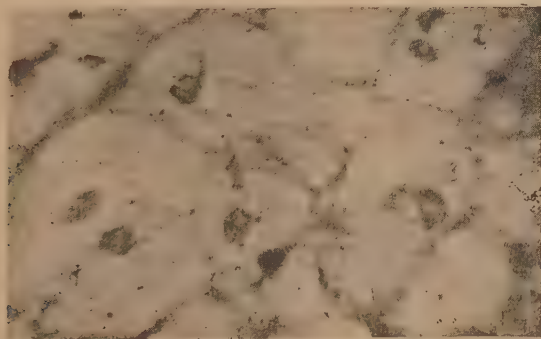
W obu wypadkach struktura utrwalonego jądra pozostaje przez cały czas ziarnista. Szczególnie dobrze uwidacznia się ta ziarnistość na fot. 1 i 2, jest ona wyraźniejsza niż w jądrach interfazalnych. W żadnym wypadku nie wytwarzały się nitki chromatynowe, jakie są opisywane przy pseudoamitozie.



3. Amitoza podczas której powstają nierówne jądra.

3. Amitose conduisant à la formation de deux noyaux inégaux.

Powyższe obrazy można by interpretować jako zlewanie się jąder. Jednak cały szereg podziałów amitotycznych spotkałem w miazdze kalusa (fot. 1). Fakt ten, wydaje mi się, świadczy decydująco, że mamy tutaj rzeczywiste podziały, a nie zlewanie się ją-



4. Komórki dwujądrowe (1, 2), amitoza (3).

4. Cellules binucléaires (1, 2), amitose (3).

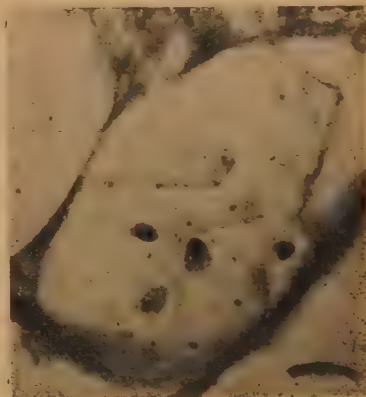
der. Trudno bowiem przypuścić, aby w czynnej miazdze zachodził proces zlewania się jąder. W dodatku w tkankach obok miazgi spotyka się komórki dwujądrowe. Obecność dwu jąder w komórkach leżących blisko miazgi i niedawno z niej powstałych nasuwa myśl,

że w tkance twórczej musiały odbywać się amitozy. Po amitozach bowiem często cytokineza jest opóźniona, lub zupełnie nie występuje, w rezultacie pojawiają się komórki dwujądrowe (fot. 4).

W komórkach kalusa spotykałem często jedno- rzadziej dwująderkowe jądra. Prócz takich zdarzały się jądra o większej ilości jąderek, rozpadały się one na szereg mniejszych zwykle jednojąderkowych jąder. Fot. 5 przedstawia czterojąderkowe jądro, trzy jąderka leżą w jednej płaszczyźnie jedno znajduje się głębiej. Jądro to dzieli się na trzy części. W ten sposób powstaje komórka wielo-



5. Rozpad wielojąderkowego jądra.
1. Demembrement du noyau multinucléolaire.



6. Komórka wielojąderkowa.
6. Cellule polynucléaire.

jądrowa (fot. 6). Nie jest ona długowieczna, ulega bowiem podziałowi na szereg mniejszych komórek. Błony tych ostatnich są cieńsze od błony komórki macierzystej. W kalusie można spotkać grupy cienkościennych komórek otoczonych wspólną grubsza błoną.

W badaniach amitozy wg. K a t e r a (1940), E l l e n h o r n a i i. zaważyły teorie cytogenetyczne. Dlatego wielu cytologów niemal apriorycznie odrzuca ją jako sposób powstania zdolnych do podziału komórek. Np. wg. K ü s t e r a (1951) nie następuje po amitozie ani tworzenie się błony ani mitoza.

W kalusie marchwi występują obok siebie mitozy i amitozy, te ostatnie spotykałem częściej. Jest to tym bardziej ciekawe, że na preparacie wyróżnia się łatwo każdą mitozę, niezależnie od płaszczyzny w jakiej się odbywa. Amitozę spostrzega się z całą pewnością dopiero w tym wypadku, jeżeli odbywa się ona w płaszczyźnie prostopadłej do osi mikroskopu. Dlatego też większość amitoz uchodzi łatwo obserwacji. Występowanie amitozy w tkankach, które

posiadają właściwości nieograniczonego wzrostu oraz w pewnym okresie znaczne zdolności regeneracyjne, np. przy zrastaniu się (R o d k i e w i c z 1952), prowadzi do wniosku, że amitoza jest procesem, który nie zamyka możliwości dalszych podziałów i rozwoju komórki.

Pragnę podziękować prof. dr Franciszkowi Skupieńskiemu i prof. dr Annie Wałek-Czerneckiej za cenną i serdeczną pomoc.

RÉSUMÉ

En continuant ses observations sur la structure du cal formé dans les tissus de carotte, l'auteur a constaté dans cet élément des divisions caryocinétiques. Il a également constaté, dans les cellules du parenchyme et dans l'assise génératrice du cal, la présence des amitoses. A la période d'amitose la structure du noyau fixé est granuleuse.

Pendant l'amitose le noyau se divise en deux noyaux-fils du même volume. Dans certains cas un de noyau-fils est beaucoup plus petit que l'autre.

Dans les cellules du cal sont présentés des noyaux à plusieurs nucléoles. Ces noyaux se divisent en plusieurs petits noyaux, a la suite de quoi apparaît une cellule multinucléaire. Une pareille cellule se divise ensuite en plusieurs cellules de petite taille et entourées d'une membrane commune.

En se basant sur ces faits on peut conclure, que l'amitose — contrairement à ce qu'admettent certains auteurs — constitue un processus qui ne ferme pas la possibilité de divisions ultérieurs et du développement de la cellule.

CYTOWANA LITERATURA

1. B u v á t R., 1944. Recherches sur la différenciation des cellules végétales. Ann. des Sc. Nat. Botanique 5. 1-113.
2. E l l e n h o r n J. E., G l u s z c z e n k o I., A f a n a s ' e v a A. S., 1951. Niekotorye voprosy genezisa rastitel'noj kletki. Izv. ANSSSR ser. biol. zesz. 5. 12—34.
3. E l l e n h o r n J. E., Ž i r o n k i n I. M., 1951. O razmnóženii kletok i ontogeneze jader v processe razvitija koreszkov iz czeczeviczek na stebľach czernoj smorodiny i ivy. Izv. AN SSSR ser. biol. zesz. 5. 35-45.
4. G a u t h e r e t R. J., 1942. Manuel technique de culture de tissus végétaux. 177 pp. Paris Masson.

5. K a t e r J. McA., 1940. Amitosis. Bot. Rev. 6. 164-180.
6. K ü s t e r E., 1951. Die Pflanzenzelle. 866 pp. Jena G. Fischer.
7. R o d k i e w i c z B., 1952. Obserwacje nad zrastaniem się tkanek korzenia marchwi, hodowanych in vitro. Acta Soc. Bot. Poloniae 21. 789-801.
8. R o d k i e w i c z B., 1952. La soudure des tissus découpés dans la racine de carotte, cultivés sur substratum artificiel. Bul. de la Soc. d. Sc. et Lettres de Łódź. Cl. III vol. 3, 7.

O przebiegu holenderskiej choroby wiązków (*Ceratostomella ulmi* (Schw.) Buisman) na terenie miasta Poznania

The progress of Dutch elm disease (Ceratostomella ulmi (Schw.) Buisman) on the area of Poznań (Poland)

KAROL MAŃKA

(wpłynęło 6. VIII. 1952 r.)

WSTĘP

Występowanie holenderskiej choroby wiązków zaobserwowano po raz pierwszy w Holandii w sierpniu 1919 r. (S p i e r e n b u r g 1922). Według B o y c e ' a (1948) miało to miejsce w północnej Francji, w Belgii i Holandii już w r. 1918. Stąd rozprzestrzeniła się bardzo szybko na niemal całą Europę. Latem 1930 r. pojawiła się w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej, a dziś jest już rozpowszechniona aż w środkowej Azji (R o w s k i j, O z o l i n, S o ł o w i e w a 1950).

Na ziemiach polskich stwierdzono ją po raz pierwszy w r. 1927 we Wrocławiu (W o l l e n w e b e r i S t a p p 1928). Około r. 1936 była już pospolitą w Polsce środkowej (S i e m a s z k o 1935, D o m i n i k i Z a l e s k i 1936, D o m i n i k 1936), a w r. 1937 przekroczyła obecne wschodnie granice państwa polskiego (K o z i k o w s k i 1948).

Jako czynnik sprawczy choroby ustalono grzyb *Ceratostomella ulmi* (Schw.) Buism., należący do klasy Workowców (*Ascomycetes*), rzędu Kulistych (*Sphaeriales*).

Choroba zaatakowała od razu z ogromną siłą drzewa wszelkiego wieku, wskutek czego np. Belgia i Holandia straciły 60—70% swych zadrzewień wiązkowych (B o y c e 1948). W innych krajach straty były nieco mniejsze, ale również bardzo dotkliwe (M u m e n t h a l e r 1948).

Okazało się, że choroba może mieć przebieg ostry — co jest częstym zjawiskiem na zachodzie Europy — lub przewlekły, przeważający np. w Polsce (D o m i n i k 1936). Większość autorów przyjmuje przy tym, że raz rozpoczęty proces chorobowy prowadzi nieuchronnie do śmierci porażonego drzewa. Tylko nieliczni autorzy czynią drobne wzmianki o obserwowanych czasem przypadkach powrotu porażonych drzew do zdrowia (W e l c h, H e r r i c k, C u r t i s 1934, B o y c e 1948) lub zgoła wyrażają nadzieję na ustąpienie ogromnej — jak dotąd — wirulencji patogena lub na wzrost względem niego odporności wiązków. Tymi głównie punktami widzenia powodując się przeprowadzono w czasie od 1946—1949 r. niżej przedstawione badania nad przebiegiem holenderskiej choroby wiązków na terenie m. Poznania.

Prace terenowe

1. M a t e r i a ł b a d a w c z y. — Zbadano 2082 wiązy rosnące na terenie miasta Poznania, w tym 1513 wiązków polnych (*Ulmus campestris* L.), 525 wiązków szypułkowych (*Ulmus effusa* Willd.) i 44 wiązy górskie (*Ulmus montana* Smith.). Szczegółowy wykaz tych drzew według miejsc ich występowania przedstawia tabela 1.

2. M e t o d y k a b a d a ń. — Obok zróżnicowania na wymienione trzy zasadnicze gatunki, dokonano podziału ogółu drzew pod względem wieku, grupując je w trzech klasach wysokościowych, z których pierwsza obejmowała drzewa o wysokości do 6 m, druga 7—10 m, trzecia zaś ponad 10 m. Wysokości były określane szacunkowo. Przybliżony wiek drzew z pierwszej klasy wysokościowej wynosił do 15, z drugiej 15—35, z trzeciej ponad 35 lat. Jako osobną grupę traktowano drzewa ogłowione w ilości 201 sztuk, złożoną niemal wyłącznie z wiązków polnych, co do wieku odpowiadających mniej więcej drzewom z drugiej klasy wysokościowej. Najstarsza klasa drzew składała się głównie z wiązków szypułkowych, dwie zaś młodsze przede wszystkim z wiązków polnych.

W oparciu o makroskopową ocenę zdrowotną badanych wiązków ustalono poniżej przytoczną sześciostopniową skalę porażenia drzew:

Zdrowe wiązy	—	Drzewa wykazujące pełne
(stopień porażenia „1“)		i zdrowo wyglądające ulistnienie (ryc. 1).
Słabe porażenie	—	Korona pozbawiona ok. 1/4
(stopień porażenia „2“)		swej normalnej ilości listowia (ryc. 2).



Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6

Ryc. 1. Zdrowe drzewo — (stop. poraż. „1”); ryc. 2. Słabe porażenie — (stop. poraż. „2”); ryc. 3. Średnie porażenie — (stop. poraż. „3”); ryc. 4. Silne porażenie — (stop. poraż. „4”); ryc. 5. Bardzo silne porażenie — (stop. poraż. „5”); ryc. 6. Obumarłe wiązki — (stop. poraż. „6”).

Średnie porażenie (stopień porażenia „3“)	—	Korona pozbawiona ok. 1/2 swej normalnej ilości listowia (ryc. 3).
Silne porażenie (stopień porażenia „4“)	—	Korona pozbawiona ok. 3/4 swej normalnej ilości listowia (ryc. 4).
Bardzo silne porażenie (stopień porażenia „5“)	—	W koronie zaledwie kilka do kilkuset żywych liści (ryc. 5).
Obumarłe wiązy (stopień porażenia „6“)	—	Drzewa zupełnie pozbawione żywych liści (ryc. 6).

Wszystkie wiązy wzięte w badaniach pod uwagę ponumerowano i naniesiono na plany sytuacyjne.

W ciągu ostatniej dekady września roku 1946, 1947 i 1949 zakwalifikowano każde z tych drzew do jednego z wyżej wymienionych stopni porażenia. Tak dobrany termin dla corocznych czynności kwalifikacyjnych wydawał się mieć tę dobrą stronę, że zamykał niejako sezon wegetacyjny, pozwalając przez to ująć rezultat całosezonowego oddziaływania choroby na roślinę żywicielską, wymykając się równocześnie okresowi naturalnego jesiennego opadania listowia wiązowego, które w Poznaniu zaczyna się dopiero w drugiej połowie października, a kończy w listopadzie.

W związku z czynnościami kwalifikacyjnymi pobierano z drzew porażonych i zdrowotnie podejrzanych próbki w postaci ok. 30 cm długich odcinków pędów, które następnie służyły do skojarzenia zewnętrznych objawów chorobowych drzew z czynnikiem sprawczym przy pomocy metody sztucznych kultur.

3. Wyniki badań terenowych. — W celu należytego ich wykorzystania trzeba je przedstawić w formie tabelarycznej i wykresowej.

a) **Przedstawienie tabelaryczne.** Kwalifikacja zdrowotna wiązków w latach 1946, 1947 i 1949 dała w rezultacie trzy szeregi danych, które ujęte w tabelę i rozpatrywane z osobna przedstawiają sprawę porażenia chorobowego tych drzew w sposób statyczny, natomiast rozważane porównawczo pozwalają wnikać w dynamikę choroby.

Z tabeli 2 wynika, że przebieg procesu chorobowego wiązków poznańskich był niejednorodny, jeśli chodzi o rozmaite gatunki tego rodzaju drzew i nie zawsze jednokierunkowy.

TABELA 1

Objęte badaniami więzy m. Poznania, pobrane z nich próbki i wyniki izolacji dokonanych z próbek

L.p.	Ulica (plac)	Ilość drzew				Ilość próbek				Ilość izolacji			
		c	e	m	ogółem	ogółem	t	nt	z	ogółem	pozytywn.		negat.
											C. u.	O. ub.	
1	Artyleryjska	8	1	—	9	4	4	—	—	3	1	—	2
2	Artyleryjska	2	1	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—
	Pl. Drwęskiego												
3	Bergera	7	1	—	8	6	6	—	—	3	1	—	2
4	Bogusławskiego	23	—	—	23	7	2	1	4	2	—	—	2
5	Chopina	1	9	10	20	3	—	2	1	—	—	—	—
6	Czerwonej Armii	5	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Daszyńskiego	91	6	5	102	3	2	—	1	1	1	—	—
8	Dąbrowskiego	48	81	4	133	5	5	—	—	2	1	—	1
9	Dębińska	86	—	—	86	7	7	—	—	3	—	—	3
10	Fredry	2	7	1	10	—	—	—	—	—	—	—	—
11	Góra Przemysława	4	—	—	4	4	4	—	—	1	1	—	—
12	Grunwaldzka	46	26	—	72	7	5	—	2	3	1	1	1
13	Jarochońskiego	121	1	—	122	4	3	—	1	2	—	—	2
14	Jordana	38	—	—	38	5	5	—	—	1	1	—	—
15	Kaliska	—	6	—	6	—	—	—	—	—	—	—	—
16	Kolarska	49	—	—	49	3	2	—	1	2	1	—	1
17	Kolejowa	32	—	—	32	7	5	1	1	3	2	1	—
18	Kosińskiego	61	—	—	61	7	3	—	4	4	1	—	3
19	Kórnicka	43	—	—	43	1	1	—	—	1	1	—	—
20	Krakowska	5	126	5	136	2	2	—	—	1	1	—	—
21	Krańcowa	1	25	4	30	4	—	—	4	4	—	1	3
22	Kręta	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
23	Królowej Jadwigi	38	—	—	38	1	1	—	—	1	1	—	—
24	Łukaszewicza	29	—	—	29	5	3	—	2	1	1	—	—
25	Maratońska	23	—	—	23	6	2	—	4	3	—	—	3
26	Matejki	18	—	—	18	5	2	2	1	1	—	—	1
27	Młyńska	9	—	—	9	2	2	—	—	1	—	—	1
28	Most Dworcowy	—	1	—	1	1	—	—	1	1	1	—	—
29	Nad Bogdanką	2	—	1	3	5	5	—	—	2	1	—	1
30	Naramowicka	8	41	4	53	3	3	—	—	2	1	1	—
31	Niestachowska	—	4	—	4	3	3	—	—	2	2	—	—
32	Olimpijska	33	—	—	33	3	3	—	—	1	1	—	—
33	Piłkarska	62	—	—	62	2	2	—	—	1	1	—	—
34	Plac Drwęskiego	7	5	1	13	3	—	2	1	2	1	—	1
35	„ Ratajskiego	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
36	„ Wielkopolski	—	16	—	16	1	—	—	1	2	1	1	—
37	Polna	3	—	2	5	5	2	2	1	2	—	1	1
38	Poznańska	12	—	—	12	2	2	—	—	2	1	—	—
39	Przybyszewskiego	33	—	—	33	7	5	—	2	1	1	—	—
40	Rokossowskiego	9	6	1	16	3	3	—	—	1	1	—	—
41	Rynek Łazarski	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—

TABELA 1 (ciąg dalszy)

Lp.	Ulica (plac)	Ilość drzew				Ilość próbek				Ilość izolacji		
		c	e	m	ogółem	ogółem	t	nt	z	ogółem	pozytywn. C.u. O.ub.	negat.
42	Szanieckiej	15	—	—	15	6	1	—	5	3	—	3
43	Serbska	—	6	—	6	4	1	2	1	3	—	2
44	Skorupki	5	2	2	9	7	7	—	—	2	1	1
45	Starościańska	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—
46	Stolarska	4	—	—	4	5	1	—	4	1	—	1
47	Szelągowska	145	9	—	154	8	5	3	—	1	1	—
48	Teatr Polski	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
49	Topolowa	—	4	—	4	1	—	—	1	—	—	—
50	Towarowa	5	8	2	15	2	2	—	—	1	1	—
51	Ułańska	22	—	—	22	10	6	1	3	3	1	2
52	Umińskiego	51	—	—	51	11	7	—	4	2	1	1
53	Urbanowska	—	6	—	6	6	2	1	3	2	—	1
54	Warneńczyka	23	—	—	23	2	2	—	—	1	1	—
55	Wawrzyniaka	—	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—
56	Wazów	4	7	—	11	9	5	3	1	1	1	—
57	Wesoła	—	5	—	5	—	—	—	—	—	—	—
58	Wierzbicęce	59	—	2	61	4	3	1	—	2	1	1
59	Wujka	8	—	—	8	1	1	—	—	1	—	1
60	Wyspiańskiego	57	—	—	57	6	3	—	3	2	1	1
61	X	80	—	—	80	6	6	—	—	3	1	2
62	Y	1	13	—	14	2	2	—	—	1	—	1
63	Za Groblą	19	—	—	19	2	2	—	—	1	1	—
64	Zielona	3	—	—	3	8	6	—	2	4	—	3
65	Zielone Ogródki	2	2	—	4	—	—	—	—	—	—	—
66	Zygmunta Augusta	7	14	—	21	2	1	—	1	1	—	1
67	Zygmunta Starego	28	7	—	35	5	2	1	2	4	—	4
68	Żeromskiego	12	75	—	87	14	12	2	—	2	1	1
Razem		1513	525	44	2082	257	171	24	62	103	39	12
						100%	67%	9%	24%	100%	38%	12%

Objaśnienia znaków:

c — wiąz polny

e — „ szypułkowy

m — „ górski

t — typowe objawy dla holenderskiej choroby wiązów na przekrojach próbki

nt — nietypowe objawy dla holenderskiej choroby wiązów na przekrojach próbki

z — brak jakichkolwiek objawów chorobowych na przekrojach próbki

C.u. — *Ceratostomella ulmi*O.ub. — organizm uboczny (tzn. inny niż *Ceratostomella ulmi*)

X — Ulica nad Bogdanką; między ul. Pułaskiego i Al. Wielkopolską.

Y — Ślepe zakończenie ul. Grudzieniec (za ul. Niestachowską).

TABELA 2
Porażenie wiązów w latach 1946, 1947 i 1949

Stopień porażenia	Ogół wiązów			Wiązy polne			Wiązy szypułek			Wiązy górskie		
	1946	1947	1949	1946	1947	1949	1946	1947	1949	1946	1947	1949
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	714	209	162	654	198	145	49	7	17	11	4	—
	34%	10%	9%	43%	13%	11%	9%	1%	4%	25%	9%	—
2	404	196	293	291	157	205	106	38	84	7	1	4
	19%	10%	16%	19%	11%	16%	20%	7%	17%	5%	2%	10%
3	410	328	300	268	211	189	133	108	104	9	9	7
	20%	16%	17%	18%	14%	15%	25%	21%	21%	20%	20%	18%
4	343	699	540	189	456	328	143	233	200	11	10	12
	17%	34%	30%	12%	31%	26%	27%	46%	41%	25%	23%	31%
5	171	381	276	84	265	208	81	101	61	6	15	7
	8%	19%	15%	6%	18%	16%	16%	20%	13%	15%	34%	18%
6	40	229	242	27	199	212	13	25	21	—	5	9
	2%	11%	13%	2%	13%	16%	3%	5%	4%	—	12%	23%
	2082	2042	1813	1513	1486	1287	525	512	487	44	44	39
	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Przy rozpatrywaniu ogółu wiązów z punktu widzenia danych z r. 1946 uderza pewna regularność wyrażająca się w tym, że na ogół z silniejszym stopniem porażenia związane były mniejsze, a ze słabszymi większe ilości drzew. Całkiem inny stan rzeczy przedstawiają dane dla r. 1947. Tutaj liczebność stopnia „1” zmniejszyła się trzykrotnie, stopnia „2” dwukrotnie, stopnia „3” o 1/3, podczas gdy liczebność stopnia „4” i „5” dwukrotnie, a stopnia „6” nawet ponad pięciokrotnie wzrosła. W r. 1949 natomiast przy stosunkowo lekkim w stosunku do r. 1947 spadku ilości drzew zdrowych i zwiększeniu liczby obumarłych, zmniejszyła się dość znacznie ilość drzew silnie i bardzo silnie porażonych na korzyść słabego i średniego stopnia porażenia. Jeśli przy tym wziąć pod uwagę, że w grupie drzew obumarłych, wykazanych dla roku 1949, nagromadziły się drzewa z okresu dwu lat, to można wnioskować, że mimo najgorszej statycznie sytuacji zdrowotnej wiązów w r. 1949, w roku tym zaznaczyła się tendencja przeciwna dotychczasowemu, ku zamieraniu drzew zmierzającemu, przebiegowi choroby.

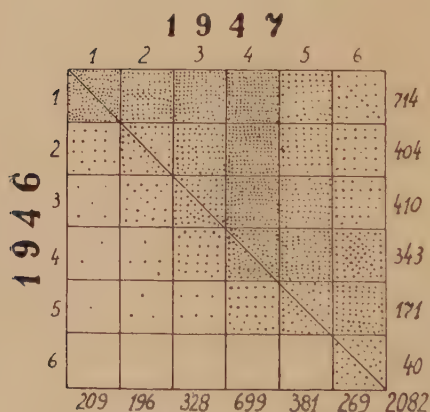
Liczebności stopni porażenia z r. 1946 w odniesieniu do samych tylko wiązów polnych wykazują konsekwentniejszy szereg malejący niż w przypadku ogółu wiązów. Dane z r. 1947 wskazują na silne pogorszenie się zdrowotności tej grupy wiązów, przy czym zwraca uwagę większy niż u ogółu drzew procent sztuk zamaryłych, co także można powiedzieć odnośnie stanu porażenia w r. 1949.

W przypadku wiązków szypułkowych szeregi utworzone z liczebności poszczególnych stopni porażenia mają w każdym z rozpatrywanych lat podobną strukturę, gdyż w każdym szeregu ilości drzew od zdrowych do silnie porażonych wzrastają, a od silnie porażonych do obumarłych maleją, przy czym grupy drzew obumarłych są najmniejsze. Tym niemniej szeregi te, jeśli chodzi o przebieg choroby na przestrzeni rozpatrywanych lat, nasuwają różne wnioski. W roku 1946 porażenie jest silne. W roku następnym jeszcze się pogarsza, ale równocześnie osiąga swą kulminację i punkt zwrotny, bo w roku 1949 liczebność drzew zdrowych i słabo porażonych jest więcej niż dwukrotnie większa niż w r. 1947, a głębsze stopnie porażenia są odpowiednio mniej liczne.

Omówienie grupy wiązków górskich nastąpi w następnym podpunkcie.

b) **Przedstawienie wykresowe.** Aby lepiej wnikać w dynamikę procesu chorobowego badanych wiązków podjęto próbę wykresowego przedstawienia materiału z obserwacji terenowych. Pierwszy z zastosowanych typów wykresów oparto o zasadę zwykle uwzględnianą przy robieniu tzw. tablic korelacji. Zarówno na osi odciętej wykresu jak i na rzędnej, rozmieszczono w odpowiedni sposób symbole stopni porażenia drzew, ustalone

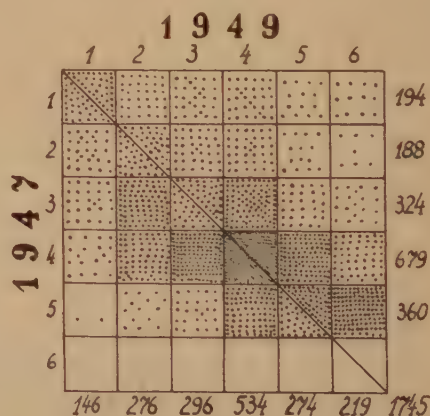
Wykresy 1—2. Przebieg choroby u ogółu wiązków od 1946—1949 r.



Wykres 1.

- A — 221 (10%)
B — 328 (16%)
C — 1533 (74%)

2082 (100%)



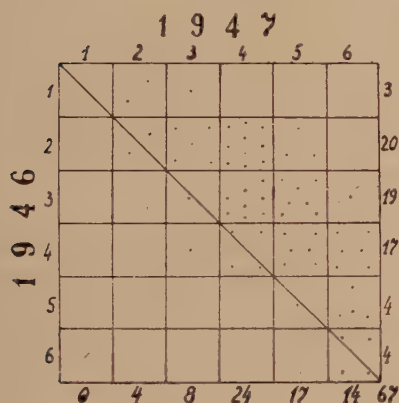
Wykres 2.

- A — 657 (38%)
B — 308 (17%)
C — 780 (45%)

1745 (100%)

w niniejszej pracy. Symbole na osi rzędnych przyjęto uważać za aktualne dla wcześniejszych ocen stopnia porażenia drzew (kwalifikacji zdrowotnej), a symbole na osi odciętych dla ocen późniejszych. Jeden punkt na takim wykresie przedstawia porażenie ściśle określonego drzewa w dwu różnych punktach czasu, np. w r. 1946 i 1947. Gotowy wykres ma kształt kwadratu. Punkty leżące w kratkach przeciętych przez przekątną łączącą początek układu współrzędnych z przeciwległym narożnikiem kwadratowego pola wykresowego oznaczają drzewa, których stopień porażenia w rozpatrywanym okresie czasu nie uległ zmianie. Wszelkie punkty leżące na lewo od przekątnej odpowiadają drzewom o polepszonym stanie zdrowotnym, po prawej zaś drzewom, których porażenie się pogłębiło. W dalszym

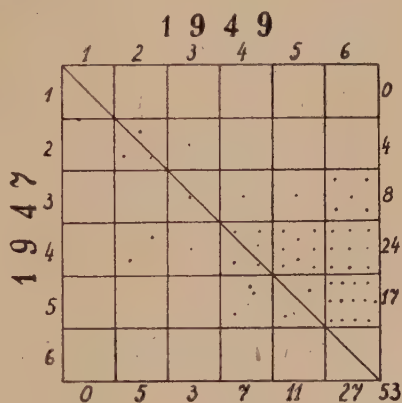
Wykresy 3—4. Przebieg choroby u wiązów polnych ponad 10 m wysokich od 1946—1949 r.



Wykres 3.

A — 1 (1%)
B — 9 (14%)
C — 57 (85%)

67 (100%)



Wykres 4.

A — 6 (9%)
B — 9 (19%)
C — 38 (72%)

53 (100%)

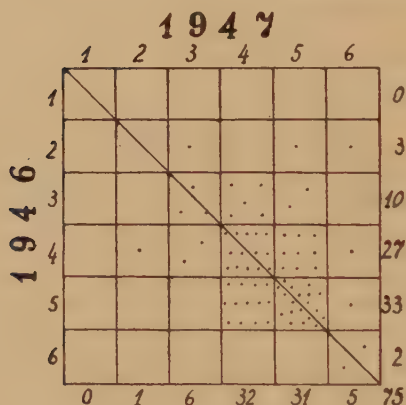
ciągu tej pracy wiązy, których stan zdrowia w danym okresie czasu się poprawił, będą zaliczane do grupy „A”, drzewa o niezmiennym stanie zdrowotnym do grupy „B”, drzewa zaś, których zdrowotność się pogorszyła, do grupy „C”. Cyfry wyrzucone poza obręb boków kwadratu wykresowego, przeciwległych osiom układu, oznaczają ilości drzew w odnośnych stopniach porażenia. Na przeciw osi rzędnych figurujące cyfry odnoszą się do wcześniejszych ocen zdrowotności drzew, przeciwległe osi odciętych do ocen późniejszych.

Jeśli sumy poszczególnych kategorii wiązków rozpatrywanych na odnośnych wykresach są różne dla okresów 1946—1947 i 1947—1949, wypływa to stąd, że w ostatnim okresie nie brano pod uwagę tych drzew, które zamarały w okresie poprzednim. Ponadto — jeśli chodzi o wiązki polne — w okresie 1947—1949 nie uwzględniono też drzew z ul. X (80 sztuk) i 3 sztuk z ul. Grunwaldzkiej.

Przedstawiony typ wykresów pozwala na zbadanie samego mechanizmu zmian zachodzących z czasem w przebiegu choroby u określonych grup drzew. W wykresach 1—6 przedstawiono te stosunki dla trzech następujących grup wiązków: dla ogółu badanych drzew, dla wszystkich wiązków polnych wysokich ponad 10 m. i dla wiązków szypułkowych (przeważnie) przy ul. Żeromskiego.

Z poszczególnych wykresów widać, że obok pogorszeń stanu zdrowotności (grupa „C”) występują też polepszenia (grupa „A”) i stany równowagi (grupa „B”), przy czym z biegiem rozpatrywanych okresów czasu stosunki te zdają się układać coraz pomyślniej, zwłaszcza jeśli chodzi o wiązki szypułkowe.

Wykresy 5—6. Przebieg choroby u wiązków (głównie szypułkowych) przy ul. Żeromskiego od 1946—1949 r.



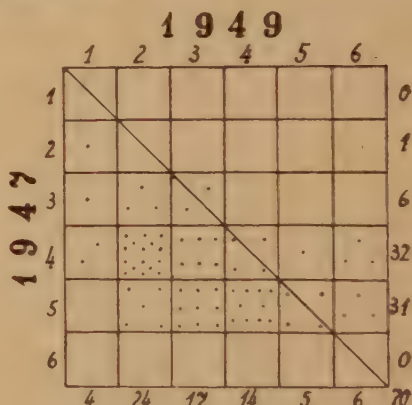
Wykres 5.

A — 16 (22%)

B — 37 (49%)

C — 22 (29%)

75 (100%)



Wykres 6.

A — 53 (76%)

B — 10 (14%)

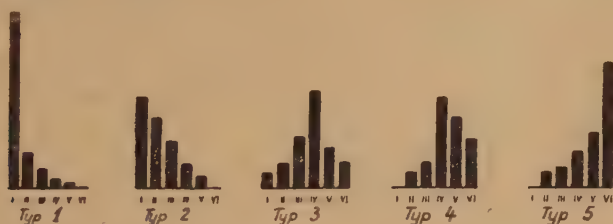
C — 7 (10%)

70 (100%)

Omawiane wykresy wykazują dalej, że drzewa zdążające ku coraz niższym stopniom porażenia uzyskują jakoby ostatnią szansę na pomyślny dla nich zwrot w przebiegu chorobowym, jeśli zdołają

się zatrzymać przy stopniu „4”. Przejście do jeszcze niższych stopni porażenia oznacza z reguły szybkie i pewne zamarcie danego drzewa. Dalej warto jeszcze zaznaczyć, że powyższe wykresy pozwalają nie tylko na uchwycenie zmiany liczebności jakiegoś stopnia porażenia w rozpatrywanym okresie czasu, ale także na rzecz wzgl. kosztem których stopni ona się dokonała.

W oparciu o przedstawione wykresy korelacyjne lub odpowiedni materiał tabelaryczny (jak np. na tabeli 2) sporządzono jeszcze wykresy innego rodzaju, mianowicie o charakterze słupowym. Wykresy te zacierają wprawdzie szereg szczegółów wyjaśniających dynamikę procesu chorobowego, ale z drugiej strony są przejrzystsze i ułatwiające przez to porównywanie ze sobą stanów porażenia różnych grup drzew. Liczebności stopni porażenia wyrażono tu w procentach ogólnej ilości drzew rozpatrywanej grupy i przedstawiono graficznie w formie odpowiednio wysokich słupów, ustawionych obok siebie w kolejności następujących po sobie stopni porażenia, od stopnia „1” (z lewej) zaczynając. Sześć takich słupów odpowiadających sześciu stopniom skali porażenia, wziętych razem, przyjęto uważać za układ wyższego rzędu, zwany stanem (nie „stopniem”) porażenia. Aby uzyskać miernik dla porównawczego traktowania stanów porażenia rozpatrywanych grup drzew w różnych punktach czasu, ustalono 5 zasadniczych typów wykresów słupowych, przedstawionych na ryc. 7.



Ryc. 7. Typy wykresów słupowych.

Typy te można scharakteryzować następująco:

- Typ 1. — Słaby stan porażenia: powyżej 50% drzew zdrowych.
 Typ 2. — Średni stan porażenia: drzew zdrowych mniej niż 50%, lecz stopnie porażenia „1”, „2” i „3” przeważają liczebnie nad pozostałymi.
 Typ 3. — Silny stan porażenia: Największą liczebność osiąga stopień porażenia „4” przy równoczesnym utrzymywaniu się głębszych stopni na poziomie co najmniej o połowę od niego niższym.

Typ 4. — Bardzo silny stan porażenia: Przy dalszej znacznej (kulminującej albo bliskiej tego stanu) liczebności stopnia „4” stopień „5” osiąga więcej niż połowę poprzedniego, wyrównuje się z nim, lub go nawet przewyższa, przy równoczesnym zwykle podnoszeniu się także stopnia „6” (drzewa obumarłe). Łączna liczebność stopni „2” i „3” nie może jednak przewyższać liczebności stopni „5” i „6”.

Typ 5. — Beznadziejny stan porażenia: Kulminuje liczebność w stopniu porażenia „6”.

Wykresy od nr 7—19 mają charakter słupowy. Poniżej następuje krótka charakterystyka przebiegu chorobowego przede wszystkim grup wiązków objętych zamieszczonymi w niniejszej pracy wykresami zarówno korelacyjnymi jak i słupowymi.

O g ó ł w i ą z ó w (wykresy 1, 2, 7). — W r. 1946 stan porażenia był mniej więcej średni, w r. 1947 silny, w r. 1949 w dalszym ciągu silny z lekką tendencją do nawrotu ku lżejszym stopniom porażenia. Kiedy bowiem ilość drzew z grupy „A” dla okresu 1946—1947 wynosiła 10%, to w ciągu następnego dwulecia podniosła się ona do 38%, a rozpatrywana łącznie z grupą „B” osiągnęła w drugim okresie 55%, w przeciwstawieniu do 33% z poprzedniego okresu.

O g ó ł w i ą z ó w p o l n y c h (wykres 8). — Wiązy te stanowią 75% całkowitej ilości badanych drzew. Stan porażenia w latach 1947—1949 jest bardzo silny (w r. 1946 — średni), śmiertelność stosunkowo bardzo duża. Tym niemniej w r. 1949 zaznacza się pewien zwrot przebiegu choroby ku lżejszym stopniom porażenia.

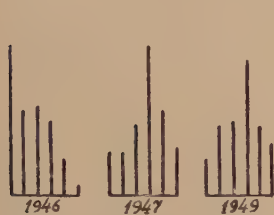
Rozpatrywanie wiązków polnych w zależności od ich wieku prowadzi do poniższych wniosków.

W i ą z y p o l n e d o 6 m w y s o k o ś c i (wykres 9). — Stany porażenia w latach 1946, 1947 i 1949 są kolejno: średni, bardzo silny i bardzo silny. W okresie badawczym widać stosunkowo wielką łatwość przechodzenia wiązków z silniejszych stopni porażenia do lżejszych i odwrotnie.

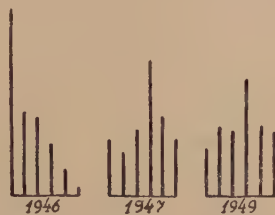
W i ą z y p o l n e 7—10 m w y s. (wykres 10). — Stany porażenia w kolejnych latach okresu badań są: średni, silny i silny z wyraźną tendencją nawrotową ku lżejszym stopniom porażenia w roku ostatnim.

W i ą z y p o l n e p o n a d 10 m w y s. (wykresy 3, 4, 11). — W r. 1946 stan porażenia jest średni, w r. 1947 bardzo silny, w r. 1949 beznadziejny. Lekka tendencja nawrotowa i tu się zaznacza, ale nie wydaje się aby to mogło mieć jakieś znaczenie praktyczne.

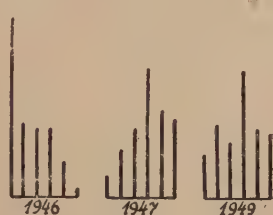
Ogólnie o wiązach polnych można powiedzieć, że z r. 1946 na 1947 wykazały gwałtowne pogorszenie się stanu zdrowia, w r. 1949 stan ten trwał nadal a pomyślny zwrot w przebiegu choroby, jaki się wtedy zaznaczył, był stosunkowo słaby i okupiony poważnymi stratami w drzewach zamierających.



Wykres 7.



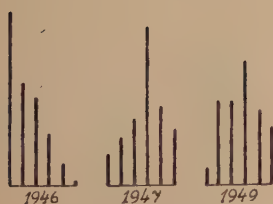
Wykres 8.



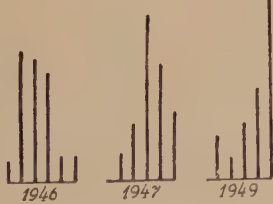
Wykres 9.

Wiązy polne ogłowione (wykres 12). — W r. 1946 wykazują one zaledwie słaby stan porażenia, który w roku następnym nieco się pogorszył a w r. 1949 schodzi do średniego. Pomimo stosunkowo pomyślnego statycznie stanu rzeczy, tendencja rozwoju choroby jest niekorzystna.

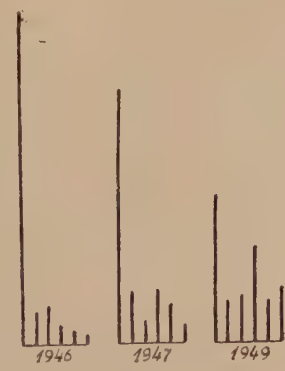
Ogół wiązów szypułkowych (wykres 13). — Stan porażenia jest nieprzerwanie silny przy stosunkowo nikłej wszakże śmiertelności drzew i wyraźnej tendencji nawrotowej procesu chorobowego w okresie 1947—1949.



Wykres 10.



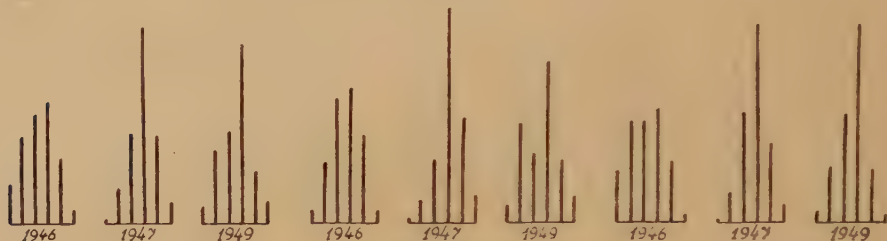
Wykres 11.



Wykres 12.

Wiązy szypułkowe do 6 m wys. — Stan porażenia ciągle silny. Uderza przechodzenie znacznej ilości drzew z cięższych stopni porażenia do lżejszych przy równoczesnej dość dużej śmiertelności innych.

Wiązy szypułkowe 7—10 m i ponad 10 m wys. (wykresy 14 i 15). — Pomimo silnego stanu porażenia śmiertelność (zwłaszcza u wiązków ponad 10 m wys.) bardzo niska, a tendencja nawrotowa ku lżejszym stopniom porażenia w okresie 1947—1949 znaczna (silniejsza u wiązków 7—10 m wys.).



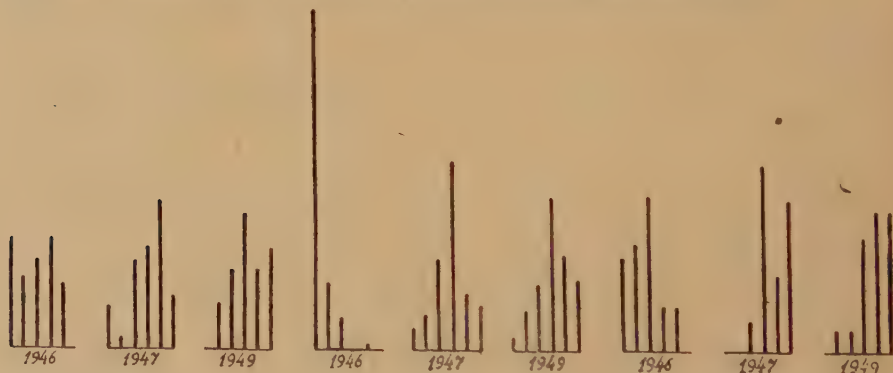
Wykres 13.

Wykres 14.

Wykres 15.

Ogólnie, wiązy szypułkowe, prócz najmłodszej grupy, wykazały — mimo silnego stanu porażenia — stosunkowo bardzo wysoką, jakby dopiero w walce z chorobą zdobywaną, odporność względem niej.

Wiązy górskie (wykres 16) — wykazują w r. 1946 niemal silny stan porażenia, w następnym stan ten przechodzi w bardzo silny, pogłębiając się jeszcze bardziej w r. 1949. Śmiertelność jest bardzo wysoka, a tendencje nawrotowe bardzo nikle.



Wykres 16.

Wykres 17.

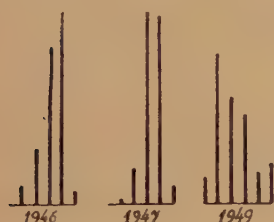
Wykres 18.

Objaśnienia do wykresów 7—18.

Wykres 7 — Ogół wiązków; wykres 8 — Ogół wiązków polnych; wykres 9 — Wiązy polne do 6 m wysokości; wykres 10 — Wiązy polne 7—10 m wys.; wykres 11 — Wiązy polne ponad 10 m wys.; wykres 12 — Wiązy polne ogłowione; wykres 13 — Ogół wiązków szypułkowych; wykres 14 — Wiązy szypułkowe 7—10 m wys.; wykres 15 — Wiązy szypułkowe ponad 10 m wys.; wykres 16 — Ogół wiązków górskich; wykres 17 — Wiązy (polne) przy ul. Wierzbicice; wykres 18 — Wiązy (polne) przy ul. Łukaszewicza.

Wykresy słupowe 17—19 charakteryzują (przykładowo) przebieg choroby wśród mniejszych grup wiązów, związanych swym występowaniem z różnymi ulicami Poznania. Grupy wiązów wzięte pod uwagę w wykresach 17—18 składały się niemal wyłącznie z wiązów polnych, pozostała prawie w całości z wiązów szypułkowych.

Przy ul. Łukaszewicza i Przybyszewskiego już w r. 1946 wystąpiło porażenie prawie silne lub silne, które w r. 1947 przeszło w bardzo silne, a w r. 1949 w beznadziejne. Zadrzewienie wiązowe przy ul. Wypiańskiego, pomimo tylko średniego stanu porażenia w r. 1946, przeszło w r. 1949 w beznadziejne. Grupa wiązów przy ul. Kórnickiej natomiast wyjątkowo przez dwa pierwsze lata utrzymała się przy średnim porażeniu, przechodząc (dość opornie) w silne dopiero w r. 1949. — Ul. Wierzbicice (i Piłkarska) wykazywała wprawdzie w r. 1946 porażenie słabe, doszła jednak w r. 1949 do bardziej niż silnego.



Wykres 19 — Wiązy (przeważnie szypułkowe) przy ul. Żeromskiego.

Ulice z wiązami szypułkowymi wykazywały — z wyjątkiem ul. Krakowskiej — już w r. 1946 silny, a w przypadku ul. Żeromskiego nawet bardzo silny stan porażenia. Przy tym jednak śmiertelność drzew utrzymywała się na stosunkowo bardzo niskim poziomie. Grupa wiązów przy ul. Żeromskiego zdaje się być przykładem dramatycznej, ale raczej zwycięskiej walki rośliny gospodarza (żywiciela) z czynnikiem chorobowym. W okresie czasu od 1947—1949 nastąpił tu zdecydowany zwrot w przebiegu choroby, wyrażający się przejściem z bardzo silnego stanu porażenia do średniego z kulminacją w stopniu drugim.

Prace laboratoryjne

4. Materiał do badań laboratoryjnych. — Składał się on z ok. 30 cm długich odcinków pędów wiązowych pobranych w trakcie prac terenowych z drzew porażonych lub zdrowotnie podejrzaných. W zależności od obrazów przekroju próbki te podzielono na trzy poniższe grupy:

Grupa „t”: Obraz przekrojów próbek odpowiadający typowym objawom holenderskiej choroby wiązów.

Grupa „nt”: Obraz przekrojów próbek odbiegający od wyglądu zarówno przekrojów pędów zdrowych jak i pędów porażonych holenderską chorobą wiązów. Zaliczone tu próbki charakteryzowały się najczęściej jednolitym, jaśniej lub ciemniej brunatnym, czasem prawie czarnym przebarwieniem środkowej części przekroju poprzecznego, przy czym w niektórych przypadkach przebarwienie to dochodziło w jednym lub kilku miejscach aż do kory pędu.

Grupa „z”: Obraz przekrojów próbek właściwy pędom zdrowym.

Próbki pobrano w latach 1946 i 1947. W roku 1946 zebrano ich 260 sztuk, z czego 92 (35%) wypadło zaliczyć do grupy „t”, prawie wszystkie pozostałe do grupy „z”, a kilka do grupy „nt”. W miesiąc po zebraniu próbek przystąpiono do wyosobnienia z nich czynnika sprawczego choroby. Przedsięwzięcie to jednak, najprawdopodobniej wskutek zbytniego wyschnięcia próbek, nie powiodło się.

Próbki z r. 1947 podzielono natychmiast po zebraniu na grupy „t”, „nt” i „z”, po czym bezzwłocznie dokonano z nich wyosobnienia.

Tabela 1 przedstawia ogół próbek według miejsc ich pobrania i przynależności do poszczególnych grup objawowych.

5. Z a s t o s o w a n i e m e t o d y s z t u c z n y c h k u l t u r. — Głównym celem zastosowania w niniejszej pracy tej metody badawczej było ściśle skojarzenie zaobserwowanych w ciągu prac terenowych objawów chorobowych wiązów z czynnikiem sprawczym. Realizowano ten cel przez wyizolowywanie z nagromadzonych próbek chorych wiązów zawartych w nich mikroorganizmów i ich identyfikowanie. Niemal wszystkie izolacje przeprowadzono na pożywce agarowo-dekstrozowo-ziemniaczanej o pH ok. 6,5. Skład tej pożywki był następujący: 2% agaru. 2% dekstrozy i ekstrakt z 400 g ziemniaków na 1 litr pożywki.

Najczęstszym rezultatem izolacji był — jak się tego można było spodziewać — grzyb *Ceratostomella ulmi* (Schw.) Buism., czyli sprawca holenderskiej choroby wiązów. Przebieg izolacji tego grzyba był z reguły następujący: W kilka dni po umieszczeniu sterylnie pobranego, świeżego kawałeczka chorego drewna wiązowego w pożywce, ukazywał się na nim zrazu biały nalot grzybniowy, który następnie przechodził na pożywkę, układając się zwykle w koncentryczne strefy i wydzielając z siebie śluzową, lśniąca, kremowo-białą substancję, będącą z jednej strony rezultatem masowego owocowania grzybni powietrznej i następującego po nim pączkowania koni-

diów, a z drugiej następstwem właściwości pęcznienia ścianek tych zarodników przy dostatecznych warunkach wilgotności. Po kilku dalszych dniach pojawiały się na jasnym tle kolonij grzybowych wielu kultur brunatno-czarne, matowe plamki, które przy badaniu mikroskopowym okazywały się skupieniami koremiów. W końcu na pewnej liczbie kultur ukazywały się długie, szczecinkowate utwory grzybniowe o zabarwieniu ciemno-brunatnym, odpowiadające opisanym przez Wollenweber'a (1928) „kosmykom“ wzgl. utworom przez innego autora (Tubeu f 1935) określanym jako sterylne koremia.

W tabeli 3 są zestawione wymiary elementów morfologicznych omawianego grzyba w oparciu o pomiary własne i Wollenweber'a (1928).

TABELA 3

Wymiary elementów morfologicznych u *Ceratostomella ulmi* (Schw.) Buisman

Element morfologiczny	Pomiary własne	Pomiary Wollenweber'a
1	2	3
Strzępki powietrzne (grubość)	1,2 — 3,6 μ	
Strzępki pożywkowe (grubość)	1,8 — 6,6 μ	0,5 — 6,0 μ *
Strzępki podkładowe i trzonków koremiatnych (grubość)	1,8 — 2,4 μ	—
Odległości między ściankami poprz. w strzępkach trzonków i podkładek koremiatnych	21,6 — 26,4 μ	—
Konidia pionnotowe: przeciętnie	7,0 $\times$ 3,3 μ	5,7 $\times$ 2,6 μ
najczęściej	6,0 — 7,2 $\times$ 3,0 — 3,6 μ	5,8 — 6,2 $\times$ 2,7 — 3,0 μ
absolutne wahania	4,8 — 11,4 $\times$ 1,8 — 4,8 μ	4 — 12 $\times$ 2 — 4,5 μ
Konidia koremiatne: przeciętnie	5,0 $\times$ 2,2 μ	3,7 $\times$ 1,7 μ
najczęściej	4,8 — 5,4 $\times$ 1,8 — 2,4 μ	3,7 — 3,8 $\times$ 1,5 — 1,7 μ
absolutne wahania	1,8 — 6,0 $\times$ 1,2 — 2,4 μ	2,5 — 11,0 $\times$ 1,0 — 3,0 μ
Koremia	300 — 1400 $\times$ 20 — 90 μ	200 — 1500 $\times$ 10 — 100 μ
Kosmyki grzybniowe	od kilku mm — 1,5 cm	do kilku cm

*) Wollenweber podaje tylko dane dla grzybni w ogóle

Wymiary przeciętne i najczęstsze konidiów według własnych pomiarów okazały się większe niż u W o l l e n w e b e r'a; poza tym znaczniejsze różnice nie wystąpiły. Potwierdziły się dane W o l l e n w e b e r'a, według których konidia koremialne mają być o ok. 1/4 krótsze i cieńsze od pionnotowych (tzn. wytwarzanych na strzępkach grzybni powietrznej wzgl. luźnych trzonkach konidialnych i mnożących się następnie drogą pączkowania). Również potwierdziło się twierdzenie innego autora (M a y 1930), według którego kształty i rozmiary koremiospor mają być jednolitsze. Strzępki podkładek i nóżek koremialnych uderzały jednolitością ich grubości i odstępów między ściankami poprzecznymi. Tzw. „kosmyki“ grzybniove różniły się od koremiów znacznie większą długością, mniejszą skłonnością do formowania się w „główki“ na szczycie i zupełnym brakiem owocowania.

Oprócz *Ceratostomella ulmi* wyizolowano z próbek wiązowych jeszcze 7 innych grzybów. Dwa z nich zdołano oznaczyć do rodzaju (*Phomopsis* sp. i *Aposphaeria* sp.). Pozostałe w dotychczasowych warunkach sztucznej hodowli jeszcze nie owocowały.

Ogół wyników z izolacji dokonanych z próbek zebranych w r. 1947 jest podany w tabeli 1 i 4.

TABELA 4

Porównanie rodzajów użytych próbek wiązowych z wynikami dokonanych z nich izolacji

Rodzaj próbek użytych do izolacji	I o ś ć i z o l a c y j			
	p o z y t y w n y c h		negatywnych	Razem
	<i>Ceratostomella ulmi</i>	Organizmy uboczne		
1	2	3	4	5
t	36	8	34	78
nt	—	1	4	5
z	3	3	14	20
Razem	39	12	52	103

Objaśnienie znaków: t — gałązki z typowymi objawami holenderskiej choroby wiązów na przekrojach,
 nt — gałązki z nietypowymi objawami dla holenderskiej choroby wiązów na przekrojach,
 z — gałązki z przekrojami pozbawionymi jakichkolwiek objawów chorobowych.

Z tabeli 1 i 4, można wysnuć poniższe wnioski.

1. Zaledwie ok. 1/2 wszystkich izolacji miała przebieg pozytywny, reszta zaś negatywny.
2. Pośród grzybów otrzymanych z izolacji, w 39 przypadkach stwierdzono obecność *Ceratostomella ulmi*, a w 12 obecność innych grzybów, które w dalszym ciągu niniejszej pracy będą określane jako organizmy uboczne (skrót w tabelach: „o. ub.“).
3. *Ceratostomella ulmi* otrzymywano głównie z grupy próbek „t“, następnie w znacznie mniejszym stopniu z próbek grupy „z“, ani razu natomiast z próbek grupy „nt“.
4. Z próbek grupy „t“ wyizolowano w niektórych przypadkach grzyby inne niż *Ceratostomella ulmi*. Wypada wszakże dodać, że w czterech przypadkach z próbek grupy „t“ wyosobniono obok grzyba ubocznego również spodziewanego przy takim obrazie chorobowym sprawcę holenderskiej choroby więzów.
5. W poważnej ilości przypadków (ok. 50%) otrzymywano negatywne wyniki izolacji, pomimo, że użyte do wyosobnień próbki były świeże, a obrazy chorobowe na ich przekrojach typowe dla holenderskiej choroby więzów. Pewne światło na ten stan rzeczy wydają się rzucać niekompletne jeszcze dotąd wyniki badań nad żywotnością grzybni *Ceratostomella ulmi* w porażonych pędach więzów, prowadzonych także w Poznaniu, lecz w okresie późniejszym. Wchodzącą w rachubę część tych wyników przedstawia tabela 5.

W badaniach z r. 1946—1949 nie brano pod uwagę rozmieszczenia przebarwień na płyciej lub głębiej leżące słoje roczne próbki, tu natomiast uczyniono to. Wynik izolacji zależy najprawdopodob-

TABELA 5

Wyniki izolacji ze 112 próbek więzowych (zebranych w czasie od września 1951 r. do stycznia 1952 r.) w zależności od rozmieszczenia przebarwień na ich przekrojach.

Umieszczenie przebarwień na przekroju próbek grupy „t“	Ilość próbek	Wyniki wyosobnień			
		Ceratostom. ulmi		Inne grzyby	
		bezwzgl.	%	bezwzgl.	%
w najmłodszym słoju rocznym	63	41	65	9	14
w starszych sło- jach rocznych (od 2—4go)	49	8	16	7	14
R a z e m	112	49	44	16	14

niej także od wieku porażenia danego pędu. Pędy porażone przed dwoma laty (a tym bardziej jeszcze wcześniej) wydają się nie mieć już żywej grzybni *Ceratostomella ulmi*, co zgadza się m. in. z wynikami radzieckich badaczy (R o w s k i j. O z o l i n. S o k o ł o w i e w a 1950).

Warto też zwrócić uwagę na to, że ilość pozytywnych względem *Ceratostomella ulmi* wyosobnień jest tu niemal taka sama jak w tabeli 4, a dalej, że ilość wyosobnień grzybów innych niż *C. ulmi* nie wykazuje żadnej zależności od rozmieszczenia przebarwień na przekrojach próbek. Że w odosobnionych wypadkach wyosobniono *Ceratostomella ulmi* także z próbek o przebarwieniach umiejscowionych w starszych słojach rocznych można tłumaczyć tym, że najmłodszy słoć roczny mógł być świeżo porażony przez grzyba, tak iż wpływ jego obecności nie zdołał się jeszcze przejawiać w formie przebarwień. Przypuszczenie takie popierają niektóre wyniki izolacji z próbek grupy „z” przedstawione w tabeli 4, gdzie pomimo braku jakichkolwiek przebarwień na przekroju, wyosobnienia były pozytywne względem *C. ulmi*. W literaturze również podkreśla się możliwość zachodzenia takich ewentualności (D o m i n i k 1936). W konkluzji można zatem przyjąć, że w granicach daleko posuniętego prawdopodobieństwa wszystkie próbki wiązowe z grupy „t”, o których jest mowa w tabelach 4 i 5, można traktować jako porażone w swoim czasie przez sprawcę holenderskiej choroby wiązków.

Ograniczając się teraz do treści samej tabeli 4 można z kolei przyjąć, że ok. 79% rozpatrywanych w niej próbek (wszystkie z grupy „t” i 3 z grupy „z”) było w swoim czasie porażonych przez grzyba *Ceratostomella ulmi*, ok. 17% (4 z grupy „nt” i 14 z grupy „z”) było wolnych od czynników pasożytniczych, a ok. 4% (1 z grupy „nt” i 3 z grupy „z”) zawierało grzyby wyłącznie inne niż *C. ulmi*.

UWAGI KOŃCOWE

Jak wynika z tabeli 1 próbki przeznaczone do badań laboratoryjnych były pobierane równomiernie z całej powierzchni miasta Poznania. Okoliczność ta upoważnia w znacznej mierze do rozciągnięcia wyników otrzymanych w pracowni na ogół wiązków objętych pracami terenowymi. Na tej podstawie można przyczynę niedomagań wiązków poznańskich upatrywać przede wszystkim (w ok. 79%) w występowaniu grzyba *Ceratostomella ulmi*, następnie (w ok. 17%) w bliżej nie określonych czynnikach niepasożytniczych i (w ok. 4%)

w innych grzybach niż *C. ulmi*, których ew. patogeniczne własności należało by jednak dopiero sprawdzić.

Z badań terenowych i laboratoryjnych przedstawionych powyżej wynika, że wiązy polne i górskie, występujące na terenie Poznania, były znacznie podatniejsze na holenderską chorobę wiązów niż wiązy szypułkowe. Wyraziło się to szczególnie dużymi różnicami w śmiertelności tych gatunków w badanym czasokresie, co przedstawia tabela 6.

TABELA 6

Śmiertelność wiązów m. Poznania w czasokresie od 1946 — 1949 r.

I l o ś ć w i ą z ó w											
Ulmus campestris			Ulmus effusa			Ulmus montana			U. campestris, U. montana i U. effusa		
Ogółem szt.	zamarłych		Ogółem szt.	zamarłych		Ogółem szt.	zamarłych		Ogółem szt.	zamarłych	
	szt.	%		szt.	%		szt.	%		szt.	%
1513	438	29	525	59	11	44	14	32	2082	511	25

Najwłaściwszym zatem gatunkiem wiązów dla miasta Poznania wydaje się być wiąz szypułkowy. Jemu by należało poświęcić główną uwagę przy pielęgnacji już istniejących zadrzewień wiązowych jak i ew. zakładaniu nowych. Wysuwane wobec tego gatunku zastrzeżenia (W o l l e n w e b e r i S t a p p 1928), w myśl których ma on wytwarzać zbyt płytki system korzeniowy i przez to szkodliwie wpływać na nawiechrznie ulic i szos przy których rośnie, nie znajdują w warunkach badanego terenu uzasadnienia. Być może, że mała ilość opadów, charakterystyczna dla Poznania, i znaczna głębokość występującej tu piaszczystej gleby, skłaniają wiązy szypułkowe do głębszego zakorzeniania się niż w innych warunkach.

Jeśli chodzi o wiązy polne, to wszędzie tam, gdzie ich stan porażenia w r. 1949 był beznadziejny lub bardzo silny ale z niekorzystną tendencją rozwojową procesu chorobowego, należałoby je zupełnie zlikwidować. Pozostałe, zwłaszcza zdradzające wyraźny nawrót ku lżejszym stopniom porażenia (np. na ul. Jarochońskiego), można by próbować ratować, a najlepiej się zapowiadające egzemplarze wykorzystać jako materiał wyjściowy dla ew. ponownego wprowadzenia wiązów na teren miasta.

STRESZCZENIE

W czasokresie od 1946—1949 r. przeprowadzono na terenie m. Poznania badania nad przebiegiem holenderskiej choroby wiązków (*Ceratostomella ulmi* (Schw.) Buism.).

Zbadano 2082 drzewa, w tym 1513 wiązków polnych, 525 wiązków szypułkowych i 44 wiązki górskie.

Przyczyną ogółu niedomagań wiązków poznańskich okazał się w ok. 79% grzyb *Ceratostomella ulmi*, w ok. 17% czynniki nieorganiczne, a w ok. 4% — być może — inne grzyby niż *C. ulmi*.

Konidia *C. ulmi* wykazały rozmiary nieco większe niż podane przez Wollenwebera'a (1928).

Ogólne straty w drzewach obumarłych w ciągu wymienionego czterolecia wyniosły 511 sztuk, czyli 25% ogółu badanych drzew. Największą śmiertelność wykazały wiązki górskie, mniejszą polne, najmniejszą szypułkowe.

Wiązki polne ogłowione wykazały wprawdzie nikłe porażenie w latach 1946 i 1947, ale tendencja rozwojowa choroby u tej grupy drzew była niepomyślna.

Wiązki polne do 6 m wysokości i wiązki szypułkowe do 6 m wys. wykazywały dalece posuniętą chwiejność biologiczną, czym tłumaczy się znaczna ilość drzew o wybitnie polepszającym się stanie zdrowia w rozpatrywanych okresach czasu (zwłaszcza od 1947—1949 r.) przy równoczesnej wysokiej śmiertelności innej części drzew.

Wiązki polne 7—10 m wys. wykazały większe zrównoważenie w przebiegu choroby niż pozostałe klasy wysokościowe tego gatunku. Charakteryzował je dosyć nagły przeskok z średniego stanu porażenia (patrz „typy stanów porażenia“ na ryc. 7) w r. 1946 do silnego w r. 1947, i pozostawanie na tym poziomie aż do r. 1949, w którym jednak zaznaczył się już nawrót ku lżejszym stopniom porażenia, okupiony co prawda wysoką śmiertelnością innej części drzew tej grupy. Wiązki polne ponad 10 m wys. nie rokowały nadziei na przyszłość. W r. 1949 stan ich był beznadziejny. To samo można powiedzieć o ogóle wiązków górskich.

Najwięcej nadziei na przyszłość budziły wiązki szypułkowe. Choć już od r. 1946 stan ich porażenia był przeważnie silny, a na ul. Żeromskiego nawet bardzo silny, to jednak śmiertelność ogra-

niczała się tu do stosunkowo bardzo niskiego procentu drzew, a w okresie od 1947—1949 r. zaznaczył się w wielu przypadkach bardzo daleko idący, korzystny zwrot w procesie chorobowym.

Przebieg choroby u poszczególnych grup wiązów w okresie badawczym przedstawiono tabelarycznie i wykresowo. Wykresy zastosowano dwojakiego rodzaju, korelacyjne i słupowe.

W uwagach końcowych niniejszej pracy podano — w nawiązaniu do wyników badań — pewne sugestie, mogące — zdaniem autora — mieć znaczenie dla zagadnienia uzdrowienia istniejących w Poznaniu zadrzewień wiązowych i ew. wprowadzenia nowych na tym terenie.

SUMMARY

During the course of four years (1946—1949) observations were made on the progress of the Dutch elm disease on the area of Poznań (Poland). The field observations were completed by isolations of the pathogen from elm samples.

The results obtained are considered in relation to the species and age of the elms.

From the 2082 elm trees examined 511 have died. The highest mortality demonstrated *Ulmus montana* Smith, then *U. campestris* L., and the lowermost *U. effusa* Willd. The last elm species showed a distinct tendency to recovering.

LITERATURA

1. B o y c e J. S., 1948. Forest Pathology. New York Toronto London.
2. D o m i n i k T., 1936. Spostrzeżenia i rozważania nad holenderską chorobą wiązów powodowaną przez *Graphium ulmi* Schwarz. Roczn. Nauk Roln. i Leśn. XXXVIII.
3. D o m i n i k T. i Z a l e s k i K., 1936. Groźna choroba wiązów i możliwości jej zwalczania. Roczn. Nauk Roln. i Leśn. XXXVI.
4. K o z i k o w s k i A., 1948. Entomologia lasowa. Poznań. Skrypt.
5. M u m e n t h a l e r E., 1947. Das Ulmensterben in Bern. Schweiz Z. Forstw. 98: 2391242. (Rev. Appl. Mycol. 27; 102. 1948).
6. R o w s k i j W. M., O z o l i n G. P., S o ł o w i e w a, A. J., 1950. Selekcja ilmov na ustożczliwość protiv gołandskiej bolezn. Lesnoje choziajstwo. 4. 43-45.
7. S i e m a s z k o W., 1935. Naczyniowa choroba wiązów w Polsce. Roczniki Nauk Ogrodniczych.
8. S p i e r e n b u r g D., 1922. Een onbekende ziekte in de iepen. II Vrs. l. en Meded Plantenziektenkundigen Dienst te Wageningen. 24.

9. T u b e u f. C., 1935. Werdegang der Erforschung der sog. Ulmenkrankheit in Europa. Zeitschr. f. Pflkr. u. Pflanzenschutz. 45. 49-73 i 161-189.
10. W e l c h D. S., H e r r i c k G., W., C u r t i s R. W., 1934. The Dutch elm disease. Cornell Univ. Extension Bul. 290.
11. W o l l e n w e b e r H. W., S t a p p C., 1928. Untersuchungen über die als Ulmensterben bekannte Baumkrankheit. Arb. biol. Reichsanstalt f. L. u. Forstw. 16. 283-324.

Wartości witaminowe sian z poszczególnych typów łąk województwa białostockiego

Vitamin content of the hay from different meadows in the palatinate Białystok

IRENA ZAWADZKA

(wpłynęło 15. X. 1952 r.)

Dotychczas o wartości siana decydowała ilość zawartych w nim strawnych białek, tłuszczów i węglowodanów, natomiast nie brano pod uwagę jego wartości witaminowych. W związku z tym przeprowadzono oznaczenie zawartości karotenów i witaminy C w sianach z 13-tu typów łąk, wyodrębnionych na terenie woj. białostockiego. Jest to zagadnienie nowe, dotychczas nie uwzględniane w gospodarce łąkowej i paszowej.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Próby traw zostały pobrane w okresie od 3.VI. do 9.VI.1952 r. z poszczególnych typów łąk woj. białostockiego, które wyodrębniano na podstawie gatunków charakterystycznych dla tych zespołów.

Trawy, rozłożone w cienkich warstwach, suszono w pomieszczeniu niesłonecznym, lecz suchym i przewiewnym, w temperaturze pokojowej.

Jednocześnie z przeprowadzeniem analizy oznaczano w każdym sianie zawartość substancji suchej w 105°C i na nią przeliczano wyniki.

Do oznaczenia zawartości karotenów (α , β i γ — izomerów) w sianach poszczególnych typów łąk stosowano metodę podaną przez B. A. D e w i a t n i n a (2), opartą na chromatografii roztworów benzenowych i kolorymetrycznym oznaczaniu stężenia karotenów.

Oznaczenie witaminy C w postaci kwasów askorbinowego i dehydroaskorbinowego przeprowadzono we wszystkich badanych próbkach siana wg. modyfikacji Emmerie i Eekelena metody Tillmansa, udoskonalonej przez Fellenberga (3), opartej na reakcji utleniania kwasu askorbinowego na kwas dehydroaskorbinowy 2,6-dwuchlorofenolindofenolem. Oznaczanie wstępne (przed redukcją siarkowodorem) dało orientacyjną zawartość witaminy C w postaci kwasu askorbinowego; oznaczenie po redukcji — zawartości tej witaminy w postaci kwasów askorbinowego i dehydroaskorbinowego.

Niżej podano wyniki oznaczeń, przeprowadzonych dla sian z 13-tu zespołów łąk białostockich. Zawartość karotenów i kwasu askorbinowego podano w mg % w przeliczeniu na suchą substancję (w 105°C).

1. Zespół *Caricetum fuscae typicum*.

Próbę pobrano 3.VI.1952 r. z torfowiska w Supraślu.

Gatunki charakterystyczne:

Carex fusca A l l.

Scirpus silvaticus L.

Polygonum bistorta L.

Carex panicea L.

Valeriana dioeca L.

Jest to zespół otwarty, pospolicie występujący na oligotroficznych, pozbawionych wapna, podmokłych, organiczno-mineralnych glebach Białostocczyny.

Analiza wykonana 11.VI.1952 r. wykazała:

10,64 mg % karotenu,

85,76 mg % kwasu askorbinowego przed redukcją.

214,41 mg % kwasu askorbinowego po redukcji.

2. Zespół *Cariceto canescentis* — *Agrostidetum caninae* Tx. (1937).

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. z torfowiska w Choroszczy.

Gatunki charakterystyczne:

Carex canescens L.

Agrostis canina L. var *stolonifera* B l y t t.

Carex fusca A l l.

Scirpus silvaticus L.

Galium palustre L.

Valeriana dioeca L.

Eriophorum angustifolium R o t h.

Teren na wzgórzu pośród torfowisk, nie zalewany.

Analiza wykonana 16.VI.1952 r. wykazała:

10,17 mg % karotenu,

50,41 mg % kwasu askorbinowego przed redukcją,

143,75 mg % kwasu askorbinowego po redukcji.

3. Zespół *Caricetum fuscae* subass. *Carex panicea* Tx. (1937).

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. w Choroszczy.

Gatunki charakterystyczne:

Carex canescens L.

Agrostis canina L. var. *stolonifera* B l y t t.

Carex fusca A l l.

Scirpus silvaticus L.

Carex panicea L.

Galium palustre L.

Ranunculus repens L.

Valeriana dioeca L.

Eriophorum angustifolium R o t h.

Lychnis flos cuculi L. (duża ilość).

Zajmuje duży obszar w dolinie Narwi, na glebach mniej żyznych, nie zalewanych przez wody wiosenne, o wysokim poziomie wód gruntowych.

Analiza wykonana 19.VI.1952 r. wykazała:

9,60 mg % karotenu,

29,49 mg % kwasu askorbinowego przed redukcją,

90,75 mg % kwasu askorbinowego po redukcji.

4. Zespół *Caricetum elatae* Koch (1926).

Próbę pobrano na Czechowiźnie 6.VI.1952 r.

Gatunki charakterystyczne:

Equisetum limosum L.

Veronica beccabunga L.

Glyceria aquatica W a h l e n b.

Peucedanum palustre M o e n c h.

Carex inflata H u d s.

Lysimachia thyrsiflora L.

Epilobium hirsutum L.

Nasturtium officinale L.

Poa palustris L.

Carex canescens L.

Torfowisko oligotroficzne, pośród ubogich piaszczystych pól.
Poziom wody gruntowej niski. Zespół otwarty. Mszar.

Analiza wykonana 20.VI.1952 r. wykazała:

5,37 mg % karotenu,

51,63 mg % kwasu askorbinowego przed redukcją,

126,32 mg % kwasu askorbinowego po redukcji.

5. Zespół *Caricetum gracilis* Tx. 1937).

Próbę pobrano 3.VI.1952 r. z torfowiska nizinnego w Supraślu.

Gatunki charakterystyczne:

Carex gracilis C u r t i s,

Carex riparia C u r t i s,

Iris pseudoacorus L.

Zespół otwarty, pospolity w Białostocczyźnie, występujący na terenach zawsze zalanych, na glebach bogatych.

Analiza wykonana 15.VI.1952 r. wykazała:

13,24 mg % karotenu,

72,14 mg % kwasu askorbinowego przed redukcją,

125,46 mg % kwasu askorbinowego po redukcji.

6. Zespół *Caricetum inflato-vesicariae* K o c h (1926).

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. w Choroszczy.

Gatunki charakterystyczne:

Carex inflata H u d s.

Lysimachia thyrsiflora L.

Carex riparia C u r t i s

Carex pseudocyperus L.

Zespół otwarty, pokrywa znaczne obszary doliny Narwi. Występuje na glebach zalewanych przez wody rzeki. Daje siano długie lecz lekkie.

Analiza wykonana 14.VI.1952 r. wykazała:

10,38 mg % karotenu,

56,97 mg % kwasu askorbinowego przed redukcją,

178,04 mg % kwasu askorbinowego po redukcji.

7. Zespół *Caricetum terretiusculae*.

Próbę pobrano 9.VI.1952 r. nad Nurcem.

Gatunki charakterystyczne:

Carex terretiuscula G o o d.

Comarum palustre L.

Calamagrostis s p.

Agrostis alba L.

Zespół otwarty porasta błotniste, mineralno-próchnicowe łąki z podsiąkiem wody z terenów wyższych i ubogich.

Analiza wykonana 21.VI.1952 r. wykazała:

7,89 mg ‰ karotenu,

84,21 mg ‰ kwasu askorbinowego przed redukcją,

225,25 mg ‰ kwasu askorbinowego po redukcji.

8. Zespół *Arrhenatheretum elatioris typicum*.

Próbę pobrano 3.VI.1952 r. nad Supraślą.

Gatunki charakterystyczne:

Arrhenatherum elatius M e r t. et K o c h.

Tragopogon orientalis L.

Potentilla reptans L.

Geranium pratense L.

Dobra łąka dwukośna, o uregulowanych stosunkach wodnych na wiosnę zalewana. Zespół otwarty.

Analiza wykonana 17.VI.1952 r. wykazała:

5,67, mg ‰ karotenu,

19,44 mg ‰ kwasu askorbinowego przed redukcją,

78,96 mg ‰ kwasu askorbinowego po redukcji.

9. Zespół *Arrhenatheretum elatioris subass. Alopecurus pratensis* Tx. (1937).

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. w Choroszczy.

Gatunki charakterystyczne:

Heracleum sphondylium L.

Symphytum officinale L.

Geranium pratense L.

Łąka o uregulowanej wilgoci, dawniej prawdopodobnie podsiewana, na żyznej glebie o niegłębokim poziomie wód gruntowych.

Arrhenatherum elatius M e r t. et K o c h.

Crepis biennis L.

Tragopogon orientalis L.

Na wiosnę zalewana przez dopływ Narwi.

Analiza wykonana 17.VI.1952 r. wykazała:

6,47 mg ‰ karotenu,

11,13 mg ‰ kwasu askorbinowego przed redukcją,
67,57 mg ‰ kwasu askorbinowego po redukcji.

10. Zespół *Arrhenatheretum elatioris* subass. *Briza media*
Tx. (1937).

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. w Choroszczy.

Gatunki charakterystyczne:

Plantago media L.
Briza media L.
Tragopogon orientalis L.
Potentilla reptans L.
Crepis biennis L.
Knautia arvensis D u b y.

Sucha zdegradowana łąka, dawniej siana na torfie.

Analiza wykonana 17.VI.1952 r. wykazała:

11,14 mg ‰ karotenu,
34,98 mg ‰ kwasu askorbinowego przed redukcją,
121,23 mg ‰ kwasu askorbinowego po redukcji.

11. Zespół *Caricetum panicei* subass. *Carex panicea*.

Próbę pobrano 6.VI.1952 r. na Czechowiznie.

Gatunki charakterystyczne:

Carex panicea L.
Agrostis canina L.
Carex canescens L.
Galium palustre L.

Torfowisko oligotroficzne, dość suche. wody gruntowe niskie.
Zespół otwarty.

Analiza wykonana 20.VI.1952 r. wykazała:

9,48 mg ‰ karotenu,
44,54 mg ‰ kwasu askorbinowego przed redukcją,
257,29 mg ‰ kwasu askorbinowego po redukcji.

12. Zespół *Glycerieto-Sparganietum neglecti* K o c h (1926),
subass. *Phalaris arundinacea*.

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. w Choroszczy nad brzegiem Narwi.

Gatunki charakterystyczne:

Equisetum palustre L.
Veronica beccabunga L.
Glyceria plicata F r i e s.

Epilobium hirsutum L.
Nasturtium officinale L.
Poa palustris L.

Gleby przewarstwione, wody podsiąkowe ruchome. Zespół silnie zwarty.

Analiza wykonana 19.VI.1952 r. wykazała:

5,90 mg $\%$ karotenu,

32,52 mg $\%$ kwasu askorbinowego przed redukcją,

75,49 mg $\%$ kwasu askorbinowego po redukcji.

13. Zespół *Juncetum filiformis* subass. *Comarum palustre* Tx. (1937).

Próbę pobrano 4.VI.1952 r. w Choroszczy.

Gatunki charakterystyczne:

Juncus filiformis L.

Pedicularis palustris L.

Comarum palustre L.

Menyanthes trifoliata L.

Carex canescens L.

Łąka na zagłębieniu terenu.

Analiza wykonana 18.VI.1952 r. wykazała:

10,09 mg $\%$ karotenu,

79,68 mg $\%$ kwasu askorbinowego przed redukcją,

162,45 mg $\%$ kwasu askorbinowego po redukcji.

Przy oznaczaniu karotenów otrzymano sumę zawartości ich trzech izomerów (α β γ). Zawartość ta w zależności od typu łąk waha się w granicach od 5,37—13,24 mg $\%$ (na suchą masę), przy czym siano uboższe w białko i węglowodany wykazało większą zawartość karotenów niż bogate w te składniki. Podczas oznaczania witaminy C, oprócz wyników właściwych otrzymanych po redukcji, wykonano wstępne oznaczenie wprost w ekstrakcie z siana. Dało ono orientacyjną zawartość kwasu askorbinowego w badanym produkcie. Różnice między oznaczeniami po i przed redukcją są przybliżoną zawartością witaminy C w postaci kwasu dehydroaskorbinowego. Wartości te, wahające się w granicach 57—83 $\%$, wykazują, że w badanych sianach witamina C znajduje się w przeważającej ilości w postaci kwasu dehydroaskorbinowego, a zatem konieczne jest oznaczanie jej w tej formie. Zbadane siano wykazuje dużą rozpiętość zawartości witaminy C, która wynosi, zależnie od zespołu łąk, od 67—257 mg $\%$ w przeliczeniu na suchą masę.

Zespół Plant association	Zawartość w mg % na suchą masę Content in mg % of dry matter		
	karotenu carotene	kwas askorbinowy ascorbic acid	
		przed redukcją before reduction	po redukcji after reduction
1. <i>Caricetum fuscae typicum</i>	10,64	85,76	214,41
2. <i>Cariceto canescentis</i> — <i>Agrostidetum caninae</i> Tx. (1937)	10,17	50,41	143,75
3. <i>Caricetum fuscae subass. Carex panicea</i> Tx. (1937)	9,60	29,49	90,75
4. <i>Caricetum elatae</i> Koch (1926)	5,37	51,63	126,32
5. <i>Caricetum gracilis</i> Tx. (1937)	13,24	72,14	125,46
6. <i>Caricetum inflato-vesicariae</i> Koch (1926)	10,38	56,97	178,04
7. <i>Caricetum terretiusculae</i>	7,39	84,21	225,25
8. <i>Arrhenatheretum elatioris typicum</i>	5,67	19,44	78,96
9. <i>Arrhenatheretum elatioris subass. Alopecurus pratensis</i> Tx. (1937)	6,47	11,13	67,57
10. <i>Arrhenatheretum elatioris subass. Briza media</i> Tx. (1937)	11,14	34,98	121,23
11. <i>Caricetum panicei subass. Carex panicea</i>	9,48	44,54	257,29
12. <i>Glycerieto-Sparganietum neglecti</i> Koch (1926)	5,90	32,52	75,49
13. <i>Juncetum filiformis subass. Comarum palustre</i> Tx. (1937)	10,90	79,68	162,45

Siana zaliczane dotychczas do gatunków ubogich, okazały się znacznie bogatsze w karoteny i kwas askorbinowy niż siana o dużej zawartości białek i węglowodanów. Typowym przykładem jest siano otrzymane z zespołu *Caricetum gracilis*, które posiada o 133% więcej karotenów i o 59% więcej witaminy C niż siano z zespołu *Arrhenatheretum elatioris* oceniane jako najbardziej wartościowe.

W związku z powyższym należałoby rozważyć czy nie byłoby słuszne zamiast przeprowadzania kosztownej i wątpliwej w skutkach melioracji, zachować niektóre łąki turzycowe i otrzymaną z nich trawę przerabiać na mękę sienną.

Z analiz powyższych również wynika, że nie należy żadnego zespołu występującego w przyrodzie w stanie naturalnym skazywać na zagładę jedynie z powodu jego nieprzydatności dla takiego lub innego celu.

Zespoły, względnie poszczególne ich komponenty, muszą być przebadane wszechstronnie, mogą bowiem posiadać wielkie wartości, o których dotychczas nie wiedzano lub nie umiano ich wykorzystać.

Z Zakładu Biologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. Dr W. Sławiński

SUMMARY

The content of carotene and ascorbic acid was determined in the hay from 13 different types of meadows in the palatinate of Białystok (Poland). The method used to determine the content of alpha, beta and gamma isomeres of the carotene was that of B. A. Dewiatnina based on benzene solutions chromatography and colorimetric determination of the carotenes. The ascorbic and dehydroascrobic acids were determined according to Fellenberg's method.

The carotene content from different hays ranged from 5,37 to 13,35 mg⁰/o (to dry matter). The analysis of vitamin C content has shown that from 57⁰/o to 83⁰/o of the total vitamin C in the hay is in the form of dehydroascorbic acid. The total content of vitamin C in different hays varies from 75 to 257 mg⁰/o (to dry matter). The hays that are poor in carbohydrates and proteins are often rich in carotenes and vitamin C, as for instance the hay from *Caricetum gracilis* which has 133⁰/o more of carotenes and 59⁰/o more of vitamin C than the hay from *Arrenatheretum elatioris* which is considered to be of the best quality.

SPIS LITERATURY

1. B a s z y ń s k i T. Zmiany poziomu karotenu i wit. A we krwi i mleku krów w przebiegu rocznym (w druku).
2. D e w i a t n i n B. A., 1948. Witaminy.
3. v. F e l l e n b e r g T h., 1941. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene in Bern, 32, 135.
4. K a m i e ń s k i L., 1949. Kwas I-askorbionowy (wit. C) i jego analogi, w pracy „Witaminy“, Łódź.
5. K a r r e r P. i J u c k e r E., 1950. Carotenoids. London.
6. K e m m e r e r A. R., 1952. Fat-Soluble Vitamins Ann. Rev. of Biochemistry, 21.
7. K r a u z e S t. i K o t o m s k a Z., Kwas askorbinowy w jabłkach.
8. M a c k i n n e y G., 1952. Carotenoids. Ann. Rev. of Biochemistry 21.
9. P o l a c z k o w a W., 1949. Witamina A, w pracy „Witaminy“ Łódź.
10. P o n o w s k a j a E. M., 1952. Biochimia, 17, 145.
11. S t e e p W., K u h n a u J. u. S c h o d e r H., 1942. Die Vitamine und ihre klinische Anwendung.
12. T h o m s o n S. J., 1949. Brit. Journal Nutrition 3 (I), 50—78.

13. T u r s k i J. S., i W i ę c ł a w e k B., 1952. Barwniki roślinne i zwierzęce. Warszawa.
14. W e l c h A. D., and N i c h o l C. A., 1952. Water-Soluble Vitamins Concerned with One and Two-Carbon Intermediates, Rev. of Biochemistry, 21.
15. W i ę c ł a w e k B., 1951. Prace Główn. Inst. Przemysłu Rolnego i Spożywczego Nr 1, 55.
16. Ż u b r i l i n A. A., 1947. Naucznyje osnovy konsierwirowanija zielonych kormów.

Aloë vera L. var. *wratislaviensis* hort. nova var.
z niezwykle różyczką liści w kwiatostanie

Aloë vera L. var. *wratislaviensis* hort. nova var. with an uncommon
leafrosette within the inflorescence

OLGA KOSTECKA-MAŁAŁSKA

Wpłynęło 29. XI. 52 r.

W październiku 1946 r. prof. dr Józef Małalski, reprezentując Uniwersytet Wrocławski, uzyskał od Państwowego Zjednoczenia Winiarskiego dla Katedry Botaniki Farmaceutycznej 2,5 ha posiadłość ziemską wraz z budynkami przy ul. Kochanowskiego 10—16 we Wrocławiu. Obiekt ten, zgodnie z zarządzeniem J. M. Rektora Prof. Dra Stanisława Kulczyńskiego, stał się zawiązkiem nowopowstającego Ogrodu Roślin Leczniczych przy ówczesnym Wydziale Lekarskim z Oddziałem Farmaceutycznym.

Jednym z byłych współwłaścicieli tej posiadłości był Niemiec Paweł Rüster, doktor botaniki, uczeń Teodora Schubego, znanego florysty śląskiego. Obywatel ten, wyjeżdżając do Niemiec, wyraził swe zadowolenie z takiego obrotu sprawy, gdyż pragnął by jego posiadłość, wraz ze zbiorem żywych roślin, stała się własnością Uniwersytetu. Od szeregu lat gromadził on ciekawsze rośliny krajowe i zagraniczne, a między innymi i rośliny lecznicze. Jak sam twierdził, miał w tym ogrodzie około 120 gatunków wiaźów z różnych stron świata — jak wiadomo „die Rüster“ znaczy po polsku wiaź. Ostatnio jednak wojna oraz klimat i choroby przetrzebiły ten drzewostan tak, że zachowało się zaledwie kilka mniej ciekawych gatunków. Spośród roślin leczniczych, prócz takich jak *Salvia officinalis* L., *Ruta graveolens* L., *Levisticum officinale* L., *Hyssopus officinalis* L., *Inula helenium* L. i kilku innych, zachował się *Nerium oleander* L. oraz jeden kilkuletni okaz *Aloë vera* L. Okaz ten, dzięki opiece wspomnianego dra Rüster, przetrzymał dobrze z roku 1945 na 46 i w chwili objęcia posiadłości przez Katedrę Botaniki znajdował się w ogrodzie w wazonie.

Kierownictwo Ogrodu w jesieni 1946 r. miało zbyt wiele trudności z opanowaniem sytuacji, z powodu braku dotacji i odpowiednich ludzi, toteż niespodziewany w październiku przymrozek zmroził oba ostatnio wymienione gatunki. *Nerium oleander* ucierpiał znacznie, tak że musiano mu obciąć szereg gałęzi. Żyje on jednak do dziś i wypuścił nowe pędy. U *Aloë vera* liście starsze częściowo przemarzły, natomiast młode i najmłodsze, jak również stożek wzrostowy nie ucierpiały od mrozu.

Obserwacja ta jest potwierdzeniem obserwacji G o e p p e r t a (4) z lat 1879—81 wykonanych w Ogrodzie Botanicznym we Wrocławiu nad szeregiem gatunków roślin subtropikalnych a między nimi i *Aloë*. Stwierdził on, że rośliny te są nieco wytrzymalsze na krótkotrwały mróz od roślin strefy gorącej, ale nie wytrzymują trwałego kilkudniowego mrozu o temp. -5° do -7° . Obserwacje G o e p p e r t a potwierdził również współczesny mu R i c a s s o l i (6). Podaje on, że w ogrodzie na Monte Argentario w Toscanie w ciągu zimy z 1879 na 80 temperatura spadła do -7° i wówczas wymarły prawie wszystkie *Aloë*. Natomiast N a u d i n (5) potwierdził nieszkodliwość wpływu krótkotrwałego mrozu na *Aloë*. Mianowicie w Antibes w południowej Francji 10. XII. 1879 r. temperatura spadła do -8° , ale nie uszkodziła niektórych gatunków *Aloë*.

Omawiany okaz zmrożony wzięty natychmiast do mieszkania trzymał się dobrze, straciwszy jedynie niektóre uszkodzone liście. Mróz ten widocznie pobudził pączki śpiące, bo zjawily się na okazie liczne boczne różyczki liści, które u swych nasad powypuszczały korzonki.

B e r g e r (2) wspomina o tym, że pędy boczne zjawiają się zwłaszcza wówczas, gdy pęd główny został uszkodzony. Tym uszkodzeniem w naszym przypadku mogło być właśnie przemrożenie.

Korzystając z takiego zachowania się rośliny, ogrodnik nasadził odcięte pędy i tą drogą Ogród zdobył kilkanaście nowych okazów *Aloë*.

Stary okaz, jak również i młode, są corocznie z wiosną przesadzane z wazonów na grzędę. Widocznie wpływa to dodatnio na ich rozwój bo nabierają barwy i dobrze się rozwijają, a stary okaz kwitnie. W roku bieżącym kwitł, wypuściwszy trzy kwiatostany, każdy o trzech odgałęzieniach.

Na wiosnę w roku 1950 postąpiono ze starym okazem *Aloë* podobnie jak zwykle i wysadzono na grzędę. W czasie wiosny i na początku lata wyrósł kwiatostan widlasto rozgałęziony, a jedno z tych rozgałęzień zakończone zostało różyczką mięsistych drobnych liści

zamiast grona kwiatów. Tego rodzaju zachowanie się kwiatostanów znane jest u niektórych gatunków z podrodziny *Aloineae* jak np. *Aloë ciliaris* Haw. (2, p. 15, fig. 9) i *Gasteria maculata* (Thunb.) Haw. U *Aloë vera* wypadki takie widocznie zachodzą bardzo rzadko, bo nie znalazłam o tym wzmianki w literaturze.

Okaz, o niezwyklej różyczce liści w miejsce kwiatostanu, został otoczony jeszcze większą pieczołowitością i poddany obserwacji. Początkowo tj. w 1950 i 51 r. różyczka liści rozwijała się dobrze (fot. 1). Liście były zawsze jędrne, pięknej zielonej barwy i nie wy-



Fot. 1. *Aloë vera* L. var. *wratislaviensis* hort nov. var. Okaz z różyczką liści w miejsce kwiatostanu i drugie, uschłe odgałęzienie kwiatostanu. Liście widoczne na różyczce są wszystkie zdrowe i jędrne. Zdjęcie z jesieni 1950 r.

Fig. 1. *Aloë vera* L. var. *wratislaviensis* hort. nov. var. Specimen with a leaf-rosette instead of inflorescence and a dried branch of the inflorescence. All leaves visible on the leaf-rosette are vigorous and turgid. Autumn 1950.

Fot. mgr Cz. Bańkowski

kazywały żadnych zmian. Stopniowo jednak, w miarę wzrostu różyczki i zwiększania się liczby oraz objętości liści, zapotrzebowanie na wodę u nich wzrosło ale jej drogi dopływu pozostały takie same jak w czasie kwitnienia. Szypułka kwiatostanowa 33 cm długa, na której wyrosła różyczka nie grubiej mimo, że w kłodzinie *Aloë* znany jest anormalny przyrost na grubość (1, 3).

Według B e r g e r a (2, p. 13) kwiatostan powstaje na szczycie pędu, ale zostaje przez pęd boczny stojący w pachwinie liścia, zepchnięty na bok tak, że robi wrażenie bocznego rozgałęzienia. Widać więc z tego, że kłodzina *Aloë* jest sympodialnym tworem. Znamionym jest fakt, że to sympodium posiada anormalny przyrost na grubość, podczas gdy szczytowe części pędu, jakimi są kwiatostany, przyrost ten zatracają. Nie odzyskują go nawet i wówczas, gdy na nich zjawi się anormalny boczny pęd jakim jest omawiana tu różyczka liści. Taki pęd anormalny, jak wspomina B e r g e r (2, p. 13), jest dowodem na to, że szczytowy pęd, jakim jest kwiatostan, nie zatracił jeszcze zupełnie swej natury pędu głównego. Z tego faktu można wnioskować, że pęd szczytowy (kwiatostan) zatracca w pierwszym rzędzie zdolność anormalnego przyrostu na grubość a dopiero potem zdolność tworzenia bocznych rozgałęzień.

Na skutek więc trudności dopływu wody i soli mineralnych, jak również normalnego starzenia się, dolne liście różyczki zaczęły usychać od szczytu w drugiej połowie drugiego roku życia różyczki, co widać na fot. 2. W chwili opisywania, 14 dolnych liści uległo już zeschnięciu, tak jak to normalnie zachodzi na łądym. Z reszty liści zdrowych, których jest 29, 8 następnych zaczyna usychać od szczytu. Różyczka, podobnie jak to się dzieje u różyczek liści będących bocznymi odgałęzieniami, wypuściła u nasady 12 korzeni przybyszowych, z których jeden urósł już do 14 cm długości (fot. 2). Tworzy ona w nasadzie kłodzinę, która ma już 4 cm średnicy. Zjawił się więc u niej przyrost wtórny na grubość.

Obserwacje i pielęgnacja trwają nadal. Chodzi o to, jak będzie się różyczka zachowywać z upływem lat? Czy wytworzy sama kwiatostan? Gdyby wypadek powstania takiej różyczki zaszedł w naturze to prawdopodobnie odłamałaby się ona na skutek wzrostu jej ciężaru. Ponieważ, dzięki zapasom wody w liściach, może ona zachować żywotność przez szereg dni po oderwaniu się od rośliny macierzystej, to odłamawszy się i upadłszy na ziemię zakorzeniłaby się i wyrosła w nową roślinę. W naszych warunkach ogrodowych będziemy się starać zachować ją w łączności z rośliną macierzystą, by zaobserwować jaki będzie jej dalszy rozwój.



Fot. 2. *Aloë vera* L. var. *wratislaviensis* hort. nov. var. Widoczna szypułka kwiatostanu z której wyrasta różyczka liści. U nasady widoczne są korzenie. Powyżej resztki pochew liściowych, następnie usychające liście, a nad nimi normalne liście białoplamiste. Na dalszym planie rozgałęzienia kwiatostanów.

Zdjęcie z lata 1952 r.

Fig. 2. *Aloë vera* L. var. *wratislaviensis* hort. nov. var. Peduncle of the inflorescence with the leaf-rosette growing out of it. Some roots are visible at the base of the rosette. Above the roots there are remains of leaf sheathes, further, some drying leaves above which there are placed normal, white-spotted leaves.

Branches of the inflorescence visible on the background. Summer 1952.

Fot. mgr Br. Kupiec

Omawiany okaz, zgodnie ze swą właściwością, posiada korzenie cylindryczne. Zarówno w nasadzie kłodziń jak też i wyżej wypuszcza boczne rozgałęzienia, gęsto pokryte liśćmi. U nasady tych rozgałęzień pojawiły się korzenie przybyszowe, które dorastają 18 cm długości. Kłodzińa pokryta resztkami pochw liściowych ma wysokość 33 cm do najdolniejszych liści, a na wysokości 14—18 cm ma 23 cm obwodu. Liście w nasadzie 8—9 cm szerokie, do 45 cm długie. Kwiatostan 116 cm długi, z czego do potrójnego rozgałęzienia 40 cm, a rozgałęzienia mniej więcej 76 cm długie (fot. 3). Nie tworzy on owoców i nasion, gdyż samozapylanie nie daje rezultatu pozytywnego, jak to również obserwował B e r g e r (2, p. 16).

Pewne jednak szczegóły morfologiczne różnią opisywany okaz do tego stopnia od typu i znanych już odmian, że postanowiłam go opisać jako nową ogrodową odmianę wrocławską.

Aloë vera L. var. *wratislaviensis hort. nova* var. (fot. 1—3):

Liście 35—45 cm dł., białoplamiste. Przysadki jajowate, ostre, 5—12 nerwowe, po przekwitnieniu odstające, wyprostowane, do 17 mm dł. Szypułki kwiatowe po przekwitnieniu 2—3 razy dłuższe od przysadek. Kwiaty pomarańczowe lub pomarańczowo-żółte. Okwiat w nasadzie zaokrąglony do 4 cm dł. Pozostałe cechy jak u typu. Okaz znajduje się w Ogrodzie Roślin Lecznich Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Aloë vera L. var. *wratislaviensis hort. nova* var. (fot. 1—3).

Folia 35—45 cm longa, albo-maculata. *Bractae* ovatae, acutae, 5—12-nerviae, post florescentiam patentēs, erectae, usque ad 17 mm longae. *Pedicelli*, post florescentiam, bracteas duplo vel triplo superantes. *Flores* aurantiaci vel luteo-aurantiaci. *Perigonium* basi rotundatum usque ad 4 cm longum. *Ceterum* ut typus.

Crescit in Horto Plantarum Medicinalium Acad. Med. in Wratislavia.

Z Katedry Botaniki Farmaceutycznej
z Ogrodem Roślin Lecznich Akademii Medycznej
we Wrocławiu

SUMMARY

The author describes a new horticultural variety of *Aloë vera* (*Aloë vera* L. var. *wratislaviensis hort. nov. var.*) cultivated in the Medicinal Plants Garden of the Medical High School in Wrocław (see Latin description above).



Fot. 3. *Aloë vera* L. var. *wratislaviensis* hort. nov. var. Zdjęcia dokonano w lecie 1952 r. Widoczny jest pokrój rośliny z dwoma kwitnącymi kwiatostanami. Później wyrósł jeszcze jeden, który kwitł do połowy października. Na zdjęciu są dobrze widoczne: grubość różyczki w nasadzie, jej korzenie oraz wyrastanie jej z szypułki kwiatostanowej widlasto rozgałęzionej.

Fig. 3. *Aloë vera* L. var. *wratislaviensis* hort. nov. var. Habitus of the plant with two blooming inflorescences. The third one, developed later, flourished to the half of october. The figure shows distinctly: thickness of the leaf-rosette at its base, its growing out of the forkedly branched peduncle of the inflorescence, and the roots. Summer 1952.

Fot. mgr Br. Kupiec

On this specimen of *Aloë vera* cultivated in the above Garden there appeared in 1950 a leaf-rosette within the inflorescence instead of a normal branch. This is an unobserved phenomenon in *Aloë vera*. It remains unknown whether the freezing caused the development of the leaf-rosette within the inflorescence. The rosette had developed 43 leaves; 14 of them are completely dried, 9 are becoming dry; the remaining 29 leaves are healthy. Secondary thickening has undoubtedly started within the axis of the leaf-rosette because its diameter at the base is about 4 cm.

*From the Chair of Pharmaceutical Botany
with Medicinal Plants Garden
of the Medical High School in Wrocław, Poland.*

LITERATURA

1. de Bary A. — 1877. Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. — Leipzig.
2. Berger A. — 1908. Liliaceae - Asphodeloideae - Aloineae. (in Engler's A. Pflanzenreich — Regni vegetabilis conspectus) — Leipzig.
3. Falkenberg P. — 1876. Vergleichende Untersuchungen über den Bau der Vegetationsorgane der Monocotyledonen. — Stuttgart.
4. Goepfert H. R. — 1879, 1880, 1881. Ueber Einwirkung niedriger Temperatur auf die Vegetation. — Gartenflora.
5. Naudin — 1880. Frost in the South of France. — Gard. Chron. 13, p. 23.
6. Ricassoli V. — 1880. Il freddo dell'inverno 1879—1880 al Monte Argentario. — Bull. della R. Soc. Tosc. d'Orticoltura, 5, p. 362—369.

Obserwacje nad morfologią i biologią *Hydrurus foetidus* Kirch. w Ojcowie

*Observations on the Morphology and Biology of Hydrurus foetidus
Kirch. at Ojców*

CECYLIA SZKLARCZYK

Wpłynęło 6. XII. 52 r.

1. W s t ę p

Hydrurus foetidus jest wiciowcem kolonialnym (*Chrysophyceae*, *Chrysocapsales* P a s h e r), stenotermicznym, zimnolubnym, występującym głównie w potokach górskich. Plechy są wykształcone w postaci galaretowatych sznurów z licznymi rozgałęzieniami. Ilość bocznych odgałęzień wzrasta ku szczytowi plechy. Plechy przyczepione do podłoża przy pomocy nieco rozszerzonej podstawy pływają swobodnie w wodzie.

Przyczyną wzrostu plechy jest intensywny podział komórek szczytowych. Komórki te dzielą się podłużnie, jedna z potomnych cofa się wstecz i powiększa kolonię, druga pozostaje na miejscu jako komórka szczytowa. Boczne rozgałęzienia powstają w ten sposób, że pewne komórki wysuwają się z plechy i dzielą się podobnie jak szczytowe. Każda komórka posiada jeden dzwonkowaty chromatofor i kilka tętniących wodniczzków.

Hydrurus foetidus rozmnaża się przy pomocy pływek, które powstają z normalnych komórek kolonii. Pływki posiadają kształt piramidki czworościennej, opatrzonej jedną witką. Porę niekorzystną dla rozwoju przeżywa ten wiciowiec w postaci cyst.

2. D o t y c h c z a s o w e w i a d o m o ś c i o H y d r u r u s f o e t i d u s

W Polsce *Hydrurus foetidus* znaleziony został przez profesora J. R o s t a f i ń s k i e g o w Tatrach w roku 1872 w dolinie

Kościeliskiej, a następnie w 1880 r. w potokach dolin Strążyskiej, Jaworzynki i Młynicy.

Autor ten opracował *Hydrurus foetidus* w monografii opatrzonej świetnymi rysunkami (1882), w której opisał budowę wewnętrzną i morfologię kolonii, oraz narysował po raz pierwszy odkryte przez siebie pływki. Poza tym wszystkie opisywane przed tym gatunki sprowadził do jednego: *Hydrurus foetidus* K i r c h n e r.

Interesująca jest nocna wyprawa opisana przez J. R o s t a f i ń s k i e g o, którą podjął po daremnych poszukiwaniach sposobu rozmnażania tegoż wiciowca w czasie dziennych wycieczek. by „podpatrzeć *Hydrurus* nocą“.

W czasie tej wyprawy udało się J. R o s t a f i ń s k i e m u prześledzić na materiale żywym, który przeglądał na miejscu — mikroskopując przy świetle latarni — proces powstawania pływek. Obserwował on kolejno: pęcznienie otoczki galaretowatej, rozpuszczanie się jej i wreszcie wydobywanie się „kulistych zarodników“ (tak bowiem nazywał pływki). „Zarodniki“ te przybierały postać czworościennej piramidki o wypukłych ścianach. J. R o s t a f i ń s k i w i t k i nie zauważył, oglądał bowiem pływki tylko pod słabymi powiększeniami mikroskopowymi, wspomina tylko z wielkim zastrzeżeniem o ruchu pełzakowatym „zarodników“.

Dalsze obserwacje nad *Hydrurus foetidus* przeprowadził L a g e r h e i m w roku 1888 w Dreisam. W tym czasie odkrył on po raz pierwszy witki pływek oraz cysty. Na nielicznych okazach udało mu się prześledzić proces powstawania cyst. Wykazał, że cysty powstają z komórek gałązek bocznych, z których każda może wytworzyć cystę. Objętość takiej komórki powiększa się wtedy dwukrotnie po czym formuje się galaretowaty stylik, rozszerzony główkowato w górnej części, w której znajduje się właściwa cysta. Cysty umożliwiają temu zimnolubnemu glonowi przetrwanie letniej pory.

W czasie masowego pojawu *Hydrurus foetidus* w zimie, L a g e r h e i m obserwował również występowanie nieregularnych skupień komórek we wspólnej otoczce galaretowatej. Komórki te uznał za stadia należące do cyklu rozwojowego tego wiciowca.

Dalsze wiadomości o *Hydrurus foetidus* podał M. R a c i b o r s k i w „Materiałach do flory glonów Polski“ (1888). Autor ten przytacza również pierwsze niżowe stanowiska *Hydrurus foetidus* z okolic Krakowa. Píše on o tym w następujących słowach: „W Wiśle pod Krakowem raz tylko widziałem (*Hydrurus*) na wapieniach

Jurasowych koło Klasztoru Zwierzynieckiego w kwietniu w 1885 roku, obficie w potokach dolin: Czerny, Paczołtowiec, Kobylan i Ojcowa“.

W nowszych czasach przeprowadził A. B u r s a na terenie Tatr i Podhala obszerne badania nad morfologią *Hydrurus foetidus* w zależności od warunków zewnętrznych (1934). W pierwszej części swojej pracy badał on wpływ poszczególnych czynników ekologicznych jak temperatura, światło, siła prądu i stężenie jonów wodorowych. W drugiej części zajmował się fenologią *Hydrurus foetidus* i jego sezonowym rozprzestrzenianiem się w terenie, czyli jego wędrówkami. Podał on również dokładną mapę rozmieszczenia *Hydrurus foetidus* w Tatrach i na Podhalu oraz jego stanowiska stałe i sezonowe.

Jeżeli chodzi o przynależność systematyczną zajął A. B u r s a podobne stanowisko jak R o s t a f i ń s k i, biorąc jako kryterium budowę i właściwości komórki, nie zaś zmienne i nieistotne cechy, takie jak długość plechy, ilość bocznych rozgałęzień itp.

W roku 1942 J. C z o s n o w s k i przeprowadzał obserwacje nad *Hydrurus foetidus* w Zakopanem, które opisał w rozprawie pt. „Kilka spostrzeżeń nad *Hydrurus foetidus* Kirch.“. (1951). Pracę tę przygotowaną do druku, mogłam przeczytać dzięki uprzejmości autora w rękopisie w sierpniu 1950 r. Według opisu J. C z o s n o w s k i e g o wystąpił w zimie w 1942/43 w Dolinie Białego *Hydrurus foetidus* w postaci odmiennej niż zwykle, którą nazwał on formą galaretowatą. Znalezione tam plechy odbiegały od postaci normalnej, brak im było głównej osi i wyraźnych ostro odgraniczonych odgałęzień. Wzrost plechy także był nietypowy, odbywał się całą powierzchnią, ponieważ szeroko zakończone końce palczastych rozgałęzień nie posiadały komórek szczytowych. W miejscach o prądzie szybszym, tam gdzie panowało duże ciśnienie hydrokinetyczne, plechy przybierały wygląd smuklejszy a rozgałęzienia były ostrzej zakończone. Jeszcze silniejsze ciśnienie hydrokinetyczne powodowało redukcję plechy do 1—2 cm. długiej bryłki pokrytej krótkimi i postrzępionymi odgałęzieniami. Tejże zimy w Dolinie Białego wystąpił *Hydrurus* tylko w opisanej wyżej formie, silnie galaretowatej, w optymalnych warunkach termicznych. Temperatura wody wahała się bowiem od 3 do 8°C a masowy pojaw *Hydrurus foetidus* przypadł na sam środek zimy. W tym wypadku nie można było przypisać silnego galaretowacenia plechy niekorzystnym warunkom. Autor próbował wytłumaczyć to zjawisko różnymi warunkami ciśnienia hy-

drokinetycznego, lecz kończąc wyraża zapatrywanie, że dopiero dalsze szczegółowe badania pozwolą wnikać w genezę tej formy.

3. Warunki występowania *Hydrurus foetidus* w Ojcowie

Celem mojej pracy były badania nad morfologią i biologią *Hydrurus foetidus* w Ojcowie. Obserwacje prowadziłam w Prądniku na odcinku między Zamkiem a Bramą Krakowską w Ojcowie. w potoku Saspówka, oraz przy pstrągarni ojcówskiej (ryc. 1). Badania te trwały od 24 listopada 1949 r. do 25 listopada 1950 r.



Ryc. 1. Mapka orientacyjna rozmieszczenia *Hydrurus foetidus* w Ojcowie.
Fig. 1. Orientation map of the distribution of *Hydrurus foetidus* at Ojców.

Hydrurus foetidus występuje na opisanym wyżej odcinku Prądnika we wszystkich miejscach, gdzie woda płynie wartko i tworzy dodatkowe prądy powodowane obecnością większych kamieni, o które się rozбивa. W podobnych warunkach żyje *Hydrurus foetidus* w górnym biegu Saspówki. Występuje on również poniżej wodospa-

dziku u wylotu doliny Saspowskiej oraz przy wpustach i wylotach stawów rybnych koło pstrągarni. Te stanowiska są jakby miniaturą fragmentu spiętrzonego górskiego potoku. Nie duży, ale stale świeży strumień wody rozbiła się tu o kamienie leżące niżej, skutkiem czego woda jest zawsze silnie zaopatrzona w tlen, gdyż rozpryskuje się i spada w postaci drobniutkich kropelek.

Warunki termiczne dla *Hydrurus foetidus* w Ojcowie były korzystne, albowiem temperatura wody w miesiącach od listopada do kwietnia wahała się tu w godzinach południowych od 3—8°C. W kwietniu, w czasie masowego pojawu *Hydrurus foetidus*, utrzymywała się ona około 11°C, zaś w miesiącach letnich, w których *Hydrurus* kończył swój okres wegetacji nie przekraczała 15°C. Obserwacje te zgadzają się z danymi A. B u r s y (część I), który przyjmuje temperaturę od 2—12°C za optymalną, zaś temperaturę 20°C za maksymalną, jeżeli nie utrzymuje się dłużej jak kilka godzin dziennie i jeżeli wieczorem spada do 12—14°C.

4. Morfologia w związku z porami roku

Sezonowe zmiany w budowie morfologicznej plechy *Hydrurus foetidus* zauważono w trzech okresach (a—c).

a) I okres: od listopada 1949 do stycznia 1950 r.

W drugiej połowie listopada 1949 r. wystąpił w Saspówce i przy pstrągarni poniżej wodospadu, równocześnie z jesiennym zakwittem okrzemek, *Hydrurus* o plesze amorficznej. Kamienie wyjmowane tam z wody były pokryte warstewką intensywnie brunatną, silnie ześluzowaciałą. Warstewkę tę zbierałam przy pomocy scyzoryka i materiał ten utrwalałam w formalinie. Przywoziłam także



Ryc. 2. Zarys plechy amorficznej, pod słabym powiększeniem mikroskopowym. Przestrzeń zakropkowana oznacza okrzemki.

Fig. 2. Outline of amorphous thallus under slight microscopic enlargement.

kamienie, na których przypuszczałam obecność *Hydrurus foetidus*, do Krakowa i przechowywałam je w bieżącej wodzie wodociągowej. Przy przeglądaniu materiału zarówno żywego jak i utrwalonego pod mikroskopem znajdowałam w tym czasie nieregularne skupienia komórek przedstawione na rycinie 2.

Komórki te posiadały charakterystyczny dzwonkowaty chromatofor, całe skupienie otoczone było dobrze widoczną osłonką śluzową (ryc. 3 i tabl. I, fot. 1).

Opisanym plechom towarzyszyły liczne okrzemki głównie z rodzajów *Navicula*, *Gomphonema*, *Synedra*, *Meridion* i innych.



Ryc. 3. Fragment plechy amorficznej przy powiększeniu silniejszym.

Fig. 3. Fragment of amorphous thallus at a greater enlargement.

W hodowli *Hydrurus foetidus* utrzymywał się niedługo. Drugiego lub trzeciego dnia po przywiezieniu *Hydrurus* o plesze amorficznej tworzył masowo pływki. Otoczka śluzowa ulegała rozpuczeniu, a z wnętrza amorficznej plechy wydobywały się pływki o typowej, tetraedrycznej postaci, opatrzone jedną wtką. Po kilku dniach chromatofor w komórkach zieleniał, po czym *Hydrurus* ginął.

W miesiącach grudniu i styczniu amorficzna plecha znajdująca się na kamieniach w Ojcowie zaczęła się rozrastać i można było śle-



Ryc. 4. Pierwsze próby formowania się plechy palczastej

Fig. 4. First stages of formation of the digital thallus.

dzić pierwsze próby formowania się walcowatych, palczastych wyrostków o komórkach ułożonych bezładnie bez komórki szczytowej. Stadia te przedstawia ryc. 4 i tabl. I fot. 2.

Plechcy amorficzne były tak odmienne od normalnie wykształconych plech *Hydrurus foetidus*, iż w pierwszej chwili budziły wą-

pliwości co do ich przynależności systematycznej. Wydawało się, że może to być pojaw *Celionella Pascheri* (1929), lub *Phaeodermatium rivulare*, które występują w podobnych warunkach ekologicznych. Jednakże plechy te posiadały inną budowę wewnętrzną kolonii, niż wyżej wymienione wiciowce i niebawem zaczęły formować palczaste wyrostki oraz tworzyły płytki typowe dla *Hydrurus foetidus*.

W tym czasie pojawiły się w Ojcowie także takie formy palczaste, w których komórki uszeregowane były paciorkowato i wysuwały się na zewnątrz gdzieś w postaci nitek bocznych z komórkami szczytowymi, tak jak to przedstawiono na ryc. 5. *Hydrurus* był w tym czasie ciągle jeszcze gołym okiem niewidoczny; na niewielu tylko kamieniach można było zauważyć małe galaretowate niteczki przypominające mokry aksamit.



Ryc. 5. Fragment palczastej plechy *Hydrurus foetidus* z komórkami uszeregowanymi paciorkowato.

Fig. 5. Fragment of digital thallus of *Hydrurus foetidus* with cells arranged like strings of beads.

b) II okres: od lutego do kwietnia 1950 roku.

W lutym po silnych mrozach, które trwały przez drugą połowę stycznia, zauważyłam w Ojcowie po raz pierwszy występowanie *Hydrurus* o typowo wykształconych plechach, w postaci galaretowatego sznura z licznymi odgałęzieniami. Długość plech wynosiła w drugiej połowie lutego od 0.5—1,5 cm. Plechę taką zebraną przy pstrągarni 11. II. 1950. przedstawia ryc. 6 i tabl. I. fot. 3. Analogiczne plechy rozwinęły się u niektórych okazów przy pstrągarni ojcowskiej pod wodospadem. Osiągnęły one maksymalną długość 4 cm, towarzyszyły zaś im amorficzne plechy *Hydrurusa*, oraz liczne okrzemki.

Z końcem marca 1950 r. wystąpił masowo w Prądniku i dolnym biegu Saspówki *Hydrurus* o plesze składającej się z dużej ilości walcowatych, tępo zakończonych wyrostków z komórkami ułożonymi nieregularnie, bez komórek szczytowych. Wszystkie kamienie i deski przypadkowo znajdujące się w Prądniku i dolnym biegu Saspówki pokryte były wówczas mnóstwem galaretowatych kłaczk-

ków, których końce swobodnie pływały w wodzie, a długość ich nie przekraczała 2 cm. Plechy takie przedstawia ryc. 7 i tabl. I, fot. 4.

Forma ta panowała niedługo. Już w pierwszych dniach kwietnia znalazłam w tych samych miejscach *Hydrurus* o typowo wykształconej plesze, choć tylko w nielicznych okazach.



Ryc. 6. Typowa plecha *Hydrurus foetidus* powiększona 1,5 X. Fragment jednego z odgałęzień bocznych pod silnym powiększeniem mikroskopowym.

Fig. 6. Typical thallus of *Hydrurus foetidus* enlarged 1,5 times. Fragment of one of the lateral branchings greatly enlarged.

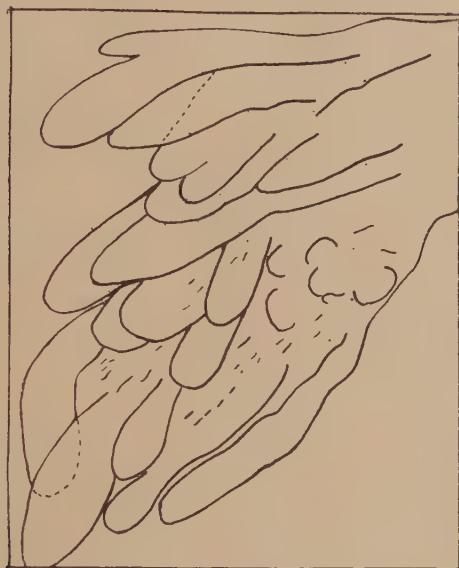
W połowie kwietnia w tych miejscach, w których występowała masowo wyżej opisana palczasta postać, znalazłam w dużej ilości normalnie wykształcone plechy *Hydrurus foetidus*. W tym czasie pojawiły się także formy, które można by uznać za przejściowe pomiędzy palczastymi i typowymi. Były to tępo zakończone macki porośnięte nitkami, tak jak to widzimy na tabl. I, fot. 5 i 6.

Morfologia typowych kolonii *Hydrurus foetidus* występujących w Ojcowie była różnorodna. Przeważała tam forma o silnie rozwiniętej osi głównej z licznymi delikatnymi rozgałęzieniami bocznymi. Często oś główna rozgałęziała się w pewnej odległości od nasady lub tuż u jej podstawy na dwa, trzy do kilkunastu jednakowo

silnie rozwiniętych pni bocznych. Oprócz tych postaci występowały pomiędzy nimi różne przejścia. Długość największych plech wynosiła przeszło 20 cm.

c) III okres: od maja do lipca 1950 r.

Z końcem kwietnia *Hydrurus* zaczął w Ojcowie zanikać, a nie-licznymi śladami jego niedawnego tu masowego pojawu były tylko coraz rzadziej występujące plechy utrzymujące się do połowy lipca.



Ryc. 7. Palczasta plecha *Hydrurus foetidus*.

Fig. 7. Digital thallus of *Hydrurus foetidus*.

W okresie letnim wszystkie plechy silnie galaretowaciały co należy przypisać niekorzystnym warunkom, przede wszystkim zaś złym warunkom termicznym (B u r s a cz. I). Poza tym wystąpiła u nich inkrustacja węglanem wapnia, niekiedy tak silna, że plechy stawały się zupełnie białe. Zanik plech pod koniec okresu wegetacji odbywał się prawdopodobnie wskutek kruszenia się całych silnie zwapniałych plech, lub ich galaretowatych cylindrów, częściowo również wysyconych węglanem wapnia. Przypuszczenie to potwierdzały spotykane pod koniec okresu wegetacji letniej resztki galaretowatych sznurów zachowujące się tylko w postaci maleńkich odcinków samych nasad kolonii.

5. Przeżywanie niekorzystnej pory i rozprzestrzenianie się *Hydrurus foetidus* w Ojcowie

W połowie lipca *Hydrurus* zniknął zupełnie z potoków ojcowskich. Nie znajdowałam go odtąd nigdzie tj. na żadnym opisanym wyżej stanowisku aż do połowy listopada 1950 r., kiedy to znów wystąpił tam w postaci amorficznej, takiej jaką opisałam wyżej. Na uwagę zasługuje fakt, iż w czasie moich obserwacji nie widziałam nigdy cyst, mimo, że zbadałam znaczne ilości materiału. Pytanie czy występują one w Ojcowie i jak często, pozostać musi przeto na razie bez odpowiedzi.

Gdyby *Hydrurus foetidus* nie przeżywał pory niekorzystnej w Ojcowie w formie cyst, to musiałby ją przeżywać w jakiś inny sposób, a coroczne pojawianie się go w zimie w Ojcowie może mieć — teoretycznie biorąc — trzy źródła:

1^o dostaje się on tam przez przenoszenie pływek i cyst z innych stanowisk,

2^o powstaje na miejscu przez kiełkowanie cyst,

3^o spędza letnią porę w jakimś innym stadium, które następnie umożliwia mu z nastaniem korzystnych warunków masową produkcję pływek.

W Ojcowie, mimo że potok Saspówkę badałam aż do jej źródeł nie znalazłam ani cyst, ani żadnego stałego stanowiska *Hydrurus foetidus*, gdzie wiciowiec ten utrzymywałby się również i w porze letniej. Fakt ten pozwala przyjąć, że źródłem pływek są w Ojcowie formy amorficzne, które być może przechowują się tu i ówdzie na kamieniach również przez okres letni. Przypuszczenie to ma jednakże jedynie charakter hipotezy, którą dalsze obserwacje i poszerzenie terenu badań pozwoli być może potwierdzić. Również dalszym badaniom należy pozostawić rozwiązanie pytania o wzajemnym stosunku form plech amorficznych, palczastych i normalnie ukształtowanych.

7. S t r e s z c z e n i e

Wyniki obserwacji przeprowadzonych nad *Hydrurus foetidus* w Ojcowie można streścić następująco:

1^o W listopadzie 1950 r. wystąpił w Ojcowie *Hydrurus foetidus* o plesze amorficznej. Plechty takie występowały także w miesiącach zimowych 1949/50 r.

2^o W marcu 1950 r. przed pojawem masowym *Hydrurus foetidus* o typowej plesze opanowała potoki ojcowskie forma *Hydrurus foetidus* o rozgałęzieniach palczastych bez komórek szczytowych.

3^o W kwietniu 1950 r. wystąpił pojaw *Hydrurus foetidus* o typowo ukształtowanej plesze.

4^o W lipcu stwierdzono zupełny zanik plech *Hydrurus foetidus*, przy czym plechy rozpadały się po otoczeniu ich inkrustacją węglanu wapniowego.

5^o W miesiącach od lipca do listopada 1950 r. nie można było odnaleźć plech ani cyst *Hydrurus foetidus* na żadnym z opisanych stanowisk w Ojcowie.

6^o W listopadzie 1950 r. wystąpił, w tych samych co w poprzednim roku miejscach nowy pojaw plech amorficznych *Hydrurus foetidus*.

Z Instytutu Botanicznego
Uniwersytetu Jagiellońskiego

LITERATURA

1. B u r s a A. 1934. *Hydrurus foetidus* Kirch. in der polnischen Tatra. Oekologie, Morphologie I; Phenologie II. Bull. Acad. Polon. Sc. et Lettr. Cl. Math. et Nat. B.
2. C z o s n o w s k i J. 1952. Kilka spostrzeżeń nad *Hydrurus foetidus* Kirch. Poznańskie Tow. Przyjaciół Nauk. T. XIII, z. 2.
3. G e i t l e r L. 1927. Die Schwärmer und Kieselcysten von *Pheoderma-tium rivulare*. Arch. f. Prot. K. Bd. 58.
4. L a g e r h e i m 1888. Zur Entwicklungsgeschichte des *Hydrurus*. Berichte d. D. Bot. Ges. Bd. VI. H. 2.
5. O l t m a n s Fr. 1922. Morphologie und Biologie der Algen I. Jena.
6. P a s c h e r A. 1913. Die Süßwasserflora Deutschlands Österreichs und der Schweiz H. 2.
7. P a s c h e r A. 1925. Die braune Algenreihe der Chrysophyceen. Arch. f. Prot. K.
8. P a s c h e r A. 1929. Über die Beziehungen zwischen Lagerform und Standortsverhältnissen bei einer Gallertalge (*Chrysocapsalae*). Jena.
9. R a c i b o r s k i M. 1888. Materiały do flory glonów Polski. Spr. Kom. F. T. XXII.
10. R o s t a f i ń s k i J. 1882. *Hydrurus* i jego pokrewieństwo. Rozpr. A. U. t. X.
11. W o ł o s z y ń s k a J. 1911. Życie glonów w górnym biegu Prutu. Spr. Kom. F. T. XLV. Dz. III.

SUMMARY

The observations on the morphology and biology of *Hydrurus foetidus* were carried out at Ojców near Cracow in a deep valley cut in the Jurassic limestone by the river Prądnik. The studies were conducted from 24-th November 1949 till 25-th November 1950, in the river Prądnik and its tributary the stream Sąpówka, as well as at the Ojców trout-breeding-station. Fig. 1.

The results of observations may be summarized as follows: In November 1950 *Hydrurus foetidus* with amorphic thallus, as represented in Fig. 2, 3 and Pl. I, 1, occurred at Ojców together with the autumn appearance of diatoms. The irregular accumulations of cells possessed a well visible mucilaginous envelope; the cells had a characteristic curved chromatophore. The amorphic thallus when brought to Cracow and preserved in current water produced swarmer in masses. The amorphic thallus occurred also during the winter months of 1949/50.

At the end of March 1950 there prevailed in the Ojców streams the form of *Hydrurus foetidus* with digital branchings, and cells disorderly arranged, without apical cells. All the stones in the rivers Prądnik and Sąpówka were covered with plenty of jelly tufts, the ends of which floated loosely in water. Such thallus is represented in Fig. 7 and Pl. I, 4. This form did not prevail long, but only preceded the appearance in masses of *Hydrurus foetidus* with a thallus shaped typically, which in the year 1950 occurred at Ojców in the month of April. At that time there occurred also forms which may be considered as intermediate between typical and digital ones. Pl. I, 5 and 6.

In July *Hydrurus foetidus* disappeared altogether. In the months of July till November there, as far as we know, was no *Hydrurus foetidus* in the localities known to me at Ojców. In November 1950 a new appearance of amorphic thallus of *Hydrurus foetidus* occurred. Neither cysts nor any permanent localities of *Hydrurus foetidus*, which would enable this flagellate form to survive also in the summer season, were found at Ojców. The supposition offers itself, that the source of *Hydrurus foetidus* appearing every year at Ojców is the amorphic thallus which perhaps is preserved here and there through-

out the summer season, and in autumn produces swarmers in masses. This is only a hypothesis; further field observations and the broadening of the field of research may enable us to solve the problem of the survival and spreading of *Hydrurus foetidus* at Ojców, as well as the mutual relation of the amorphic, the digital and the normally shaped thallus.

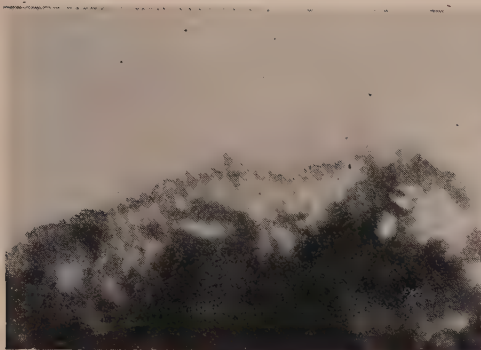
TABLICA I.

Plate I.

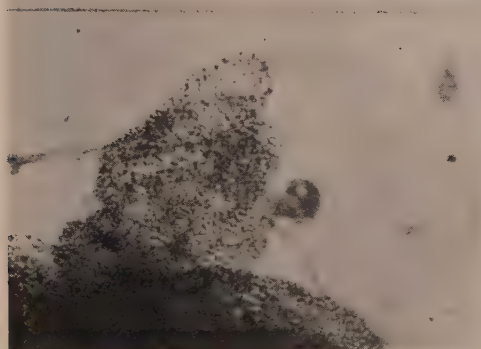
- Fot. 1. Plecha amorficzna, zebrana w Saspówce w marcu 1950 r.
Phot. 1. *Amorphic thallus gathered in the stream Saspówka in March 1950 r.*
- Fot. 2. Plecha formująca się w palczaste wyrostki, o komórkach ułożonych bezładnie, bez komórki szczytowej.
Phot. 2. *Thallus forming into digital shoots with cells arranged disorderly without apical cell.*
- Fot. 3. Fragment głównego sznura typowo wykształconej plechy z bocznymi odgałęzieniami, posiadającej komórkę szczytową.
Phot. 3. *Fragment of main string of thallus developed typically with lateral branchings possessing apical cells.*
- Fot. 4. Plecha *Hydrurus foetidus* uformowana w postaci walcowatych palczastych wyrostków.
Phot. 4. *Thallus of Hydrurus foetidus formed in the shape of cylindrical digital shoots.*
- Fot. 5. Forma pośrednia pomiędzy palczastą a typową plechą.
Phot. 5. *Intermediate form between digital and typical thallus.*
- Fot. 6. Końce płaczastych wyrostków.
Phot. 6. *Ends of digital shoots.*

TABLICA I.

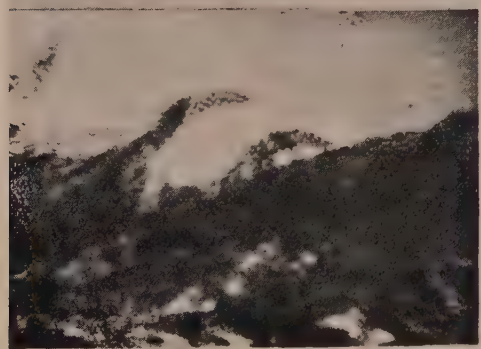
Plate I.



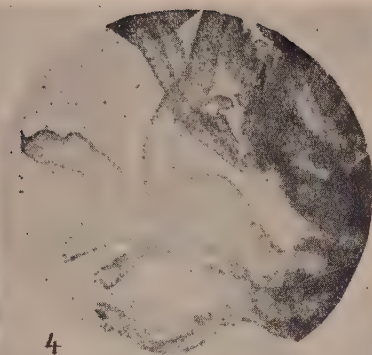
1



2



3



4



5



6

A Fertile Amphipolyploid Hybrid of *Geum rivale* with *G. macrophyllum*

W. GAJEWSKI

Botanic Garden, University of Warsaw

entered: 10. XII. 52.

I. Introduction

My previous studies on the *Geum* genus (W. G a j e w s k i 1948, 1949, 1952) have shown that within the *Eugeum* subgenus the basic chromosome number is $x = 21$. As the basic number within the whole *Geum* and other related genera is $x = 7$, this number in the case of the *Eugeum* subgenus is hexaploid. On the basis of cytological analysis of hybrids of species from the subgenus *Eugeum* and *Geum montanum* from the *Oreogeum* subgenus (W. G a j e w s k i 1942), it can be established that in the hexaploid species of the *Eugeum* subgenus the three genomes with seven chromosomes are composed of two genomes homologous with two *G. montanum* genomes. It is possible that the *Eugeum* subgenus developed by means of an amphidiploid change from a hybrid of the tetraploid *G. montanum* (or other related species) with a diploid species which may have disappeared since, or has not been identified so far. If it were so the amphidiploid change would cause the appearance of this new *Geum* type. This new type has epizoochore fruits; it has shown itself to be very expansive, and has divided into many species.

The *Eugeum* subgenus has approximately 26 species (F. B o l l e 1933) dispersed widely throughout Europe, Asia, both Americas, and one appears also in South Africa. Of these 26 species I have submitted to cytological studies 21, and I have found that 16 (*G. rivale*, *urbanum*, *molle*, *hispidum*, *albarraciense*, *aleppicum*, *silvaticum*, *canadense*, *laciniatum*, *macrophyllum*, *perincisum*, *oregonense*, *japo-*

nicum, *coccineum*, *virginianum* and *boliviense*) were hexaploid with $2n = 24$, 4 (*G. pyrenaicum*, *G. magellanicum*, *G. riojense*, *G. Faurei*) were dodecaploid with $2n = 84$, while one (*G. Quellyon*) was decaploid with $2n = 70$.

The numerous hybrids, which I obtained from crossing different hexaploid species, had usually in most PMC's 21 bivalents, while in the remaining PMC's the number of univalents varied from 2 to 10, and the number of bivalents was proportionately reduced. These hybrids showed a varied fertility which ranged from nearly normal, to almost complete sterility. The hybrids of hexaploid with dodecaploid species had in meiosis 21 bivalents and 21 univalents. This indicates that the dodecaploid species arose from crossing hexaploid species and the doubling of chromosome number in the hybrids.

The normal conjugation of chromosomes between the hexaploid species of the *Eugeum* subgenus shows that the main factors differentiating the species of this subgenus are genic mutations, and perhaps also, small structural changes in chromosomes, which do not cause deep changes in the general chromosome structure of these species. The genetic analysis of fertile hybrids (W. Gajewski 1950) shows them to differ considerably in the number of genes, some of which give fairly simple Mendelian segregations in the second generation.

Owing to the rather slight disturbances in meiosis the separation of chromosomes is more or less normal, and there are usually 21 chromosomes in the gametes. It does not follow that all these gametes have functional abilities, and the fertility of hybrids depends mainly on which of the species have been crossed.

There remains the problem of how do the dodecaploid species arise (undoubtedly the youngest phylogenetic ones) if the now existent hexaploid species (and these can be assumed to be the ancestors) had homologous chromosome groups. It is a well known fact that in natural conditions the amphidiploids originate usually from species possessing chromosomes which either are not or are only in a small degree, homologous. The amphidiploid has a normal chromosome conjugation, and its fertility is greater, whereas in meiosis of F_1 hybrids univalents prevail. Moreover, due to the presence of univalents in meiosis of F_1 hybrids, restitution nuclei and consequently gametes with unreduced chromosome numbers are formed, which is the main source of amphidiploids in nature.

The solution of the problem was obtained from the analysis of *G. rivale* and *G. macrophyllum* hybrids. The hybrids obtained from both these hexaploid species are nearly completely sterile, and their meiosis develops quite differently than in the case of other *Eugeum* hexaploid hybrids (W. G a j e w s k i 1949). In metaphase of the first PMC division no, or few, bivalents can be seen (1—7). As a result of disturbances during the separation of chromosome restitution nuclei are formed, and from these pollen grains with unreduced chromosome numbers form after the second division. This course of events is indicated both by cytological investigations and the appearance of amphiploid plants in F_2 .

The reason for the lack of conjugation between *G. macrophyllum* and *G. rivale* chromosomes must here be elucidated. The simplest hypothesis, according to which the lack of conjugation was caused by the lack of homology between the chromosomes of these two species, proved to be wrong. By crossing both *G. rivale* and *G. macrophyllum* with *G. aleppicum* or *G. canadense*, hybrids are obtained, and in these a normal conjugation with 21 bivalents can often be seen in meiosis. It follows that the structure of the chromosomes of these two species must be similar, and the chromosomes are homologous. There must be, therefore, some other factor for the lack of chromosome conjugation than the structural differences. In one or both parent species there must be some genic factors (physiological) which, though they do not influence the conjugation within the species, cause the lack of it in metaphase of the hybrid of these species. Probably, it is not a question of an absolute lack of conjugation, but rather of premature desynapsis. As I did not investigate the stages of prophase prior to diakinesis this problem could not be solved here.

Observations, made during the last few years, of the hybrid *G. aleppicum* $\times$ *G. urbanum* have shown that in different flower buds of the same plant an almost normal chromosome conjugation and complete asynapsis could be found. In some buds the disturbances are so early that meiosis does not take place, and the whole archesporium degenerates. Undoubtedly the normal development of chromosome conjugation is not exclusively dependent on the chromosomes being homologous, which condition is necessary but insufficient. The general physiological state of cells has also an important influence on the normal course of division. There are numerous factors — e. g. numerous genes, the threshold of susceptibility to outward conditions — on which the physiological state of cells depends.

Undoubtedly in a hybrid of two species, in which in the protoplasm of the mother organism two different genomes are joined, the mutual action of genic factors and of the protoplasm may be discordant, as a result the threshold of susceptibility to outward conditions is lowered, and the conjugation of even homologous chromosomes ceases.

This problem is well known and has often been discussed by numerous writers. However, there is relatively little data on the chromosome conjugation in poliploids resulting from doubling of chromosome number in those asyndetic plants in which asyndesis is not due to the lack of structural homology of chromosomes, but is caused by geno-physiological factors. It is difficult to foresee whether factors, which cause asyndesis before the chromosome number is doubled, will act also after the doubling of the chromosome number. In the case of the hybrid under consideration it appeared that they did not.

II. Description of parent species and hybrids

I obtained the first hybrid from *G. rivale* with *G. macrophyllum* in 1938. During the 5 years from 1946 to 1950 this hybrid was obtained several times by crossing different varieties of *G. rivale* and *G. macrophyllum*. The two species can easily be crossed reciprocally and the seed setting is from 47 to 72%. When properly cultivated, numerous hybrids, which develop beautifully are obtained. The F_1 generation is, as a rule, fairly uniform. Reciprocal hybrids when compared displayed no marked differences in morphology and fertility.

The *Geum rivale* used for crosses was obtained from a natural habitat near Warsaw. This is a very typical plant with much anthocyanin. Also *var. pallidum*, a variety lacking completely in anthocyanin, was used. This variety was obtained from the Botanical Garden in Copenhagen.

Geum macrophyllum was grown from seeds received from the Kew Botanical Garden. In other crosses the *pernicisum* Ryd b. variety (in fact a separate, though, very closely related species), grown from seeds gathered in Yellow Knife near the Great Slave Lake in Canada, was used.

As further hybrid generations were obtained only from crosses of the typical form of *G. rivale* with *G. macrophyllum* from Kew, I shall describe here only these parents and the hybrid obtained by

crossing them. The hybrids from the other varieties displayed the same fertility and cytological conditions, and differed only in morphological details depending on the variety used for crosses. Below is a description of the main characters distinguishing the parent species, and their appearance in the hybrid.

G r o w t h a n d s h a p e o f p l a n t s: *G. rivale* has a long overground rhizomatous stalk (a kind of caudex) on the top of which a rosette of caudical leaves is formed annually. The height of stalks reaches 50 cms, and they usually have 3—5 flowers. *G. macrophyllum* has no typical caudex, and has only a thick root base, from which adventitious roots grow and on which, during several years, basal leaf rosettes form in spring. The floral stalks are not numerous, and they reach 90 cms in height. The stalks are topped with an inflorescence composed of numerous (8—15) flowers.

The F_1 plant is similar to *G. rivale* in that it has typically shaped caudex. The numerous ramose flower stalks have 9—29 flowers, and often are higher than both parent species.

P u b e s c e n c e: The stalks and leaves of *G. rivale* are covered with short, soft, straight hairs, while the upper part of the stalk and the flower peduncles are covered with numerous glandular hairs. In *G. macrophyllum* the leaves and the whole stalk are covered with hard, protrusive, bristly hairs (cell walls of which are very thick), between which there are shorter, straight, soft ones. In the F_1 hybrid the pubescence resembles that of *G. macrophyllum*, there are no glandular hairs, and the bristly hairs are fewer and softer.

S h a p e o f c a u d i c a l a n d s t a l k l e a v e s: All the species from the *Eugeum* subgenus have pinnately divided leaves with a big terminal leaflet. The terminal leaflet in *G. rivale* is rhomboid, with a pointed base, whereas lateral leaflets are, relatively to it, fairly big and dentate. *G. macrophyllum* has a big round or reniform terminal leaflet. The leaflet has 3—5 shallow lobes and cordate base, the lateral leaflets are few and small. The leaflet margins are dentate and crenate. The first spring leaves of the F_1 hybrid resemble in shape those of *G. macrophyllum* whereas the later ones have the terminal leaflet divided into 3 rhomboid leaflets. The later leaves are intermediate in shape between the parent species. However, as all the *Geum* species are highly heterophyllous, and as successively developing caudical leaves shape differently, it is very difficult to compare the shapes of leaves accurately. This phe-



Fig. 1. The F_1 hybrid *G. rivale* × *macrophyllum* (left) and its amphiploid derivative 370-1 from F_2 generation (right) drawn to the same scale.

nomenon is still more pronounced in stalk leaves, where leaves situated on two contiguous internodes are never of the same shape. Leaves of the hybrid are approximately intermediate in dimensions between the parent species and their shape is illustrated in Fig. 1.

Anthocyanin: In *G. rivale* in the upper part of the stalk and in the calyx there is much anthocyanin. This causes the stalk and the calyx to be of a brownish red colour. In *G. macrophyllum* there is no trace of anthocyanin. In the hybrid anthocyanin is dominant though there is less of this pigment here than in *G. rivale*.

Drooping of flower peduncles: The flower peduncles of *G. rivale* droop strongly during flowering, and do not straighten up until the seeds begin to ripen. In *G. macrophyllum* the peduncles are straight and stiff from the very beginning of flowering. The drooping peduncle character dominates partly in the hybrid, in which flowers hang down somewhat less and the peduncles straighten up sooner than in *G. rivale*.

Arrangement of calyx and corolla: In *G. rivale* both calyx and corolla face upwards during flowering, and flowers are bell shaped. In *G. macrophyllum* the calyx is reflexed downwards, sepals adhere to the peduncle, and the petals spread rounded horizontally. The F_1 hybrid has usually a widely spreading calyx with horizontal or sometimes partly reflexed sepals, while the petals stand up only a little, and so the flower is opened out widely. In the hybrid the arrangement of sepals and petals is intermediate between the parent species.

Shape and pigment of petals and sepals: Sepals of calyx and epicalyx in *G. rivale* are coloured red with anthocyanin. Their lengths are approximately 15 mm and 5—6 mm respectively. *G. macrophyllum* calyx and epicalyx are green, with no anthocyanin, their lengths are 5—6 mm and 1—2 mm respectively. The hybrid has a calyx tinted red with anthocyanin, though less intensively than the parent, and the lengths of its calyx and epicalyx are 7—8 mm and 2—3 mm respectively. In *G. rivale* the petal is emarginate at the top. Its broad upper part narrows abruptly into a long, narrow claw. In *G. macrophyllum* the petals are ovoid and pointed, narrowing gradually at the base, without claw or notch at the apex. The F_1 hybrid has emarginate petals similar to those in the *rivale* parent, with traces of a small claw at the base (Fig. 1). The petals were of the following dimensions (mm):

<i>G. rivale</i>	length	$10,5 \pm 0,07$	width	$8,7 \pm 0,07$
<i>G. macrophyllum</i>	„	$7,8 \pm 0,03$	„	$6,9 \pm 0,03$
<i>F</i> ₁	„	$8,5 \pm 0,04$	„	$8,6 \pm 0,04$

It appears from the above that petals and sepals of a calyx and epicalyx are intermediate in size between the parent species. The petals of *G. rivale* are cream coloured, very often however, this is suppressed by the red anthocyanin which forms a red net along the veins, or even covers the whole surface of petals. The *macrophyllum* petals are yeollow. The petals of the hybrid are yellow, but similarly to *G. rivale* this may be partly suppressed by the red anthocyanin. In the hybrid of *G. rivale* var. *pallidum* is no anthocyanin, and the yellow colour of the petals is clearly visible, and is not discoloured.

Gynophore and receptacle (recaptaculum): In *G. rivale* the pistils are placed on a 4—5 mm long receptacle, which is covered with fairly long hairs, and which has 110—130 spirally arranged carpels. While the seeds ripen an 8—10 mm gynophore grows out between the base of the calyx and the base of the receptacle, this causes the ripe achenes to be wholly above the elevated sepals of the calyx. In *G. macrophyllum* the ripe achenes are placed on a cylindractal or flattened receptacle which is 10—12 mm long. The receptacle is covered with scarce, short hairs, and there on it 200—240 carpels. There is no gynophore. In the hybrid the receptacle is 4—5 mm long. It is covered with long hairs, and there are 150—170 carpels on it. The gynophore is short and its length is 1—2 mm, $1,47 \pm 0,5$ mm on the average.

Shape of pistils and achenes: *G. rivale* belongs to the *Gmeliniana* section, and has stalks with few and usually big flowers and a long filiform stigmal part of the pistil which is usually longer than a half of the rostrum. *G. macrophyllum* belongs to the *Murrayana* section, and has stalks with numerous small flowers of which the stigmal part of the pistil is short, comalike and not longer than $1/3$ of the rostrum length. In *G. rivale* the achene, the rostrum and the stigmal part of the pistil are longer and also more thickly covered with longer hairs than in *G. macrophyllum*. The lengths of achenes, the rostrums and stigmal parts of the parent species and the hybrid are the following:

G. rivale achene 5,8 mm, rostrum 8,5 mm, stigmal part 5,0 mm,

G. macrophyllum achene 2,8 mm, rostrum 4,0 mm, stigmatal part 1,5 mm,

F_1 achene 4,2 mm, rostrum 7,7 mm, stigmatal part 3,3 mm.

It appears from the above that in the hybrid the achene and stigmatal part are intermediate in length between the parent species, while the rostrum resembles more that in the *G. rivale* parent. In *G. rivale* the achene and $3/4$ of the rostrum are covered with long, straight hairs and with glandular ones. In *G. macrophyllum* straight hairs can be found only on the achene, whereas on the rostrum there are scarce glandular ones. The pubescence of achenes and pistil in the hybrid is similar to that of the *macrophyllum* parent.

Flowering time: *G. rivale* begins to flower 10—12 days before *G. macrophyllum* and the hybrid begins flowering earlier than both parent species. E. g. in 1952 *G. rivale*, *G. macrophyllum* and their hybrid began to flower on May 1-st, May 12-th and April 28-th respectively.

Fertility: The fertility of pollen and seeds in both parent species was high and ranged from 88 to 96% of good pollen grains, and nearly 100% of well grown achenes. The F_1 hybrids shows a very high degree of sterility. The fertility of the pollen in different preparations ranged from 0,2 to 0,8%, on the average 0,5%.

The aspect of a pollen shows a considerable diversity (the pollen was examined in a 1 : 1 mixture of acetocarmine and glycerin), and among the bad grains which do not stain with acetocarmine some very small ones, the diameter of which was 5—7 μ , were found, whereas the average diameter of bad grains was 20 μ . Good grains which stain with acetocarmine are filled with protoplasm, have 2 nuclei and their diameter is approximately 32 μ ; Often however, big grains with a diameter up to 40 μ are found. The fertility of hybrid seeds is even lower. Usually, most flowers of a hybrid never form good achenes, and overblown flowers quickly wither. Single (rarely 2 or 3) achenes develop in 1 out of 10 or 12 flowers, which makes approximately 0,06% of all pistils. Seeds from this hybrid were obtained only in the course of free polination. Neither artificial selfpolination, nor polination with pollen of a parent species have produced results so far.

III. F_2 and other filial generations

The second generation was grown from seeds of F_1 parents obtained in the course of free and uncontrolled polination. In 1946, 47 seeds were gathered and on September 28-th they were sown out. Of these seeds, 5 came up in Autumn of the same year, and 12 in

Spring of 1947. From the seedlings, in 1948, 10 flowering plants were obtained. The general appearance of the plants was not uniform. As the polination of F_1 hybrid was free, and as it grew near many *Geum* species and hybrids, most of these plants were probably obtained from polination of the hybrid by the pollen of the other *Geum* plants. This is indicated by both, morphological features, and their almost complete sterility. However, three plants indicated by numbers 370-1, 370-2, and 167-3 were particularly remarkable, because morphologically they greatly resembled the F_1 plant. Especially, in plants 370-1 and 167-3 the different parts, such as leaves, sepals, and petals, were enlarged, and both plants were remarkable by the intense dark green. A description of these plants will be mainly a repetition of the description of the F_1 plants, and so, I shall not give it here. Some idea of their appearance can be obtained from Fig. 1 which depicts F_1 plant and No 370-1 of F_2 . To demonstrate the enlarged dimensions of organs of F_2 plants, measurements of length and width of 50 petals of F_1 and F_2 plants are given:

Length of petals											
mm	5	6	7	8	9	10	11	12	M	m	
F_1			4	11	17	13	5			8.58	0.04
F_2 (370-1)					5	16	21	8		10.14	0.01
Width of petals											
mm	5	6	7	8	9	10	11	12	13	M	m
F_1			4	10	14	18	4			8.66	0.04
F_2 (370-1)					1	5	18	22	4	10.94	0.01

Nos 167-3 and 370-1 resemble each other greatly, whereas No. 370-2 differs little from F_1 plants, though its petals and leaves are somewhat bigger. In spite of their different organs being enlarged the F_2 plants are lower than the F_1 ones, and their average height is 40—58 cms.

A very remarkable problem is that of fertility of these plants. In number 370-1 the percentage of good pollen was 59.3. In each flower out of the 140—160 pistils 30—40 good achenes developed, which made approximately 23.3%. As in the F_1 plant one achene developed from about 10 flowers, which was appr. 0.06%, the fertility of F_2 in relation to F_1 increased approx. 400 times. The fertility of No 167-3 was also high and was 39.2% and 21% of pollen and seeds respectively (in two flowers out of 328 pistils 69 good achenes developed).

The third plant, No 370-2, was completely sterile both in pollen and in seeds. The remaining 7 plants of the F_2 generation were

not examined cytologically. They were highly sterile and probably developed from polination with alien pollen. Cytological examination of the first three plants — which will be described in detail in part IV of this paper shows that Nos 370-1 and 167-3 are dodecaploid. They form, in metaphase of the first PMC division, 42 bivalents and a varying from 2 to 12 — number of univalents. No 370-2 is 9-ploid, and in metaphase is has 21 bi- and 21 univalents. It is, therefore, very probable that the first two plants originate from the union of two unreduced gametes of the hybrid, whereas the third plant originates from the union of one reduced and one unreduced gamete.

No 370-1 was isolated from the other *Geum* plants and in 1950 from the gathered seeds a F_3 generation of 25 individuals was obtained (No 3701). Morphologically the F_2 generation resembled greatly the parent plant and its population was fairly uniform. This generation shows however a slight segregation of such characters as pubescence, flowering time, size of petals and, especially, the length of gynophore which is absent in 7 and 1—4 mm long. in the remaining 18 plants. Measurements of petals (mean values of 50 measurements) of each of the plants were:

No.	Length	Width	No.	Length	Width	No.	Length	Width
1	11.5	11.8	10	10.1	10.8	19	12.7	12.5
2	12.2	12.5	11	12.1	12.5	20	10.5	10.6
3	10.3	10.7	12	10.5	10.2	21	12.7	12.6
4	12.2	12.3	13	10.4	11.2	22	10.2	10.5
5	11.8	11.7	14	11.1	11.3	23	10.3	10.4
6	11.2	11.6	15	11.6	12.1	24	10.7	10.7
7	10.5	10.7	16	10.0	10.7	25	12.1	12.5
8	10.7	9.9	17	11.9	11.8			
9	12.1	12.2	18	10.7	10.8			

As it appears from the table the lengths of petals vary from 10.0 to 12.7 mm and their widths from 9.9 to 12.5 mm and plainly surpass the limit of variability of the F_2 plant, which shows that in F_3 the factors determining the dimension of petals segregate. Similar results were obtained in measurements of calyx and epicalyx lengths. In spite of differences in their size there are no fundamental differences in the shape of petals of all F_3 plants.

However, the F_3 plants have shown the greatest differences in fertility. In this generation there are plants which, in compa-

rison to F_2 No 370-1, have both a lower and an almost normal fertility. The fertility of individual plants of F_3 is as follows:

No	Pollen fert.	Seed fert.	No	Pollen fert.	Seed fert.
1	12,0	14,2	14	14,4	17,2
2	24,1	18,7	15	0,7	0,0
3	84,2	28,7	16	24,2	18,8
4	41,3	29,4	17	64,4	35,2
5	47,6	32,6	18	85,7	52,3
6	20,5	8,4	19	19,3	14,7
7	61,3	37,4	20	81,2	49,3
8	47,1	33,0	21	62,0	17,2
9	49,2	21,2	22	75,1	44,4
10	65,3	25,2	23	84,4	29,4
11	17,1	7,7	24	78,8	19,3
12	14,2	8,4	25	17,2	14,3
13	52,3	23,2			

If it is remembered that in No 370-1 pollen and seed fertility is 59,3% and 23,3% respectively, it must be ascertained that approximately 20% of F_2 plants have a higher fertility than the mother plant. On the other hand, besides much more fertile plants, there was one which was almost completely sterile.

Owing to a lack of time and space, the F_4 generation was grown from one of the F_3 plants, i. e. the most fertile No 18. The obtained F_4 generation flowered in 1952 and was composed of 37 individuals. Morphologically this generation was more uniform than F_3 and reproduced fairly exactly the type of the F_2 No 370-1. Its fertility is much higher than that of F_3 generation, and ranges from 60,2% to 87,2% and from 34,2% to 62,1% for pollen and seeds respectively. In 1952 the *Geum* cultures were viciously attacked by parasite fungi which lessened their vigour and possibly their fertility. It may be that, if the conditions were normal, the fertility of at least some of the plants would be higher.

Besides F_3 raised from No 370-1, I had, in 1950, a small F_3 family of 14 individuals raised from No 167-3. These plants were fairly uniform and resembled the mother plant, but their fertility was rather low, i. e. 35,2—62,4% and 13,3—37,2% for pollen and seeds respectively. Farther generations from these plants were not grown.

On the whole, it can be said that the progeny of amphidiploid plants obtained in F_2 bred true, giving a comparatively slight se-

gregation of morphological characters and a fairly considerable segregation in the degree of fertility. In F_3 and F_4 generations plants with fertility much higher than that of the mother plant have appeared, which makes it plausible to presume that an adequate selection may greatly increase the fertility of these amphidiploids.

IV. Cytological examination

Cytological examinations were done mainly on fixed material. Root tips were fixed in Navashin and flower buds were first placed for 4—5 mins. in Carnoy, and then fixed in Navashin. After immersion in parafin and slicing with microtome the preparates were stained with cristal violet according to Newton's method. In some cases meiosis in PMC's was examined in pressed out preparates stained with acetoorcein or acetocarmine.

In both *G. rivale* and *G. macrophyllum* there are 42 chromosomes in the somatic plate. Similarly to the whole genus the chromosomes here are small and hardly differ in size. In both species the course of meiosis in PMC's is absolutely normal. In metaphase of the first division 21 bivalents are formed, and both divisions develop without disturbances. The course of meiosis and the metaphase plate of *G. rivale* are already described (W. Gajewski 1951, 1952), and so in the present paper only several drawings illustrating the course of meiosis in *G. macrophyllum* are given (Figs. 2a-c).



Fig. 2. Meiosis in P.M.C. of *G. macrophyllum*. a-metaphase I, b-c-metaphase II.

The course of meiosis in the F_1 *G. macrophyllum* $\times$ *rivale* hybrid was also previously described (W. Gajewski 1949). The results were then given of an analysis of 31 PMC's in the M I stage during which the following arrangements of chromosomes were found:

$0_{II} + 42_I$ in 3 PMC's	$4_{II} + 34_I$ in 6 PMC's
$1_{II} + 40_I$ in 5 PMC's	$5_{II} + 32_I$ in 2 PMC's
$2_{II} + 38_I$ in 4 PMC's	$6_{II} + 30_I$ in 5 PMC's
$3_{II} + 36_I$ in 5 PMC's	$7_{II} + 28_I$ in 1 PMC

In that paper a detailed description of the course of meiosis in PMC is given (l. c., page 231 and Figs. 38—40 and 57—65). To enable a comparison of the course of meiosis in the F_1 hybrid with that of its amphidiploid progeny several drawings of the course of meiosis in PMC are given here (Figs. 3a-h). During diakinesis (Fig. 3a) four unmistakable bivalents are visible, whereas the rest are univalents. M I as seen from above, with 4 or 5 bivalents and remaining univalents visible, is illustrated by Fig. 3b. In this drawing only those chromosomes which lie more or less in one plane, or just near it, are drawn in, the remaining ones dispersed in the spindle on either side of the plane, are not. As it can be seen from Fig. 3c and 3d, the chromosomes in M I do not form a regular plate, and only bivalents and some of the univalents lie on the equatorial plane of the spindle. The other univalents are dispersed irregularly throughout the spindle. Often, as a result of disturbances during the anaphase division, chromosomes do not separate to the two daughter nuclei, and then restitution nuclei are formed (Fig. 3f). Then the restitution nuclei undergo a normal division and dyads are formed (Fig. 3h). The percentage of dyads found among tetrads varied



Fig. 3. Meiosis in P.M.C. of F_1 hybrid *G. rivale* $\times$ *macrophyllum*. a-diakinesis with 4 bivalents, b-metaphase I from polar view with ab. 4 to 5 bivalents, only chromosomes lying on the plate are drawn, c-d- metaphase I from side view with plenty of univalents scattered on the spindle, e-metaphase I with 40 chromosomal bodies, f-restitution nucleus, g-metaphase II with 22 chromosomes in one of the plates, h-dyad.

in the different preparates from 0,2 to 1,5. In cells in which restitution nuclei do not form, univalents are separated during late anaphase into two groups. Often however, several chromosomes are not included in the daughter nuclei, and lag in the cytoplasm. Daughter nuclei undergo then a homeotypic division, and often in metaphase of the second division the presence of 21 or nearly 21 chromosomes on the plate can be observed (Fig. 3g). This indicates that univalents can be divided almost equally between the two daughter nuclei. As a result of the second division normally looking tetrads composed of 4 microspores are formed. However, most microspores degenerate and only those which have an unreduced, or rarely haploid, number of chromosomes develop into pollen grains. I have found a very similar course of meiosis in the hybrid of *G. macrophyllum* with *G. rivale* v. *pallidum* and also in the hybrids of *G. macrophyllum* v. *perincisum* Rydb. with *G. rivale*. The same type of meiosis is found not only in the hybrids *G. macrophyllum* with *G. rivale*, but also in the hybrids of the first species with such species as *G. urbanum*, *molle*, *hispidum*, *silvaticum* and *laciniatum*. Only in hybrids of *G. macrophyllum* with *G. aleppicum* or *G. canadense* the course of meiosis is either normal with 21 bivalents, or with not more than 1—3 chromosome pairs appearing as univalents. The course of meiosis of such hybrids as *G. macrophyllum* $\times$ *G. aleppicum* is illustrated in Figs. 4a-f, and of hybrids

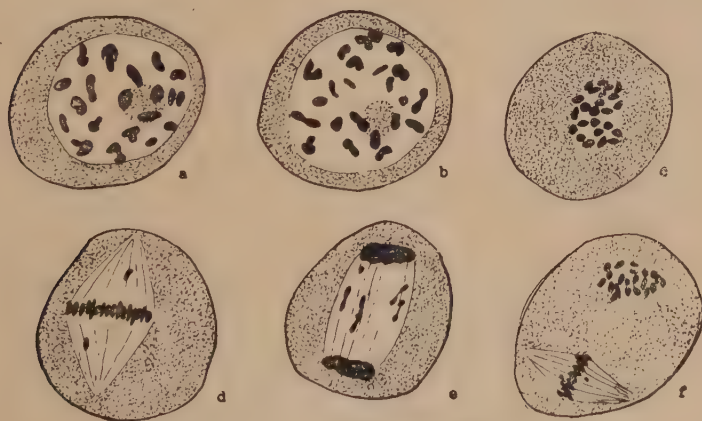


Fig. 4. Meiosis in P.M.C. of F_1 hybrid *G. macrophyllum* $\times$ *aleppicum*. a-diakinesis with 21 bivalents, b-diakinesis with 19 bi- and 4 uni-valents, c-metaphase I with 24 chromosomal bodies, d-metaphase I with 2 univalents, e-anaphase I with univalents lagging on the spindle, f-metaphase II with 21 chromosomes in one of the plates.

G. aleppicum $\times$ *rivale* in Figs. 5a-f. It can be seen that both these species give with *G. aleppicum* hybrids in which the course of meiosis is normal and chromosome conjugation complete in at least a part of PMC's. It follows that, if chromosomes of *G. macrophyllum* and *G. rivale* were capable of normal conjugation with chromosomes of a third species, they must be homologous. Thus, the complete or nearly complete asyndesis in metaphase of *G. macrophyllum* $\times$ *G. rivale* hybrid does not result from a lack of homology between the chromosomes, but probably is caused by a too early desynapsis

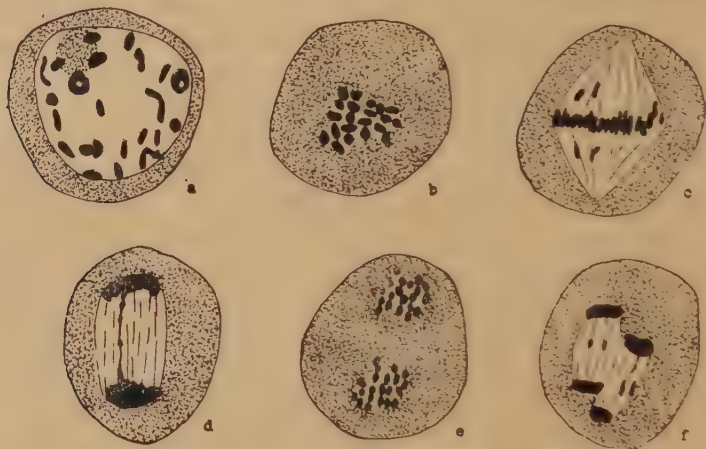


Fig. 5. Meiosis in P.M.C. of F_1 hybrid *G. aleppicum* $\times$ *rivale*. a-diakinesis with 19 bivalents and 4 univalents, b-metaphase I with 21 bivalents, c-metaphase I with 4 univalents on the spindle, d-anaphase I with a bridge, e-metaphase II with 21 chromosomes in each of the two plates, f-anaphase II with lagging chromosomes.

taking place in prophase. However, the lack of adequate preparations from early prophase made the observations of the beginning of desynapsis impossible.

Somatic plates of F_2 plants were not examined. However, the degree of the polyploidy could be judged of with great accuracy from the course of meiotic division in PMC's. In No 370-1 plant, in late diakinesis the number of chromosomes in the nucleus is remarkably great. Both the chromosomes and the nucleus are bigger than in F_1 plants. The great number of chromosomes which overlay each other and the frequent formation of chromosome groups by chromosomes lying very near or even closely touching each other made the counting of them extremely difficult. The chromosomes were counted fairly exactly only in 3 PMC's, and their number was

found to be approx. 42, 44 and 39 in the respective cells (Fig. 6a). It is very difficult to distinguish at this stage uni- from bivalents. It is not till in the first division metaphase that the analysis of numerous plates shows them to be bivalents (Figs. 6b and 6c) and not

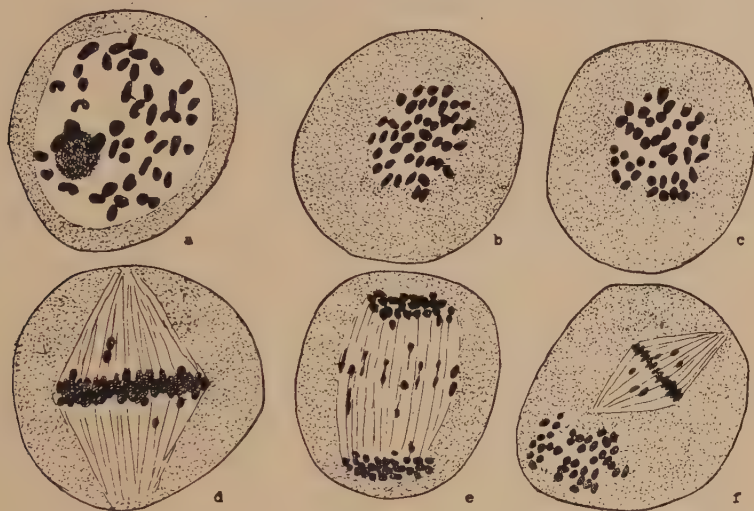


Fig. 6. Meiosis in P.M.C. of the F_2 hybrid *G. rivale* $\times$ *macrophyllum* nr 370-1. a-diakinesis with 45 chromosomal bodies, b-metaphase I with 44 chromosomes, c-metaphase I with 42 chromosomes, d-metaphase I from side view with many bivalents and ab. 12 univalents, e-anaphase I with univalents lagging on the spindle, f-metaphase II with ab. 39 chromosomes in one of the plates.

univalents, as is the case in the F_1 hybrid. In some PMC's all chromosomes are tightly packed in a plate and in a longitudinal view there is no doubt that only bivalents are present. In other quite numerous cells there are, besides the bivalents 2—14 univalents which usually are dispersed throughout the spindle and on the plate (Fig. 6d). Altogether 39 metaphase PMC's were analysed, and the following chromosome arrangements were found:

42 _{II} + 0 _I in 5 PMC's	38 _{II} + 8 _I in 3 PMC's
41 _{II} + 2 _I in 7 PMC's	37 _{II} + 10 _I in 4 PMC's
40 _{II} + 4 _I in 14 PMC's	36 _{II} + 12 _I in 1 PMC
39 _{II} + 6 _I in 4 PMC's	35 _{II} + 14 _I in 1 PMC

The course of anaphase differs greatly in different cells, and depends on the number of univalents. When there are none, or only 2—4, anaphase develops quite normally, and in its later stages no chromosomes can be seen on the spindle between anaphase groups. However, if in metaphase the univalents were numerous, then in late

anaphase after the separation of bivalents some (sometimes even a dozen or more) univalents lag in the spindle, and often arrange themselves in a regular ring on the equatorial plane of the spindle (Fig. 6e). The univalents lying on the equatorial plane of the spindle either divide, and their halves move to the opposite poles, or stretch out along spindle axis, and then each one moves to one of the poles as an elongated hank. This kind of behaviour of univalents may be found also in other Geum hybrids (W. Gajewski 1949). In some PMC's as the result of retarded division and lagging in the movement toward the poles, some univalents are not included in the daughter nuclei. However, in most PMC's there are only two nuclei in telophase and interkinesis, and neither small nuclei nor chromosomes lag in cytoplasm.

The course of the second division is usually fairly normal, though sometimes, in metaphase, some chromosomes lie off the equatorial plane, and in anaphase some of them lag on the spindle. In the M II plate the chromosome number is not always 42, but may vary from 39 to 45 (Fig. 6f). The tetrads look quite normal. Dyads are never observed. However it seems that, due to the considerable number of univalents and their unequal separation, not all microspores are capable to develop, and many degenerate, thus the percentage of well grown pollen grains is only 59.3

The course of meiosis in No 167-3 plant is essentially the same as in No 370-1, though in the first plant the number of univalents is far greater. Not one cell without univalents was found. In 11 PMC's observed in M I stage the arrangements of chromosomes were as follows:

41 _{II} + 2 _I in 1 PMC	37 _{II} + 10 _I in 2 PMC's
40 _{II} + 4 _I in 1 PMC	35 _{II} + 14 _I in 4 PMC's
38 _{II} + 8 _I in 1 PMP	34 _{II} + 16 _I in 2 PMC's

In the late anaphase, after the separation of daughter bivalents, the numerous univalents form on the plane a fairly regular plate. This can be observed in numerous PMC's. The univalents behave in a way similar to that described in the case of the previous plant. In most PMC's, in spite of much lagging, all univalents separate, and are included in the daughter nuclei. In two PMC's, during metaphase of the second division, exactly 42 chromosomes were found. It is probable that the lower pollen fertility of this plant is caused by the presence of a great number of univalents during the first division.

In the sterile plant No 370-2 the course of meiosis is quite different. In numerous metaphases, both in polar and longitudinal views, it can be seen that the total number of chromosomes is also 42 (Fig. 7a), but in each cell there are approximately 21 bi- and 21 univalents. In the longitudinal view a compact plate of bivalents and 21-27 univalents are visible. The univalents are dispersed at the sides of a plate and on the spindle (Figs. 7b and 7c). In anaphase,

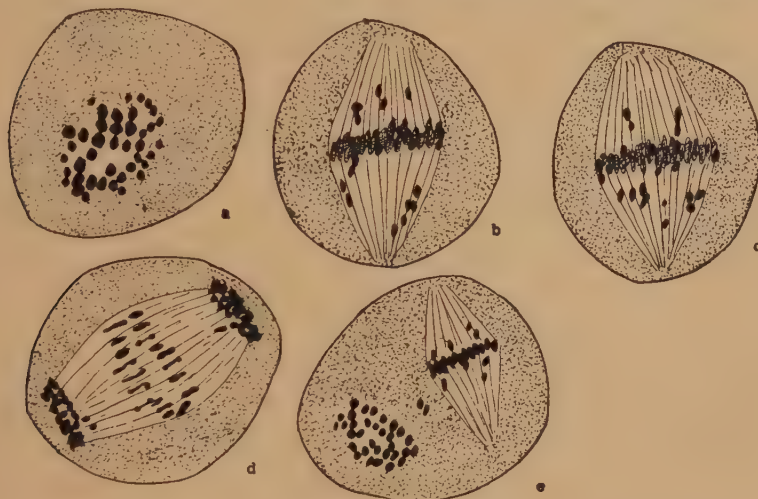


Fig. 7. Meiosis in P.M.C. of the F_2 hybrid *G. rivale* x *macrophyllum* nr 370-2. a-metaphase I with ab. 40 chromosomes, b-metaphase I with 21 univalents, c-metaphase I with 23 univalents, a-anaphase I with a ring of univalents on the equator of the spindle, e-metaphase II.

after the separation of daughter bivalents, the univalents form a ringlike plate on the outer layers of the spindle (Fig. 7d). Usually the number of univalents is less than 21 and varies between 13 and 19. This indicates that some of them separate together with the bivalents to the daughter nuclei. In late anaphase the usually undivided univalents separate to the two poles, though sometimes they divide, and single chromatides move to the poles. In metaphase of the second division the number of chromosome varies. (Fig. 7e). The following numbers have been observed: 32 twice and 31, 28, 35 and 36 once each. Disturbances in the course of the second division are also fairly numerous e. g. chromosomes lie outside the two M II plates, often several chromosomes lie lagging on the spindle. In spite of this tetrads look normal and have four microspores, and dyads have not been found. Nevertheless, nearly all microspores de-

generate, and the number of good pollen grains which stain in carmine is extremely small.

It thus appears that plant No 370-2 is a 9-ploid. It probably arises either from the union of two, one reduced nad one unreduced hybrid gametes of the F_1 hybrid, or perphas from polination of an unreduced egg-cell of the F_1 hybrid with pollen containing 21 chromosomes of some other *Geum* species or hybrid. However, the great morphological resemblance of No 370-2 to F_1 hybrid makes the first assumption more plausible. This may indicate that in F_1 reduced gametes possessing function abilities can be formed.

Unfortunately, the number of plants from the F_3 generations examined cytologically was small. The main reason for this was that in 1950 and 1951 most fixation proved to be defective, and were too weak for exact cytological analysis. In 1952 meiosis was examined in the most fertile No 18 plant from the F_3 generation (No 3701), on smear preparations. It was found that the course of meiosis is on the whole the same as in No 370-1. However, the course of meiosis is far more normal, and PMC's without or with only few univalents are more numerous than in the mother plant. In 22 PMC's in the M I stage the following chromosome arrangements were found:

$42_{II} + 0_I$ in 7 PMC's	$39_{II} + 6_I$ in 3 PMC's
$41_{II} + 2_I$ in 5 PMC's	$38_{II} + 8_I$ in 1 PMC
$40_{II} + 4_I$ in 6 PMC's	

Furthermore, in 1952 the somatic number in root tips of 5 F_4 generation plants was examined. It was found that in all the 5 plants this number was ab. 84 (Fig. 8a), but owing to the considerable amount of chromosomes and their partial adhesion to each other, the counting was done with an exactitude of ± 2 chromosomes. Meiosis was examined in smear preparations stained with acetoorcein. It was found that in many plants, the course of meiosis was rather regular, and that in many cells there were no, or only a few, univalents (Figs. 8b and 8c).

It can be said that, on the whole, in F_3 and F_4 generation plants meiosis develops more regularly, and the number of univalents is smaller than in plant No 370-1. As a result of the presence of univalents in meiosis and disturbances in their separation, not only amphidiploid, but also aneuploids may appear. However, this was not established with certainty, as in the diploid chromosome number of 84 it was difficult to count the chromosomes and to discern the

lacking, or additional, one or two. Nevertheless, it is possible that the sterile, or partly sterile, plants from the progeny in the further generations of the amphipolyploid, may be such aneuploids.

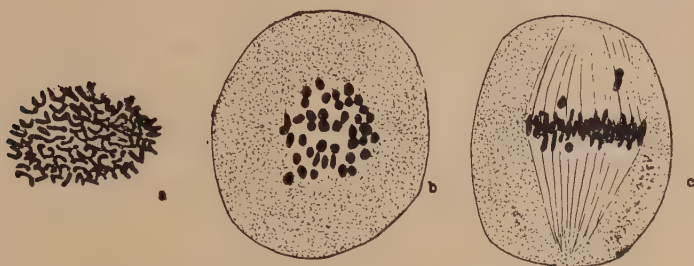


Fig. 8. F_4 *G. rivale* $\times$ *macrophyllum*. a-somatic plate with 84 chromosomes, b-metaphase I with 42 bivalents, c-metaphase I from side view with 4 univalents.

V. Discussion

The present state of observations of the *G. macrophyllum* $\times$ *G. rivale* amphidiploid indicates that, although its fertility is far from being normal, the plants appearing in successive generations are more and more fertile, and their meioses are more and more regular in comparison to the original amphidiploid. It seems therefore probable that, if this amphidiploid appeared in nature it would be capable of surviving and developing into a new species. The strong selection, which acts in nature of the most fertile individuals would further such a course of events. The two parent species appear together on large territories in USA and Canada, and so the possibility of a cross between them is great. In fact, a hybrid of these two species from the territories of their common habitat has been described, and named *Geum pulchrum* Fernald. It was described by Fernald (1906) as a new species, but Rydberg in his North American Flora recognized it to be a hybrid of *G. macrophyllum* $\times$ *rivale*. The hybrid has been found in the State of Vermont in USA and in the Quibek and Alberta provinces in Canada. A cytological examination of these natural hybrids is very necessary, and this need should be met by the American botanists.

The now existent 12-ploid species from the *Eugeum* subgenus, such as *Geum pyrenaicum* and *G. Fauriei*, show a close relation and similarity to some 6-ploid species appearing in their neighbourhood. E. g. the 12-ploid *Geum pyrenaicum* from the Pyrenees has probably one chromosome set from the 6-ploid *G. silvaticum* from the

West Mediterranean area and one from an other species related to *G. urbanum*. The hybrids of these two species closely resemble *G. pyrenaicum*, but, so far, I have not succeeded in obtaining a doubling of their chromosome numbers. Also the 12-ploid *G. Fauriei* growing in Japan and in Sacchalín has many features of two hexaploid species *G. japonicum* (a japono-chinese species) and *G. macrophyllum* growing in the Far East in Kamchatka, Sachalín, and east Siberia. The dodecaploid species are undoubtedly the youngest in the evolution of the *Eugeum* subgenus, and are younger than the hexaploid ones. The probability, that the parent species of dodecaploids still exist, is great. Detailed studies and attempts of doubling the chromosome number in the hybrids may lead to an experimental raising of these species. Although the amphidiploid hybrid described here has not been found in nature, the understanding of the mechanism of its origin is of importance in studies on amphidiploidy in nature. All hexaploid species from the *Eugeum* subgenus studied so far have homologous chromosome sets. E. g. *G. rivale* has been crossed with 9 other hexaploid species and with all has shown a potentially complete chromosome conjugation in F_1 hybrids. This also is the case with other hexaploid *Eugeum* species with the exception of *G. macrophyllum* (and the closely related to it *G. perincisum* and *G. oregonense*). *G. macrophyllum* in crosses with 7 species gives hybrids, the meiosis of which is asyndetic and such as described in this paper, and with two species only (*G. canadense* and *G. aleppicum*) the hybrids have a potentially complete chromosome conjugation. Cytoplasm seems to have no influence on asynapsis, as no differences in the course of meiosis in reciprocal hybrids are observed.

All this indicates that in *G. macrophyllum* genome there must be some factor, or set of factors, which causes the union of this genome with the genome of some other species to result in a partial, or even complete, deficiency of bivalents in the first division metaphase of the hybrids. A deficiency of bivalents in metaphase does not result from a lack of structural homology of chromosomes, but is caused by factors of a genico-physiological nature. Nothing is known how these factors act. Probably the conjugating chromosomes separate too early, a phenomenon known in the literature of the subject as desynapsis. I found in the hybrid of *G. aleppicum* x *urbanum* in different buds of the same plant, both a normal conjugation and complete asynapsis exactly similar to that described previously. Undoubtedly the continuity of chromosome conjugation, from prophase to the end of first division metaphase in meiosis, is decisively

influenced by the physiological state of cells. This state depends on a harmonious concurrence of genic factors introduced by the two genomes, cytoplasm of the mother organism and all the environmental conditions.

In the *G. macrophyllum* genome there must be some factors which in crosses with most *Geum* species cause, in the hybrid genomes, an abnormal course of prophase and desynapsis. At the same time, these factors cause an almost complete sexual isolation of the *macrophyllum* species from other related hexaploid species. It is interesting that all hybrids, of which one of the parents is *G. macrophyllum*, are almost entirely sterile, even though some of them show a normal chromosome conjugation. Some of these hybrids have a lowered vitality, and disturbances in development as well as flower deformations occur in them. It is impossible to decide at present, whether all these effects are brought about by the same factors or by different ones.

For the present considerations it is of importance that, as a result of asyndesis, the highly sterile hybrids produce functionally capable, unreduced gametes. Owing to this, the hybrids can give a fertile amphidiploid progeny.

From crosses between a number of hexaploid species I obtained numerous fertile hybrids with a normal chromosome conjugation. All these hybrids, in F_2 and further generations, give plants with character combinations different from those of the parent species. The characters show different, more or less complex segregational ratios. If crosses took place in nature, either small hybrid populations form, or a mutual introgression of the two species takes place. The probability of a new amphidiploid arising from these hybrids is extremely slight, because: 1) the hybrid gametes have a reduced chromosome number, and so the doubling can only be somatic, 2) as the chromosomes are entirely homologous the possibility of the amphidiploids being highly fertile is small.

Undoubtedly, the appearance in one of the species of factors, which in hybrids of this species with other ones cause asyndesis, may greatly quicken the evolution of new polyploid types. In two species developed owing to — for instance — geographical isolation and independent, in the two isolated populations, genic and chromosome mutations, the disappearance of homology between sets of chromosomes is usually very slow. On the other hand, it is known that the development of asyndesis may be dependent on one gene and may be caused by one mutation. E. g.: two species from the

Eugeum subgenus, the North American *Geum canadense* and *Geum coccineum* growing in the Balkans and Asia Minor, are isolated from each other since at least the middle of the Tertiary. In spite of this, their chromosomes are homologous and hybrids from crosses between them are fertile. In the literature of the subject there are many examples of chromosome homology and even high hybrid fertility being retained in spite of very long isolation. E. g. the North American *Platanus occidentalis* and the *Pl. orientalis* from the Mediterranean Region give a fertile hybrid (*Pl. acerifolia*), which has a normal meiosis. (S a x 1933). Probably, both these specific populations are isolated from each other since the middle of the Tertiary, i. e., for approx. 30 million years. As we see, in some cases sexual isolation may develop extremely slowly, though undoubtedly, in other cases this may happen much more quickly. Thus, the appearance of genic differences which cause asynapsis, may be the factor bringing about a much earlier sexual isolation between species with homologous chromosome sets. It would be extremely interesting to investigate the nature of factors, on which a normal or abnormal course of meiosis depends. We know that there are numerous genes, which influence the development of chiasmata, the formation of spindles etc. A statement may be risked that each successive stage in division has a specified gene, which regulates it. So far mainly, those genes are known, the recessive allelomorphs of which in the homozygous state bring about, within the different plant and animal species, disturbances in some definite stages of meiosis. The first such gene has been found in maize (B e a d l e 1930, 1933) and named „asynaptic“. It prevents the development of chiasmata between conjugating chromosomes in pachytene. As a result, univalents alone, or almost alone, appear in metaphase. Also other such recessive genes have been found in maize. These do not influence the conjugating chromosomes, but prevent the formation of the spindle (B e a d l e 1932). Similar genes were also described in numerous other organisms, e. g. *Datura* (B e r g n e r. C a r t l e d g e, B l a k e s l e e 1934), *Crepis* (H o l l i n g s h e a d 1930), *Drosophila melanogaster* (G o w e n 1931) and many others.

The number of known asynapses with a genico-physiological nature appearing in interspecific hybrids is far smaller. The main reason for this is that usually the study of factors that bring about asynapsis is difficult, because the sterility of hybrids makes a genetic analysis impossible. D o b z h a n s k y (1941) thinks that the

behaviour of chromosomes after the doubling of their number is the main criterion for distinguishing whether, the appearance of univalents in an interspecific hybrid is caused by genic factors, or by the lack of structural homology in chromosomes of the two species. He writes (l. c. page 327): „Where chromosome pairing in a diploid hybrid is suppressed by the genetic constitution rather than by dissimilarities in the gene arrangements, the same suppression should be encountered in the allotetraploid derived from it“. To support this statement he describes hybrids of A with B races of *Drosophila pseudoobscura*. In this hybrid when, in the diploid spermatocytes, there are only bivalents, then in tetraploid spermatocytes there are bi-, tetra- and also tri- and univalents. However, if in hybrids of other strains there are only univalents in the diploid spermatocytes then also in tetraploid spermatocytes the conjugation is unchanged.

In the case of the hybrid here described the situation is different. The nature of asynapsis is not structural. This is indicated by the normal conjugation between chromosomes of each of the parent species with those of other species, such as *G. aleppicum* and *G. canadense*. Nevertheless, after the doubling of chromosome number the amphiploid hybrid shows a normal or nearly normal conjugation. Thus, the doubling of chromosome number suppresses almost entirely asyndesis, when it is of genic nature. This reveals itself by a simultaneous and great increase of fertility of amphidiploids in relation to F_1 hybrids.

The disaccord of my results and the results of Dobzhansky very extensive studies on *Drosophila* may be due to the different material used for experimenting. In the first place, undoubtedly the term „genic sterility“, as distinguished from „chromosome sterility“, introduced by Dobzhansky does not comprise a uniform phenomenon. The term „genic sterility“ is synthetical and denotes a number of phenomena, the physiological causes of which are often different. The lack of chromosome conjugation in meiosis of hybrids, may have different causes such as:

- 1) Chromosomes from the A species do not conjugate with chromosomes from B species, because there is no harmony in the cooperation of the hybrid nucleus with the cytoplasm from the mother species.
- 2) Chromosomes from the A species do not conjugate with chromosomes from the B species, because, as a result of the bringing together of two physiologically unadjusted genomes there is no chromosome conjugation, and the premature break up in

two chromatids prevents the formation of chiasmata (Darlington's reduced precocity).

- 3) The threshold of susceptibility to internal and external conditions of hybrids of A with B species is so changed that in conditions, in which meiosis of the parent species is normal, meiosis of the hybrids is subject to many abnormalities. In this kind of hybrids one may expect to find that meiosis, is influenced by internal and external conditions, — such as e. g. age, sex, position of flowers on shoot, temperature etc. — and there may be both normal and asyndetic meioses.
- 4) Finally, the cause of asyndesis in the hybrid may be the existence of factors in the genome of one species, or in the genomes of both species, which in a specific way prevent the conjugation between the chromosomes from the A and B species.

In my opinion the results of doubling of the chromosome number in asyndetic hybrids may differ greatly and depend on the nature of factors causing asyndesis. In the case of the first two above mentioned causes of asyndesis it is plausible to suppose that even after the doubling of chromosome number asyndesis will not cease. This happens in D o b z h a n s k y's *Drosophila* hybrids. In the third case no such predictions can be made, though undoubtedly, the polyploid organism will have a different threshold of susceptibility than the diploid organism. In the fourth case it seems that if, in an amphidiploid, homologous chromosomes from one species can conjugate together, then factors preventing the conjugation of chromosomes from two separate species will not act, and the conjugation in the amphidiploid will be normal.

F e d e r l e y's (1913, 1931) studies on interspecific hybrids of moths from the *Pygaera* genus are in disagreement with D o b z h a n s k y's thesis. The *Pygaera curtula* ($n = 24$) x *P. nigra* ($n = 23$) hybrid shows a normal chromosome conjugation in females and complete asyndesis in males. The univalents divide twice, and diploid spermatids are formed. F e d e r l e y obtained triploid hybrids by back-crossing. These hybrids have two genomes from one and one from the other species. In these triploid hybrids, both in males and females, chromosome conjugation between homologous sets is normal, and the third chromosome set remains composed of univalents. In this case the lack of chromosome conjugation in diploid males is not caused by structural reasons, because the chromosomes from both species conjugate regularly in females. On the

other hand, the conjugations in triploid hybrids shows that factors, which prevent it between chromosomes from separate species, have no influence on the conjugation of chromosomes from one species.

According to investigations made by Dobzhansky and his school, sterility and disturbances in the course of meiosis in spermatogenesis of hybrids of A with B *Drosophila pseudoobscura* races, depend on a number of genes situated in different chromosomes. Within each race there are „weak“ and „strong“ strains, which differ by the degree of disturbances in meiosis in hybrids between them. Reciprocal hybrids differ in the size of testes and the degree of disturbances in meiosis, which proves the influence of plasmatic factors. That is why the doubling of chromosome number may change nothing of importance in the conditions preventing chromosome conjugation.

It is possible that the frequent disturbances of chromosome conjugation in hybrids are the result of a disaccord in the development (in duration) of various physico-chemical and structural changes, which take place in the cytoplasm, the nucleus and the chromosomes of hybrid cells. Within each species all these processes are synchronized, and on this the normal course of meiosis depends. On the contrary, in interspecific hybrids the processes are not synchronised. If there is a disaccord in timing between, for instance, the changes taking place in the nucleus and those in cytoplasm of a diploid hybrid, then the doubling of a chromosome number may have no effect on the course of meiosis in the polyploid. If, however, the lack of conjugation is due to, for instance, a disaccord in timing of changes taking place in prophase between two chromosome sets joined in a hybrid nucleus, then after the doubling of the chromosome number conjugation between the same chromosome sets may be normal, because their developmental processes will be synchronised.

All this is of course a very general and speculative explanation, why the doubling of chromosome number in hybrids may have such different results, when the lack of conjugation is due to genico-physiological reasons. There is no doubt however that the highly complex cycle of biochemical and structural changes, which take place during meiosis, may be disturbed in interspecific hybrids in various ways, and at its different stages. The doubling of chromosome number changes essentially the cell physiology, and this may have various effects, which depend on the nature of disturbances and the stage of meiosis, in which the disturbances in the normal

development occur. In the present stage of knowledge it is impossible to foresee the effects produced by the doubling of the chromosome number, and in each case this must be investigated experimentally.

S u m m a r y

- 1) A hybrid of *G. rivale* ($2n = 42$) x *G. macrophyllum* ($2n = 42$) was described. In metaphase of the 1-st meiotic division in PMC's of the hybrid only univalents, or few (1—7) bivalents, formed. Disturbances in meiosis caused the formation of re-situation nuclei and consequently of unreduced gamets. The fertility of the hybrid was 0.5% and 0.06% for pollen and seeds respectively.
- 2) In F_2 two amphidiploid, with $2n = 84$, and one 9-ploid, with $2n = 63$, plants were obtained. In the amphidiploids the petals, sepals, and other organs were of greater size than in the F_1 mother plants, though otherwise they resembled them.
- 3) In F_2 amphidiploids the fertility was much higher than in F_1 and in the case of 1 plant (No. 370—1) it was 59.3% and 23.3% for pollen and seed respectively. The 9-ploid was completely sterile. In the amphidiploids numerous PMC's with 42 bivalents in metaphase of the 1-st meiotic division were found. In other PMC's, besides the bevalents, 2—14 univalents appeared. In the 9-ploid the most common arrangement in M I was $21_{II} + 21_I$.
- 4) The F_3 and F_4 generations obtained from the F_2 plant No. 370—1 showed a slight segregation of some morphological features and a considerable segregation in fertility, which ranged in different plants from almost complete sterility to fertility much higher than in F_2 . Cytological examination of fertile F_3 and F_4 plants showed a more normal meiosis and less univalents than in F_2 .
- 5) As hybrids of both *G. rivale* and *G. macrophyllum* with other *Geum* species (*G. aleppicum* and *G. canadense*) had a normal meiosis with 21 bivalents, chromosomes of *G. rivale* and *G. macrophyllum* must be structurally homologous. The lack of chromosome conjugation was of a genico-physiological and not structural nature. The author's supposition was that it was not a case of a lack of chromosome conjugation but of a premature desynapsis.
- 6) The doubling of chromosome number in hybrids, in which the lack of chromosome conjugation was due to genic factors,

might cause a normal conjugation in the amphidiploids. This was in disagreement with Dobzhansky's observations on *Drosophila*.

- 7) The author discussed the cause of the different effects, which the doubling of chromosome number in asyndetic hybrids might have on chromosome conjugation in the resultant polyploid hybrids, and which differed in different investigated organisms.

REFERENCES

1. Beadle G. W. 1930. Genetical and cytological studies of Mendelian asynapsis in *Zea mays*. Cornell. Univ. Agr. Exp. Sta., 129: 1—23.
2. Beadle G. W. 1932. Genes in maize for pollen sterility. Genetics, 17: 413—431.
3. Beadle G. W. 1933. Further studies of asynaptic maize. Cytologia, 3: 269—287.
4. Bergner A. D., J. L. Cartledge and A. F. Blakeslee 1934. Chromosome behaviour due to a gene which prevents metaphase pairing in *Datura*. Cytologia, 6: 19—37.
5. Bolle F. 1933. Eine Uebersicht über die Gattung *Geum* L. und die ihr nahestehenden Gattungen. Repert. spec. nov. regni veget. Beihft. 72: 1—119.
6. Dobzhansky T. 1941. Genetics and the origin of species. 11nd ed. Columbia Univ. Press. New-York.
7. Federley H. 1913. Das Verhalten der Chromosomen bei Spermatogenese der Schmetterlinge *Pygaera anachoreta*, *curtula* und *pigra* sowie einiger ihrer Bastarde. Zeitschr. f. ind. Abst. — u. Vererb-Lehre., 9: 1—110.
8. Federley H. 1931. Chromosomenanalyse der reziproken Bastarde zwischen *Pygaera pigra* und *curtula* sowie ihrer Rückkreuzungsbastarde. Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat., 12: 772—816.
9. Fernald M. L. 1906. Rhodora, 8: 11 (cyt. wg. F. Bolle 1933).
10. Gajewski W. 1948. On the chromosome pairing in six hybrids among four *Geum* species. Acta Soc. Bot. Pol., 19: 245—249.
11. Gajewski W. 1949. On the behaviour of univalents at meiosis in some interspecific *Geum* hybrids. Hereditas, 35: 221—241.
12. Gajewski W. 1950. The inheritance of specific traits in the hybrid *Geum coccineum* x *rivale*. Acta Soc. Bot. Pol., 20: 456—476.
13. Gajewski W. 1952. The hybrids between two subgenera of *Geum* L. Acta Soc. Bot. Pol., 21: 489—516.
14. Gowen J. W. 1931. Genetic non-disjunctional forms in *Drosophila*. Amer. Nat., 65: 193—213.
15. Hollingshead L. 1930. Cytological investigations of hybrids and hybrid derivatives of *Crepis capillaris* and *Crepis tectorum*. Univ. California Publ. Agr. Sci., 6: 55—94.
16. Sax K. 1933. Species hybrids in *Platanus* and *Campsis*. Journ. Arnold Arboretum, 14: 274—278.

Uproszczona metoda wyizolowania związków flawonowych wzgl. antocjanu

*A simplified method of the isolation of the flavon and anthocyan
compounds*

ANTONI KOZŁOWSKI

Wpłynęło dn. 22. XII. 52 r.

W dawnych pracach posługiwano się alhokolem i suszeniem materiału. Sposób jednak taki był zbyt kosztowny i połączony ze zmianami pożądaných substancyj, jakie wynikały wskutek suszenia. O wiele mniejszy nakład pracy i kosztów a zarazem mniejsze chemiczne zmiany można osiągnąć w poniżej podany sposób:

Świeże płatki białej róży ogrodowej zalano wrzącym, około 0,2% roztworem kwasu szczawiowego; temperatura spadła do około 75°C. Po 10—15 minutach płyn odlano i podczas mieszania zadano małą ilością około 10% roztworu obojętnego octanu ołowiu, który usunął kwas szczawiowy i niektóre zanieczyszczenia (pektyny, białka). Odlany i ostatecznie przefiltrowany płyn zadawano większą ilością roztworu obojętnego octanu ołowiu, jak długo wypadał żółty osad. Ten oddzielono przez odlewanie płynu i przesączenie na lejku Buchnera. Żółtą sól ołowiową rozcierano w moździerzu z alkoholowym roztworem, około 15%, kwasu szczawiowego; odsączono na lejku Buchnera a filtrat ponownie strącono niedużą ilością roztworu octanu ołowiu. Osad przepłukano alkoholem, rozłożono małą ilością alkoholowego roztworu kwasu szczawiowego. Ewentualny nadmiar tego ostatniego usunięto ilościowo roztworem octanu ołowiu; filtrat zagęszczono pod zmniejszonym ciśnieniem; pozostałość zadano małą ilością alkoholu i przefiltrowano; filtrat zadano dużą ilością, uprzednio wodą przepłukanego eteru i pozostawiono w chłodnym miejscu na przeciąg 24 godzin. Wytrącony żółty osad przedstawiał niemal czysty, jakkolwiek bezpostaciowy glukozyd flawonolu.

Taką samą metodą otrzymywano z innych roślin glukozydy flawonów wzgl. antocyjanu.

Posiadając duże ilości materiału, można znanymi metodami sporządzić preparaty krystaliczne. Dla badań jednak fizjologicznych wystarczą z reguły preparaty starannie oczyszczone chociaż bezpostaciowe.

Najważniejsze jest, by cały powyższy przebieg wyizolowania był jak najszybszy, by uniknąć utleniania pożądanych związków a zarazem unikać przy tym reakcji alkalicznej. Dlatego to posługiwano się tu kwasem szczawiowym, który też można łatwo usunąć przy ostatecznym oczyszczaniu substancji.

Charakterystyczne cechy flawonoli są następujące: 1) brunatnienie ich roztworu pod wpływem amoniaku. 2) przeprowadzenie w antocjan przez użycie sproszkowanego cynku lub wstążki magnezowej dodanej do roztworu flawonolu w około 5% roztworze kwasu solnego.

Flawony dają tę ostatnią reakcję, jeśli zamiast cynku użyjemy rtęci sodowej. Tę sporządzono w znany sposób następujący: do około 100 gm, wodą przepłukanej i starannie bibułą osuszonej rtęci wrzucano około 5 gm pod naftą świeżo obkrojoną a następnie bibułą z nafty otartą kostkę metalicznego sodu. Tę mieszano z rtęcią przy pomocy ostro zakończonych bagietki szklanej; nie dopuszczono przy tym do powstawania płomienia, ostygający stop mieszano bagietką, by powstały drobne grudki. Te przechowywano w szczelnie zatykanym słoiku.

Reakcja negatywna z cynkiem a pozytywna z rtęcią dowodzi obecności tylko flawonu.

Cechy antocjanu są aż nadto dobrze znane. Wystarczy więc tu nadmienić zmianę barwy przy alkalicznej i kwaśnej reakcji oraz przechodzenie w warstwę alkoholu amyłowego antycyanidyny, po uprzedniej hydrolizie antocjaniny w około 5% kwasie solnym przeprowadzonej w ciągu około 30 minut ogrzewania w wodnej wrzącej kąpieli. Z roztworu amyłowego antocyanidyna da się z powrotem przesunąć w warstwę wodną przez ostrożne zalkalizowanie kwaśnym węglanem sodu.

S u m m a r y

Flavon - and anthocyan compounds can be economically and easily obtained by extracting a fresh plant material with hot, about 0.2% solution of oxalic acid, followed after 10—15 minutes by the

precipitation of the substance from the extract by means of a lead acetate solution, decomposition of the lead compound on grinding it with an alcoholic solution of oxalic acid, a second precipitation of the substance from the solution in alcohol by means of lead acetate, the second decomposing in alcohol by oxalic acid, concentration under diminished pressure of the alcoholic, from oxalic acid- and lead free solution, adding a small amount of alcohol, filtration and precipitation with ethyl ether at a low temperature.

Hugo Zapałowicz

(1852—1917)

W SETNĄ ROCZNICĘ URODZIN

Pour le centenaire de naissance

BOLESŁAW HRYNIEWIECKI

Wpłynęło, dn. 26. VII. 52 r.

W historii polskiej florystyki **H u g o Z a p a ł o w i c z** zajmuje miejsce wybitne jako jeden z tych, którzy dali mocne fundamenty do krytycznych badań nowoczesnych nad florą Polski, a zwłaszcza nad florą i roślinnością Beskidu Zachodniego i Karpat Wschodnich.

Urodzony w Słowenii w Lublanie (15 listopada 1852 r.), przebywał tam i uczył się do 16 roku życia, potem znalazł się w Krakowie, gdzie kontynuował naukę w szkole średniej. Piękna przyroda Słowenii zaszczerpiła w nim zamiłowanie do wycieczek w celu jej poznania, a znalazłszy się w Krakowie, jeszcze jako uczeń z zapalem rozpoczyna wycieczki fizjograficzne w towarzystwie przyjaciół **Z a r ę c z n e g o i M i e r z w i ń s k i e g o**. Życie jego tak się ułożyło, że jego prace naukowe nie miały nic wspólnego z jego stanowiskiem społecznym i sposobem zarobkowania. Stosunki w ówczesnej Galicji były tego rodzaju, że trzeba było być niezwykle śmiałym, żeby marzyć o karierze naukowej w dziedzinie nauk biologicznych, nie mając odpowiednich źródeł dochodu. **Z a p a ł o w i c z** więc, pomimo wielkiego zamiłowania do badań geologicznych i florystycznych i wczesnego zdobycia podstawowych wiadomości w tych dziedzinach, zapisał się w Uniwersytecie Jagiellońskim na wydział prawny, który ukończył w r. 1880. Dyplom prawnika w kraju urzędniczym, jaką była wtedy Galicja, rokował każdemu łatwą karierę. Będąc studentem wydziału prawa, cały czas letni poświęcił badaniu flory Beskidu Zachodniego zwłaszcza Babiej Góry od r. 1875 do 1879. Po uzyskaniu doktoratu praw w r. 1880, wstępuje

na służbę prawniczo-wojskową, której pierwszy etap odbywa w Wiedniu; tam wolne od obowiązków chwile poświęca studiom geologiczno-geograficznym i botanicznym w tamtejszym uniwersytecie. Odtąd jego praca idzie dwutorowo. Mając być zabezpieczony i zdobywając różne stopnie w karierze prawniczo-wojskowej, każdą chwilę wolnego czasu poświęca ulubionym badaniom fizyograficznym.

W ten sposób Z a p a ł o w i c z, w tym samym roku 1880, kiedy otrzymał doktorat prawa, wydaje jednocześnie bardzo cenną pracę o florze Babiej Góry i sąsiedniego pasma Beskidów, owoc pięcioletnich studiów w terenie. Praca ta, ogłoszona w 14-m tomie Sprawozdań Komisji Fizyograficznej Akademii Umiejętności w Krakowie, niezmiernie dodatnio odbija od wszystkich dotychczasowych prac tego wydawnictwa. Do tego czasu drukowano przeważnie surowe materiały florystyczne. Praca Z a p a ł o w i c z a jest już poważną pracą fitogeograficzną. Autor umieścił tutaj uwagi klimatyczno-meteorologiczne, uwzględnił charakter zmian geologicznych i zbadał szczegółowo rozmieszczenie pionowe każdego gatunku, podając na zasadzie szczegółowych pomiarów barometrycznych zarówno dolną, jak i górną granicę rozmieszczenia, zastosował więc pierwszy dokładną metodę, jaką później wprowadził do badań rozmieszczenia roślin w Tatrach B. K o t u ł a. Z a p a ł o w i c z zwrócił specjalną uwagę na północną stronę Babiej Góry, gdzie okazało się najwięcej wysokogórskich gatunków, dał 5 przekrojów przez opisywaną górę i tablicę porównawczą rozmieszczenia roślin wysokogórskich w Galicji, w Tatrach, w Beskidach i na Śląsku austriackim.

Po tym niezwykle udatnym debiucie doktora praw na polu botaniki następują nowe badania terenowe dotyczące roślinności Karpat Wschodnich: Czarnohory, Czywczyńny i Alp Rodneńskich (wyd. w r. 1881) następnie zaś w latach 1882—1888 autor bada szatę roślinną Karpat nie tylko od strony Galicji, lecz i od strony Węgier. W ten sposób powstała wielka monografia fitogeograficzna dotycząca szaty roślinnej gór Pokucko-Marmaroskich, która zajęła cały 24 tom Sprawozdań Komisji Fizyograficznej (1890). Wartość tej pracy podnosi ta okoliczność, że autor badania swe poprzedził studiami geologicznymi terenu, co znalazło swój wyraz w osobnej pracy wydanej w Wiedniu w tamtejszym Państwowym Instytucie Geologicznym (1886). W pierwszej części tej obszernej pracy (390 str.) autor daje rzut oka na orograficzny, geologiczny i klimatyczny charakter badanego terenu, a na tym tle daje charakterystykę roślinności — jej podział na okręgi i podokręgi, zbiorowiska roślinne oraz

krainy górskie. W drugiej części mamy starannie zebraną florę tego obszaru, liczącą 1013 gatunków roślin i szczegółową mapę geograficzną terenu. Podobnie jak w badaniu roślinności Babiej Góry autor i tu opiera swe badania na skrupulatnych zapiskach barometrycznych dotyczących zasięgów roślin górskich. Odziedziczywszy dość znaczny majątek, jaki mu zapisał przyjaciel, a mając od lat młodzieńczych silnie rozbudzoną żylkę badacza-geografa, Z a p a ł o w i c z zapragnął poznać świat szeroki i przedsięwziął podróż naokoło ziemi. Podróż ta trwała rok cały od końca 1888 do zimy 1889 r. Marszruta jego prowadziła z Wiednia do Paryża i Bordeaux, aby stamtąd zahaczyćwszy o Lizbonę, skierować się ku brzegom Brazylii i wylądować w Buenos Aires w Argentynie. Stąd, zdobywszy przewodnika i mając odpowiedni ekwipunek, przeszedł w poprzek południową Amerykę, poprzez stepy (pampy), Patagonię w dorzeczu Rio Negro, Andy Limayskie i dotarł w Chile do oceanu Spokojnego. W początkowym jego planie było zwiedzenie wysp Oceanii i lądu Australii, lecz nie znalazłszy w Chile odpowiedniego statku, który by przewiózł go wprost do Australii, wyruszył z Valdivii wzdłuż zachodnich brzegów Ameryki, zatrzymując się po drodze w różnych państwach Ameryki Południowej, dotarł do Panamy i wreszcie do San Francisco. Tam zmienił swój dawny projekt: mając dobrą komunikację z Japonią, odwiedził ten kraj, następnie pragnął bliżej zbadać roślinność Syberii Wschodniej, żeby z Władywostoku wrócić świeżo wybudowaną koleją do Europy. Tymczasem ówczesny carski generał-gubernator, gdy ujrzał w jego dokumentach, że jest to Polak, obywatel austriacki i w dodatku wojskowy, pomimo rekomendacji poważnych instytucji naukowych, odmówił mu pozwolenia na przeprowadzenie botanicznych badań terenowych. Nie pozostało więc mu nic innego, jak sięść na statek i okólną drogą dookoła Azji wrócić do Europy do Marsylii. Podróż ta trwała rok cały 1889. Wynikiem jej był opis geograficzny w języku niemieckim dorzecza rzeki Rio-Negro w Patagonii (wyd. w Akademii Wiedeńskiej w roku 1893) oraz dwa tomy pt. „Jedna z podróży naokoło ziemi“ (9).

W dziele tym spotykamy dużo spostrzeżeń natury ogólnej i ściśle naukowych dotyczących przyrody pampasów, zwłaszcza Patagonii w związku ze śladami epoki lodowej, jak również And Chilijskich. Autor zdradza się tutaj ze swoim zamiłowaniem do poezji zwłaszcza M i c k i e w i c z a. Wyjeżdżając w tak daleką podróż, nie mógł obarczać się bagażem książkowym, a jednak nie omieszkął wziąć „Pana Tadeusza“. Gdy po trudach podróży przez Patagonię i Andy, siadł w Valdivii na statek idący do Valparaiso, wówczas wy-

dobył poemat Mickiewiczowski i spędził cały czas na odczytywaniu tego nieśmiertelnego dzieła. „Epopeja“ pisze „przenosiła myśli w kraj nieśmiertelnej poezji. Rozświecała ona do głębi życie upadającego państwa, w którym obok pierwiastków rozkładu tkwią zarodki przyszłego odrodzenia. Wieszczył własnym bólem oczyścić błędy, grzechy i nieszczęścia niewoli swojego narodu i podniósł go do sfery, gdzie nic nie ginie a skąd przychodzi odrodzenie. Co za gmach wspaniały! Jedną z najdroższych pereł cywilizacji światowej. Tej miary dziełem jest także myśl K o p e r n i k a i muzyka C h o p i n a. Już same te klejnoty myśli, słowa i tonu dają Polsce prawo światowego obywatelstwa“.

Po powrocie z dalekiej podróży Z a p a ł o w i c z swoje badanie terenowe skierował znów na Karpaty Wschodnie, opisując rzadkie i krytyczne gatunki i odmiany flory pokucko-marmaroskiej i w szeregu 7-u szkiców pt. „Ze strefy roślinności Karpackiej“, ogłaszanych na łamach Sprawozdań Komisji Fizjograficznej od r. 1908 do 1912, dając cenne uzupełnienia do badanej przez siebie flory. Parę przyczynków wyszło i w Kosmosie.

Ważnym wkładem do fitogeografii jest jego szczegółowy krytyczny rozbiór wielkiego dzieła F. P a x a „Grundzüge der Pflanzenverbreitung in den Karpathen“ (2 tomy). Dzieło to imponuje w I-m tomie obszerną i starannie zebraną literaturą we wszystkich językach narodów, które obsiadły i badały Karpaty. Z a p a ł o w i c z znalazł tu jednak parę przeoczeń dotyczących polskiej literatury i dowiódł, że P a x w tekście swej pracy wcale nie korzystał z polskiej literatury dotyczącej Beskidu, Tatr. czy Karpat Wschodnich tak, że kto chce korzystać z dzieła wrocławskiego profesora, musi wziąć pod uwagę obszerny (na 68 str.) komentarz Z a p a ł o w i c z a, który daje ogólny rzut oka na podział roślinności karpackiej i na załączonej mapie wskazuje, gdzie przechodzi granica w Karpatach między florą zachodnią i wschodnią. Uwieńczeniem i jakby syntezą jego prac dotyczących Karpat Wschodnich są dwie obszerne prace ogłoszone na łamach Kosmosu (w latach 1912 i 1913), gdzie autor rysuje przebieg okresu lodowego w Karpatach Pokucko-Marmaroskich, wiążąc jego wpływy z rozmieszczeniem roślinności i wplata w swe rozważania spostrzeżenia, jakie wyniósł ze swej podróży dookoła ziemi, obserwując zjawiska lodowcowe na terenach Patagonii.

Obok cennych prac fitogeograficznych dotyczących roślinności gór do zasług Z a p a ł o w i c z a należy wielkie przedsięwzięcie: krytyczne opracowanie bogatego materiału zielnikowego, jaki na-

gromadził się w zbiorach Komisji Fizjograficznej Polskiej Akademii Umiejętności. W ciągu lat 10-u (od 1904 do 1914) ogłosił on na łamach Rozpraw P. A. U. po polsku i Biuletynie w streszczeniach w języku obcym 30 przyczynków. Przez jego ręce przeszły setki tysięcy okazów zielnikowych, krytycznie rozpatrzone okiem biegłego florysty. Rezultaty tych badań znalazły się w 3-ch tomach osobno wydanych pt. „Krytyczny przegląd roślinności Galicji. Conspectus flórae Galiciae criticus“.

Należy wspomnieć, że w zielniku Akademii są nie tylko rośliny z Galicji, lecz trafiają się i rośliny z Królestwa Polskiego, z Poleśia i Litwy.

Tom. I. zawiera następujące rodziny: *Polypodiaceae*, *Asplenoideae*, *Osmundaceae*, *Ophioglossaceae*, *Salviniaceae*, *Marsiliaceae*, *Equisetaceae*, *Lycopodiaceae*, *Selaginellaceae*, *Isoëtaceae*, *Gramineae*, *Cyperaceae*, *Juncaceae*, *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Iridaceae*, *Orchidaceae*, *Typhaceae*, *Sparganiaceae*, *Najadaceae*, *Alismaceae*, *Butomaceae*, *Hydrocharitaceae*, *Coniferae*.

Tom II. — *Betulaceae*, *Cupuliferae*, *Juglandaceae*, *Salicaceae*, *Urticaceae*, *Moraceae*, *Ulmaceae*, *Polygonaceae*, *Chenopodiaceae*, *Amarantaceae*, *Platanaceae*, *Berberidaceae*, *Ranunculaceae*.

Tom. III. — *Ceratophyllaceae*, *Portulacaceae*, *Elatinaceae*, *Paronychiaceae*, *Caryophyllaceae*.

Do osobnego wydawnictwa nie weszły drukowane tylko w Rozprawach (1912—14) rodziny: *Papaveraceae*, *Cruciferae* i *Violaceae*. Widzimy więc, że Z a p a ł o w i c z o w i nie udało się skończyć swego zamierzenia — opracowania krytycznego całości flory. Przeszkodziła temu wojna. W każdym razie opracował on krytycznie paprotniki, jednoliściennne, iglaste i część rozdzielnopłatkowych dwuliściennych, co stanowi przeszło 40% całości.

W opracowaniu swoim Z a p a ł o w i c z w myśl słusznej zasady L i n n e u s z a: „*Melius est distinguere, quam confundere*“ (Lepiej jest rozróżniać niż mieszać), mając ogromny materiał porównawczy, wśród starych gatunków wyróżnił i opisał 86 nowych gatunków i mieszańców, których spis podaje na końcu pracy, nie licząc setek nowych podgatunków, odmian i form. Trzeba przyznać, że w odróżnianiu nowych odmian i form Z a p a ł o w i c z szedł często zbyt daleko, biorąc pod uwagę nieraz cechy zbyt drobne, przypadkowe, lecz zasługą jego pozostanie, że mając bogaty materiał, zwrócił uwagę na tzw. gatunki pochodne, które wytwarzały się na terenie Galicji wskutek zmiany warunków klimatycznych, idąc w kierunku od zachodu ku wschodowi w miarę większej

kontynentalności klimatu oraz w górach wraz ze zmianą wysokości. Jego nowe gatunki są to tzw. ekotypy związane z charakterem środowiska.

Na marginesie pracy nad krytycznym opracowaniem zielnika Komisji Fizjograficznej autor postarał się wypowiedzieć swoje poglądy na „Gatunkowość w świecie roślinnym“ w osobnej książeczce, którą wydał w r. 1905, kiedy już zdążył opracować dość znaczną część zielnika, kiedy, jak mówi, zbadał krytycznie około 25000 okazów roślin jednoliściennych.

W pierwszej części rozwija słuszne poglądy na ewolucję wewnątrz gatunków w zależności od warunków zewnętrznych, popierając teorię licznymi przykładami, gdy dochodzi jednak do ewolucji większych grup świata roślinnego, nie zadawałnia go ani teoria *Darwina*, ani mutacje *de Vriesa*, ani zdobycze paleobotaniki, lecz cofa się do idei Platońskich zastosowanych do rozwoju świata.

Pe poglądy filozoficzne autora nie mogą jednak przeszkodzić nam uznać jego konkretne dzieło — krytyczne opracowanie flory Galicji za dzieło bardzo cenne, które dzięki sumienności opracowania może dostarczyć dużo dowodów właśnie do zmienności i ewolucji świata roślinnego. Dzieło to zostało przerwane przez wypadki wojenne 1914 r. *Zapalowicz* jako wojskowy sędzia emeryt został przydzielony do Przemyśla. Tam dostał się do niewoli rosyjskiej i jako jeniec oficer austriacki został zesłany do Kazachstanu najpierw do Kazalińska, a następnie do Perowska nad Syr-Darią. Tam nie ustawał w pracy i gromadził zbiory botaniczne i geologiczne, lecz końca wojny nie doczekał, gdyż zmarł w Perowsku 20 listopada 1917 roku.

Nazwisko jego pozostanie na zawsze związane z gruntownymi dziełami dotyczącymi zarówno fitogeografii jak i opisowej flory Polski.

SPIS NOWYCH GATUNKÓW I MIESZAŃCÓW ROŚLIN
OPISANYCH PRZEZ H. ZAPAŁOWICZA

(Z pominięciem podgatunków, odmian, form)

*Enumeratio novarum specierum et hybridarum plantarum
a H. Zapałowiczio descriptarum*

(Omissis subspeciebus, varietatibus et formis)

GRAMINEAE. *Calamagrostis villosa* $\times$ *lanceolata* = *C. Kotulae*,
Trisetum Tarnowskii, *Poa Janczewskii*, *P. rodnensis*, *Festuca*
polonica, *F. polessica*, *F. makutrensis*, *F. Hackeliana*, *F. Por-*
cii $\times$ *P. picta* = *F. pocutica*, *F. gigantea* $\times$ *apennina* = *F. czar-*
nohorensis, *Bromus Janczewskii*.

CYPERACEAE. *Carex paniculata* $\times$ *subremota* = *C. bogdanensis*,
C. dioica $\times$ *holeonastes* = *C. Raciborskii*, *C. pallescens* $\times$ *pi-*
losa = *C. Paczoskii*.

LILIACEAE. *Muscari pocuticum*, *Tulipa bessarabica*.

IRIDACEAE. *Crocus babiogorensis*, *Iris pontica*.

SALICACEAE. *Salix daphnoides* $\times$ *caprea* = *S. Wołoszczakii*, *S. in-*
cana $\times$ *silesiaca* = *S. Rehmanni*, *S. Tatrorum*, *S. arbuscu-*
la $\times$ *hastata* = *S. Janczewskii*, *S. Tatrorum* $\times$ *S. Lapponum* =
= *S. Kotuliana*, *S. myrtilloides* $\times$ *aurita* = *S. volhyniensis*,
S. rosmarinifolia $\times$ *viminalis* = *S. sandomiriensis*, *S. rosma-*
rinifolia $\times$ *Lapponum* = *S. polessica*, *S. rosmarinifolia* $\times$ *su-*
baurita = *S. vistulensis*, *S. rosmarinifolia* $\times$ *livida* = *S. cra-*
coviensis.

POLYGONACEAE. *Rumex obtusifolius* $\times$ *viridis* = *R. Blockii*,
R. acetosa $\times$ *alpinus* = *R. babiogorensis*, *R. carpaticus*, *Poly-*
gonum hydropiper $\times$ *minus* = *P. janoviense*, *P. dumetorum*
 $\times$ *convolvulus* = *P. asperulum*.

CHENOPODIACEAE *Atriplex polonicum*.

RANUNCULACEAE. *Aconitum cammanum* $\times$ *napellus* = *A. Ber-*
daui, *A. napellus* $\times$ *paniculatum* = *A. bucovinense*, *Pulsatilla*
nigricans $\times$ *patens* = *P. Janczewskii*, *P. supernigricans* $\times$ *pa-*
tens = *P. tarnoviensis*, *Ranunculus aconitifolius* $\times$ *acer* =
= *R. Klukii*, *R. acer* $\times$ *montanus* = *R. Gilibertii*, *Thalictrum*
simplex $\times$ *flavum* = *T. Andrzejowskii*, *Delphinium nacladense*.

CARYOPHYLLACEAE. *Alsine* Zaręcznyi, *Cerastium* Raciborskii, *C. Pietrosuanum*, *C. lanatum* $\times$ *latifolium* = *C. tatrense*, *Dianthus polonicus*, *D. glabriusculus* $\times$ *deltoides* = *D. Zarencznianus*, *D. glabriusculus* $\times$ *superbus* = *D. lacinulatus*, *Silene lithuanica*, *S. Berdaui*, *S. subleopolensis*, *S. Jundzilli*, *Heliosperma arcanum*.

PAPAVERACEAE. *Papaver corona Sti Stephani*.

CRUCIFERAE. *Cardamine silvatica* $\times$ *pratensis* = *C. tatrensis*, *C. Opizii* $\times$ *pratensis* = *C. dubia*, *Arabis Besseri*, *A. alpina*, $\times$ *hirsuta* subsp. *sudetica* = *A. calcigena*, *Roripa cracoviensis*, *R. amphibia* $\times$ *subsilvestris* = *R. viaria*, *R. silvestris* $\times$ *amphibia* = *R. sodalis*, *R. terrestris* $\times$ *silvestris* = *R. oslaviensis*, *R. silvestris* $\times$ *subpalustris* = *R. wislokiensis*, *Alyssum borysthenicum*, *A. brodense*, *Hesperis pontica*, *Sisymbrium roxolanicum*, *Erysimum hungaricum*, *Diplotaxis polonica*, *Thlaspi tatrense*, *T. trojagense*, *Bunias dubia*, *Isatis Kamienskii*, *I. Ciesielskii*.

VIOLACEAE. *Viola Jagiellonica*, *V. Zarencznii*, *V. odorata* $\times$ *Jagiellonica* = *V. roxolanica*, *V. suavis* $\times$ *hirta* = *V. bessarabica*, *V. Jagiellonica* $\times$ *silvestris* = *V. mira*, *V. silvestris* $\times$ *arenaria* = *V. sokalensis*, *V. silvestris* $\times$ *canina* = *V. babiogorensis*, *V. Riviniana* $\times$ *canina* = *V. sanensis*, *V. canina* $\times$ *elatior* = *V. mielnicensis*, *V. declinata* $\times$ *tricolor* = *V. prutensis*.

SPIS PRAC HUGONA ZAPAŁOWICZA

Liste des travaux du Mr. Hugo Zapałowicz

1. Roślinność Babiej Góry pod względem geograficzno-botanicznym (z mapą, 5-ma przekrojami i dodatkiem do flory Pilska, Policy i Makowskiej Góry). (La végétation de Babia Góra au point de vue phytogéographique) — SKF XIV. 1880, 79—250.
2. Przyczynek do roślinności Czarnej Hory, Czywczyna i Alp Rodneńskich (Contribution à la végétation de Czarna Hora, Czywczyn et Alpes de Rodna). — SKF XVI 1882, 64—78.
3. Eine geologische Skizze des östlichen Teiles der Pokutisch-Marmaroscher Grenz-Karpathen. — Jahrb. geolog. Reichsanstalt. Wien 1886.
4. Roślinna szata gór Pokucko-Marmaroskich. — SKF XXIV, 1889. 1—389 z dwiema tablicami i mapą geograficzną.
- 4a. Pflanzendecke der Pokutisch-Marmaroscher Karpathen. — B I A. 1890. 88—97.
5. Kilka słów o geografii roślinnej (Z powodu dzieła B. K o t u l i: Rozmieszczenie roślin naczyniowych w Tatrach). (Quelques remarques sur la géographie botanique) — K. XVI. 1891, 200—225, 253—280.

6. Odpowiedź drowi E. Wołoszczakowi na jego „Uwagi nad roślinną szatą gór Pokucko-Marmaroskich“. — K. XVI, 1891, 226—243.
7. Słownko sprostowania. — K. XVII, 1892, 117.
8. Jedna z podróży naokoło ziemi (Voyage autour du monde). — 2 tomy Lwów 1889. T. I, str. 648. T. II, str. 492.
9. Das Rio-Negro-Gebiet in Patagonien.-Denkschr. d. mat.-natur. Classe d. Akad. in Wien, 1893.
10. Zapiski florystyczne ze wschodnich Karpat. — SKF XXXII. 1897. 75—78.
- 10a. Floristische Notizen aus den Ost-Karpathen. — BIA.. 1897. 84—85.
11. Krytyczny przegląd roślinności Galicji. *Conspectus florae Galiciae criticus*. RAU. Cz. 1) XLIV B, 1904, 14—113. 2) XLIV B, 1904, 153—196. 3) XLIV B, 1904, 305—341. 4) XLV B, 1905, 83—110. 5) XLVI B 1906, 65—102. 6) XLVI B 1906, 189—240. 7) XLVI B 1906, 241—296. 8) XLVII B 1907, 153—236. 9) XLVII B 1907, 265—302. 10) XLVII B 1907, 587—632. 11) XLVII B 1907, 685—706. 12) XLVIII B 1909, 41—90. 13) XLVIII B 1909, 187—256. 14) XLVIII B 1909, 331—336. 15) L B 1911, 671—682. 16) L B 1911, 353—408. 17) L B 1911, 671—682. 28) LI B 1912, 1—34. 19) LI B 1912, 67—89. 20) LI B 1912, 121—157. 21) LI B 1912, 265—280. 22) LI B 1912, 443—456. 23) LI B 1913, 1—49. 24) LI B 1912, 157—180. 25) LII B 1912, 211—239. 26) LII B 1912, 547—567. 27) LIII B 1913, 29—49. 28) LIII B 1913, 115—125. 29) LIII B 1913, 311—339. 30) LIV B 1914, 209—270.
12. Revue critique de la flore de Galicie. — BIA 1) 1904, 162—169. 2) 1904, 302—327. 3) 1904, 394—396. 4) 1905, 286. 5) 1906, 100—101. 6) 1906, 326—327. 7) 1906, 606. 8) 1907, 59—60. 9) 1907, 253—254. 10) 1907, 631—632. 11) 1907, 1079—1080. 12) 1908, 448—450. 13) 1908, 448—450. 14) 1908, 603. 15) 1910 B, 168—172. 16) 1910 B, 433—438. 17) 1910 B, 607. 18) 1911 B, 607. 19) 1911 B, 7—11. 20) 1911 B, 162—163. 21) 1911 B, 285—289. 22) 1911 B, 497—499. 23) 1911, 620—622. 24) 1912 B, 12—22. 25) 1912 B, 345—348. 26) 1912 B, 710—716. 27) 1912 B, 1158. 27) 1913 B, 48—50. 29) 1913 B, 273—274. 30) 1913 B, 443—448. 31) 1914 B, 449—454.
13. Gatunkowość w świecie roślin. Kraków Ks. Spół. Wyd. Pół. Nakł. autora. 1905, str. 36.
14. Krytyczny przegląd roślinności Galicji. *Conspectus florae Galiciae criticus*. T. I. 1906, str. VIII i 296. T. II. 1908, str. 311. T. III. 1911, str. 216 Kraków P. A. U.
15. Niektóre nowe krytyczne i rzadkie gatunki (odmiany) flory pokucko-marmaroskiej. (Quelques espèces et variétés critiques et rares dans la flore des Carpathes Pocouto-Marmarosiennes). SKF XXXIX 1906, 32—38.
16. Ze strefy roślinności Karpackiej. (Notices sur la flore des Carpathes). SKF 1) 1908, 3—7. 2) 60—69. 3) XLIII 1909, 156—160. 4) XLIV 1910, 57—60. 5) XLV 1911, 147—155. 6) XLVI 1912, 39—47. 7) XLVII 1912, 495—524.
17. Prof. F. P a x a „Grundzüge der Pflanzenverbreitung in den Karpathen“ ze stanowiska naszego przyrodnictwa. (Les „Grundzüge der Pflanzenverbreitung in den Karpathen“ par le prof. F. P a x au point de vue de notre science naturelle, avec 1 carte). K. XXXIV 1909. 924—992. Z mapą.

18. *Trisetum Tarnowskii* i karpackie gatunki rodzaju *Delphinium*. — K. XXXIV 1909, 1173—1180.
19. *Nonnullae species et varietates novae*. — K. XXXV, 1910, 782—786.
20. Okres lodowy w Karpatach Pokucko-Marmaroskich. — K. XXXVII, 1912, 579—654. Z 1 rys. w tekście (L'époque glaciaire dans les Carpathes)
21. Dyluwialno-lodowy okres w Karpatach Pokucko-Marmaroskich i w Patagonii. (L'époque diluvio-glaciaire dans les Carpathes Pocouto-Marmarosiennes et dans la Patagonie). K. XXXVIII, 1913, 643—740 z 11 przekrojami, 4 szkicami i 6 rys. w tekście.

Skróty: SKF — Sprawozdania Komisji Fizyograficznej Akad. Um. w Krakowie
 RAU — Rozprawy Akademii Um. w Krakowie
 BIA — Bulletin Intern. de l'Académie de Cracovie
 K — Kosmos. Lwów.

Ż y c i o r y s: S(tanisław) K(ulczyński). Hugo Zapałowicz — SKF LIII i LIV, 1920, str. XLII—XLIV.

RÉSUMÉ

En histoire des études de la flore polonaise H u g o Z a p a ł o w i c z possède une place éminente comme un des ceux, qui créaient les fondements solides des critiques études modernes sur la flore de Pologne et surtout sur la flore et la végétation de Beskides Occidentales et des Carpathes Orientales.

Né à Lublana (15.XI.1852), il y étudiait jusqu' à seizième année de sa vie; puis il s'établit à Kraków, ou il obtint son baccalauréat et en 1880 il accomplit ses études universitaires à la faculté de droit en qualité du docteur en droit. C'est curieux que sa vie et son travail scientifique se développaient à double voie. Ayant une grande inclination pour la botanique et de recherches physiographiques il arriva comme autodidacte à une connaissance des plantes encore en école normale. Pendant des années à l'Université il étudiait la flore de Babia Góra et des Beskides Occidentales en général, ainsi que simultanément avec son doctorat de droit, il publia une oeuvre très précieuse: „La végétation de Babia Góra au point de vue phytogéographique“ (1) 1880. Cette oeuvre se distinguait par le fait qu'elle n'était seulement la récolte des matériaux pour flore, mais une vaste description phytogéographique en liaison avec géologie, orographie, climat et basée sur de nombreuses mesures barométriques qui précisaient distinctement les limites de distribution des espèces particulières dans les montagnes.

Comme juriste Z a p a ł o w i c z entre dans l'armée et sa carrière de vie jusqu'à la retraite passait au détachement de loi mi-

litaire; quand même chaque été fut exploité pour ses études botaniques.

Il avait passé les premières années de son service militaire à Vienne, ce que lui permettait de compléter ses connaissances de botanique, de géologie et de géographie écoutant les cours à l'Université de Vienne.

Pendant les années 1882—1888 il s'intéresse des terrains des Carpathes Orientales et ne bornait pas ses travaux au part Galicien mais faisant aussi de recherches au côté hongrois. Ainsi surgit une monographie très précieuse intitulée: „La végétation des Carpathes Orientales — Pokouto-Marmarosiennes“ (1890, 390 p.). Cet ouvrage représente tant plus de valeur puisque l'auteur exécutait d'abord des études géologiques de ce terrain exprimées dans son ouvrage: „Eine geologische Skizze des östlichen Teiles der Pokutisch-Marmaroscher Grenz-Karpathen“ (Jahrb. geol. Reichsanstalt, Wien, 1886).

Vers la fin de 1888 Z a p a ł o w i c z entreprit le voyage autour de la terre. Son itinéraire était le suivant: Vienne — Paris — Lisbonne — Buenos Aires. Ayant trouvé un guide et l'équipement il partit de la capitale de l'Argentine et passa les pampas, la Patagonie, Andes de Chile jusqu'à Valdivia. D'ici il s'embarqua et traversa le long des rives de l'Amérique méridionale, s'arrêtant en quelques pays et arriva à Panama et San Francisco, d'où il entreprit de visites au Japon et Wladiwostok. Il retourne à Marseille en bateau ayant doublé les côtes de l'Asie.

Ce voyage durait toute l'année 1889. En résultat l'ouvrage: „Das Rio-Negro-Gebiet in Patagonien“ (Denksch. d. nat.-wis. Cl. d. Akademie in Wien, 1893) et deux volumes de l'ouvrage en polonais contenant impressions de ce voyage. Après son retour Z a p a ł o w i c z continuait ses études sur la végétation des Carpathes Orientales et publia de nombreuses contributions nouvelles.

Digne d'attention est sa critique de l'oeuvre du prof. F. P a x „Grundzüge der Pflanzenverbreitung in den Karpathen“ où il remontra l'inconnaissance de l'auteur de la littérature polonaise et indique précisément quelle doit être la division de la végétation et où passe la délimitation entre la flore de l'ouest et celle de l'est. Deux dernières ouvrages de Z a p a ł o w i c z traitants la végétation des Carpathes Orientales en rapport avec l'époque glaciaire et les remarques faites sur ce thème en Patagonie sont précieux („L'époque glaciaire dans les Carpathes“ 1912 et „L'époque diluvioglaciale dans les Carpathes Pocouto-Marmarosiennes et dans la Patagonie“ 1913). Comme une grande mérite de Zapałowicz doit on citer la

révision critique d'un énorme herbier récolté en Commission Phytogéographique de l'Académie des Sciences et de Lettres à Cracovie. Pendant dix ans depuis 1904 jusqu'à 1914 il publia aux Travaux de l'Académie 30 contributions à la flore de Galicie, résultat de la révision entreprise. Ces contributions sont accumulées en trois volumes séparément édits, intitulés „Conspectus florum Galiciae criticus“ T. I. 1906, T. II 1908, T. III. 1911.

Ainsi Z a p a ł o w i c z décrivit: *Pteridophyta*, *Monocotyledones*, *Coniferae* et une part de *Dicotyledones* ce que constitue plus que 40% de toute la flore. Outre ça il décrivit 86 espèces nouvelles et hybrides, citées à la liste conjointe, sans compter de nombreuses sous-espèces, variétés et formes. La guerre de 1914 interrompit cette oeuvre, Z a p a ł o w i c z comme juriste militaire en retraite se trouva en forteresse de Przemyśl qui prise par les Russes, on le deporta comme prisonnier de guerre de l'Autriche à Kazakstan, d'abord à Kazalinsk et puis à Perowsk sur Syr-Daria. Même là il ne cessait de travailler et ramassait de collections botaniques et géologiques. mais pourtant il n'attendit pas jusqu'à la fin de la guerre et mourut à Perowsk 20. XI. 1917.

Son nom sera lié toujours avec des oeuvres traitant aussi phytogéographie que la flore descriptive de Pologne.

UZUPEŁNIENIE

do życiorysu prof. dr Jadwigi Wołoszyńskiej

(Acta S. B. P. XXI, Nr 3, 1952, 295—310)

Complément à la liste des travaux de M-me Prof. dr J. Wołoszyńska

(Acta Soc. Bot. P. XXI, 1952, 295—310).

Do bibliografii należy dodać:

J. Wołoszyńska et W. Conrad: *Pyrodinium phoneus* n. sp. —
agent de la toxicité des moules du canal maritime de Bruges à Zeebrugge.
Bull. Musée roy. d'hist. nat. de Belgique, T. XV, No. 46, 1—5, 11 figs..

Do listy nowych opisanych gatunków przybywa jeszcze jeden.

Bolesław Hryniewiecki

UWAGI DLA AUTORÓW

Redakcja przyjmuje tylko pierwsze maszynopisy (a nie kopie). Objętość nadesłanych maszynopisów nie powinna w zasadzie przekraczać 1 arkusza druku; umieszczanie większych prac wymaga poprzedniego omówienia z redaktorem. Materiał ilustracyjny w postaci rysunków w tekście lub tablic umieszczonych poza tekstem należy ograniczać do niezbędnego minimum. Rysunki muszą być dokładnie oznaczone, lecz nie numerowane na samej ilustracji. Poszczególne rysunki w tablicach winny być oznaczane raczej literami niż cyframi. Podpisy do rysunków i tablic winny być napisane na maszynie oddzielnie a nie z rysunkami, gdyż gdzie indziej robione są klisze a gdzie indziej składane są objaśnienia do nich. Materiał tabelaryczny nie może zajmować więcej niż 1/4 całego tekstu.

Prace przyjmowane są w języku polskim, angielskim, niemieckim, francuskim i rosyjskim z tym, iż prace w języku polskim muszą posiadać tytuł obcojęzyczny oraz streszczenie i ewentualnie objaśnienia rysunków w tym samym języku. W każdym maszynopisie winno być umieszczone na końcu streszczenie ważniejszych wyników pracy. Wszystkie cytaty z literatury w tekście winny zawierać nazwisko autora oraz pierwsze litery imion wraz z datą publikacji. Spis literatury cytowanej w tekście winien być umieszczony na końcu pracy pt. „Cytowana literatura“, w którym umieszczeni są autorowie alfabetycznie, a prace danego autora chronologicznie. Po nazwisku i pierwszych literach imion autora winna znajdować się data publikacji, następnie tytuł (który może być opuszczony) dalej skrót nazwy czasopisma według reguł przyjętych w „World list of scientific periodicals“ Oxford University Press 1925, następnie należy podać numer tomu tłustym drukiem i pierwszą i ostatnią liczbę stron, oznaczoną literami arabskimi. W wypadku wydawnictwa książkowego a nie periodycznego, należy podać liczbę stron, miejsce i datę publikacji oraz nazwisko wydawcy. Np.:

B r i d g e s C. B., 1938. A revised map of the salivary gland X chromosome. Journ. Hered. 29: 11—13.

H o b g e n L., 1933. Nature and Nurture. 144 pp. New York; W. W. Norton and Co. Inc.

Odnosiniki w tekście powinny być w miarę możliwości unikane (zwykle mogą być umieszczane w tekście w nawiasach w miejscu do którego się odnoszą). O ile są konieczne, powinny być oznaczone gwiazdkami, krzyżykami itp., aby nie myliły się z cyframi w tablicach.

Korekty w ilości dwóch będą wysyłane autorom; w tym celu należy wraz z maszynopisem podać dokładny adres i podawać następnie ewentualne zmiany adresu. Korekty muszą być zwracane szybko bez większych zmian w tekście. Acta Soc. Bot. Pol. dają autorom 100 bezpłatnych odbitek bez okładek, koszt dalszych odbitek i okładek ponoszą autorowie według rzeczywistych kosztów. Ilość żądanych odbitek wraz z podaniem czy mają być z okładkami należy podać przy drugiej korekcie. Rękopisy należy przysyłać do redaktorów: prof. K. Bassalika (Warszawa, Krakowskie Przedmieście 26/28) lub doc. W. Gajewskiego (Warszawa, al. Ujazdowskie 4), wszelką zaś korespondencję w sprawach wydawniczych do Redakcji (Warszawa, al. Ujazdowskie 4).

Adres Redakcji: Warszawa: Al. Ujazdowskie 4.
Adresse de la Rédaction: Varsovie (Pologne): Al. Ujazdowskie 4.

Nakład 1300 egz. Papier dziełowy ilustracyjny kl. V g 70 format B₁.
Obj. 13 ark. Zam. 351 z dn. 19.IX.52, druk ukończ. 15.V.53 4-B-15624
Warszawska Drukarnia Naukowa, Warszawa, ul. Śniadeckich 8.